Archive of SID



# اثرات ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (کلسیتریول) و عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی گیاه دارویی پنیر باد (*Withania coagulans*) بر پاسخ ایمنی و ریخت‌شناسی روده‌ی جوجه‌های گوشتی

سیدجواد حسینی[۱]، محمدطاهر میرکزهی[۲*] و حسن صالح[۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۹


## چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثرات ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول [1, 25 $(OH)_2$ $D_3$] (کلسیتریول) و عصاره‌ی هیدروالکلی میوه گیاه دارویی پنیر باد (*Withania coagulans*) بر پاسخ ایمنی و ریخت‌شناسی روده‌ی کوچک جوجه‌های گوشتی طراحی گردید. تیمارها در قالب فاکتوریل (۲×۳×۲) شامل جیره‌ی کنترل مثبت با سطح کافی کلسیم و کنترل منفی (کاهش ۳۰ درصدی سطح کلسیم)، ۳ سطح عصاره‌ی پنیرباد (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و ۲ سطح ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (صفر و ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم جیره) بود. تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک روزه راس ۳۰۸ به صورت تصادفی در ۶۰ تکرار و ۱۰ پرنده در هر کدام توزیع گردید. هر تیمار دارای ۵ تکرار (۵۰ پرنده در هر تیمار) بود. جیره‌های آزمایشی به طور نامحدود در اختیار جوجه‌ها از ۱ تا ۴۲ روزگی قرار گرفت. برای بررسی ایمنی هومورال، از ارزیابی پاسخ نسبت به SRBC استفاده گردید. برای این منظور دو تزریق در روزهای ۲۵ و ۳۲ دوره‌ی آزمایش برای تعیین پاسخ آنتی‌بادی اولیه و ثانویه انجام شد. برای بررسی ایمنی سلولی ازدیاد حساسیت تأخیری نسبت به فیتوهماگلوتینین در سن ۳۷ روزگی ارزیابی گردید. در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی یک پرنده از هر تکرار کشتار و وزن اندام‌های لنفاوی اندازه‌گیری و ۱/۵ سانتی‌متر از بافت ژژونوم به منظور تعیین خصوصیات ریخت‌شناسی جدا گردید. نتایج آزمایش پاسخ ایمنی هومورال نشان داد کاهش سطح کلسیم جیره و مکمل سازی پنیرباد و کلسیتریول اثر قابل ملاحظه‌ای بر عیار آنتی-بادی ضد SRBC ندارد. ارزیابی ایمنی سلولی نشان داد که مکمل سازی پنیر باد و کلسیتریول تأثیری بر ضخامت پوست محل تزریق (پرده‌ی بین انگشتان) ندارد. در ۴۲ روزگی تغذیه‌ی جیره‌ی کنترل منفی منجر به کاهش معنی‌دار وزن طحال و مکمل سازی پنیرباد در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌دار وزن تیموس گردید. نتایج ریخت‌شناسی روده نشان داد که مکمل‌سازی پنیرباد در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منجر به کاهش طول پرز در سن ۴۲ روزگی می‌گردد. به نظر می‌رسد سطح کلسیتریول مورد استفاده در این آزمایش کم‌تر از سطوح مورد نیاز آن برای تغییر پارامترهای ریخت‌شناسی روده و پاسخ ایمنی باشد.


**کلمات کلیدی:** کلسیتریول، پنیر باد، پاسخ ایمنی، ریخت‌شناسی روده، جوجه‌ی گوشتی

## مقدمه

۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول [1, 25 $(OH)_2$ $D_3$] (کلسیتریول) از لحاظ زیست‌شناسی فعال‌ترین شکل متابولیکی ویتامین $D_3$ است که ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر فعالیت بیش‌تری نسبت به دیگر متابولیت‌های آن دارد و به وسیله‌ی دو واکنش هیدروکسیلاسیون متوالی تولید می‌گردد. اولین هیدروکسیلاسیون زمانی رخ می‌دهد که ویتامین $D_3$ به کبد منتقل شده تشکیل ۲۵ هیدروکسی کوله‌ی کلسیفرول [25-OH $D_3$] می‌دهد و دومین هیدروکسیلاسیون در کلیه به وسیله‌ی آنزیم ۱-آلفا-هیدروکسیلاز (E.C.1.14.13.13) رخ داده که 1, 25 $(OH)_2$ $D_3$ تشکیل می‌شود (Kenney

[۱] دانش‌آموخته‌ی دکترای تغذیه طیور، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۲*] استادیار گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی سراوان E-mail: mt_mirakzehi@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۳] استادیار گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی سراوان



www.SID.ir

Archive of SID



1976, Soares 1984, Reddy and Tserng 1989). ویتامین D و متابولیت‌های آن علاوه بر روده، استخوان و کلیه در سلول‌های سیستم ایمنی نظیر مونوسیت‌ها و ماکروفاژها نیز دارای گیرنده می‌باشند. لنفوسیت‌ها نیز فقط در مراحل معینی از تمایز و به محض فعال شدن دارای گیرنده‌های کلسیتریول می‌باشند (Aslam et al. 1998). کلسیتریول باعث توسعه‌ی سلول‌های Th2 می‌گردد که آن‌ها نیز باعث رشد و تمایز سلول‌های B و متعاقباً القاء تولید ایمونوگلوبولین می‌گردند (Beal et al. 2004). ویتامین D و متابولیت‌های آن نقش مهمی در توسعه‌ی ساختاری و عملکردی غشای مخاطی پرزهای روده دارند (Shinki et al. 1991). پلی‌آمین‌های آلیفاتیک پاترسین، اسپرمیدین و اسپرمین به عنوان اجزایی ضروری از سلول قلمداد می‌گردند که نقش مهمی در تنظیم، تکثیر و تمایز سلول دارند. تزریق کلسیتریول به جوجه‌های با کمبود ویتامین D باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در تولید پاترسین از اورنیتین و اسپرمیدین در دوازدهه شده است (Shinki et al. 1985). یون‌های کلسیم نقشی اساسی و مهم در فعال‌سازی و بلوغ لنفوسیت‌ها دارند (Beridge et al. 2003, Feske 2007). همچنین غلظت داخل سلولی کلسیم در انواع مختلف سلول‌ها در طی استرس افزایش می‌یابد. برای مثال، استرس محدودیت شدید فضای فیزیکی، بسیج کلسیم در لنفوسیت‌های موش را افزایش می‌دهد (Sei et al. 1991, Satoh et al. 2006). علاوه بر این، یون‌های کلسیم برای تولید اینترلوکین ۲ توسط لنفوسیت‌های T ضروری هستند (نگولسکو و همکاران ۱۹۹۴). پنیر باد (*Withania coagulans*) گیاهی بوته‌ای و سفت، به بلندی ۳۰ تا ۹۰ سانتی‌متر با برگ‌های ۲/۵ تا ۷/۵ سانتی‌متری با عرض ۱/۵ دوکی شکل و نوک تیز و بعضی اوقات لب گرد است. دارای ساقه‌های کوتاه و باریک، به رنگ خاکستری تا اندازه‌ای سفید، اغلب پوشیده شده با کرک‌های خاکستری رنگ ریز و متراکم و ستاره‌ای شکل است. گل‌های آن زرد و دو پایه با قطر ۷ تا ۱۲ میلی‌متر است. بخش‌های قابل استفاده شامل گیاه کامل، برگ‌ها، ساقه، ستەهای سبز، میوه‌ها، دانه‌ها و پوست است. بررسی‌ها نشان داده است که این گیاه دارای اثرات ضد التهاب، ضد سرطان، درمان آلزایمر، کاهش دهنده‌ی قند و کلسترول خون، ضد باکتریایی، ضد قارچی، تقویت کننده‌ی سیستم ایمنی، ضد آلرژیک و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Jaiswal et al. 2009). تحقیقات بیوشیمیایی انجام شده روی میوه این گیاه منجر به شناسایی گروه خاصی از لاکتون‌های استروئیدی به نام ویتانولیدها شده است که خواص درمانی آن را مرتبط با این ترکیبات می‌دانند (Nagareddy and Lakshmana 2006, Prasad et al. 2010). از مهم‌ترین ویتانولیدهای میوه‌ی گیاه پنیرباد می‌توان به ویتاکواگین، ویتانیا کوئگولنس، ویتافرین A، ویتانولید D، ویتانولید E و ویتانولید H اشاره کرد (Khodaei et al. 2012). گزارش شده است که ویتافرین A و ویتانولید E موجود در میوه‌ی پنیرباد باعث تکثیر سلول‌های نوع B و T سیستم ایمنی، کمک به ایمنی انتخابی نوع Th1 و افزایش فعالیت ماکروفاژها و ترشح ایمونوگلوبولین‌ها می‌گردد که خود بیانگر نقش عصاره‌ی میوه‌ی این گیاه در تحریک ایمنی سلولی و هومورال می‌باشد (Shohat et al. 1978). گیاهان دارویی علاوه بر تحریک فرآیند رشد موجودات زنده و تقویت سیستم ایمنی، اثرات مثبتی بر ساختار و عملکرد پرزها و سلول‌های اپیتلیال در بخش‌های مختلف روده دارند (Yamauchi et al. 2006). Davis و Kuttan در سال ۱۹۹۸ در آزمایشی به مدت ۳۰ روز و هر ۳ روز یک بار ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی گیاه دارویی بوزیدان (*Withania Somnifera*) را به موش‌هایی که سیستم ایمنی آن‌ها به وسیله‌ی ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از ماده‌ی سیکلو فسفامید و هر ۳ روز یک بار سرکوب شده بود تزریق نمودند. نتایج ریخت‌شناسی روده نشان داد که درمان به وسیله‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی بوزیدان در موش‌های آلوده با سیکلو فسفامید باعث بازگرداندن ساختار پرز به حالت طبیعی می‌گردد. هدف از این



www.SID.ir

Archive of SID



آزمایش، بررسی اثرات اصلی و متقابل کلسیتریول و عصاره‌ی هیدروالکلی ریشه‌ی گیاه دارویی پنیرباد با استفاده از جیره‌های با سطوح کافی و یا کم کلسیم بر پاسخ ایمنی و ریخت‌شناسی روده‌ی جوجه خروس‌ها می‌باشد.

## مواد و روش کار

میوه‌های گیاه پنیرباد در ماه مهر از زیستگاه طبیعی آن واقع در سراوان، سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شدند. میوه‌ها به هرباریوم پژوهشکده‌ی گیاه‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل و برای اطمینان مورد شناسایی قرار گرفتند. میوه‌ها در سایه و در معرض هوای آزاد خشک شدند و در نهایت خرد و به شکل پودر درآمدند. جهت حصول عصاره‌ی هیدروالکلی از اتانول ۵۰ درصد به عنوان حلال استفاده شد. بدین منظور میوه‌ی پودر شده با نسبت ۱ به ۴ (پودر میوه به حلال) به مدت ۷۲ ساعت در حلال قرار گرفت و ۸ لیتر از حلال به ۲ کیلوگرم پودر میوه افزوده شد. سپس میوه‌های پودر شده در حلال توسط دستگاه روتاری ( Laborota 4000, Heidolph German) در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور به دست آوردن عصاره‌ی نیمه خشک مورد عصاره‌گیری قرار گرفت. عصاره‌ی آبی به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت مورد انجماد خشک قرار گرفت. بالاخره عصاره‌ی خشک در بطری قرار گرفت و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

در این آزمایش تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه خروس یک روزه سویه‌ی راس ۳۰۸ خریداری و در ۶۰ تکرار با بستری از تراشه‌ی چوب با تراکم ۱۰ قطعه جوجه به ازای هر تکرار قرار گرفتند. پرندگان در طی دوره‌ی آزمایش ۶ هفته‌ای به آب و تیمارهای آزمایشی دسترسی آزاد داشتند. دما و برنامه‌ی نوری مطابق با دستورالعمل پرورش سویه‌ی راس ۳۰۸ کنترل شد. طرح آزمایشی مورد استفاده به صورت فاکتوریل ۲×۳×۲ و شامل جیره‌ی کنترل مثبت با سطح کافی کلسیم و کنترل منفی (کاهش ۳۰ درصدی سطح کلسیم)، سه سطح عصاره‌ی پنیرباد (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و دو سطح کلسیتریول (صفر و ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم جیره) بود. کلسیتریول (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) با روغن ذرت به عنوان حامل مخلوط (۱۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر) و در یک بطری تیره در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان استفاده در جیره‌ی نگهداری گردید. انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام جیره‌های مورد استفاده یکسان بود. جیره‌ی کنترل مثبت تأمین کننده‌ی همه‌ی نیازمندی‌های مواد مغذی ضروری پیشنهاد شده در دستورالعمل راهنمای سویه‌ی تجارتی راس ۳۰۸ بود. جیره‌ی کنترل منفی مشابه با جیره‌ی کنترل مثبت اما سطح کلسیم آن ۳۰ درصد کاهش یافته بود.

برای بررسی ایمنی هومورال از آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) استفاده گردید و پاسخ ایمنی علیه آن بررسی شد. بدین منظور ۲۰ میلی‌لیتر خون گوسفند تهیه و در لوله‌ی حاوی EDTA ۵ درصد ریخته شد. گلبول‌های قرمز سه بار با بافر نمکی فسفات (PBS) شسته شد و در نهایت یک محلول ۵ درصد از گلبول قرمز در بافر نمکی فسفات تهیه گردید (Chou et al. 2009). در روز ۲۵ دوره‌ی آزمایش (سن ۲۵ روزگی) به ۲ جوجه از هر تکرار، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق درون سیاهرگ بال تزریق شد. برای اندازه‌گیری پاسخ آنتی‌بادی اولیه‌ی علیه SRBC، در روز ۳۲ دوره‌ی آزمایش (۷ روز پس از تزریق) از هر تکرار دو قطعه جوجه‌ای که به آن‌ها SRBC تزریق شده بود انتخاب و از ورید بال آن‌ها ۲ میلی‌لیترخون اخذ شد و تزریق محلول ۵ درصد از گلبول قرمز در بافر نمکی فسفات مجدداً برای بررسی تیتر آنتی‌بادی ثانویه تکرار شد و ۷ روز بعد (روز ۳۹) خون‌گیری به عمل آمد. به منظور بررسی فعالیت ایمنی سلولی از ازدیاد حساسیت جلدی (CBH[1]) استفاده گردید. در روز ۳۷

1- Cutaneous basophil hypersensitivity



www.SID.ir

Archive of SID



دوره‌ی آزمایش ابتدا ضخامت پرده‌ی بین انگشت دوم و سوم هر دو پای چپ و راست ۲ قطعه‌ی جوجه به ازای هر تکرار با استفاده از کولیس دیجیتال با دقت ۱± میکرومتر (series 500, Mitutoyo, Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد. سپس ۱۰۰ میکروگرم فیتو هم آگلوتینین (PHA-P) در ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سالین از طریق تزریق زیر پوستی به پرده‌ی بین انگشت دوم و سوم پای چپ هر جوجه تزریق گردید. به پرده‌ی بین انگشت دوم و سوم پای راست نیز ۰/۱ میلی‌لیتر سالین تزریق گردید که به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. ضخامت پرده بعد از تزریق و به فواصل ۱۲ و ۲۴ ساعت دوباره اندازه‌گیری گردید. به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های T در سیستم ایمنی سلولی اختلاف ضخامت قبل و بعد از هر تزریق به عنوان معیار سنجش در نظر گرفته شد. میانگین افزایش ضخامت پرده در هر پرنده از اختلاف ضخامت قبل و بعد از هر تزریق به دست آمد (Thompson et al. 1980). در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره‌ی آزمایش یک قطعه جوجه به ازای هر تکرار کشتار و وزن اندام‌های لنفاوی شامل تیموس، طحال و بورس فابرسیوس اندازه‌گیری شدند. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی بخش ژژنوم روده‌ی کوچک در ۲ سن ۲۱ و ۴۲ روزگی بررسی گردید. بدین منظور در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره‌ی آزمایش کلیه‌ی پرندگان مورد آزمایش به مدت ۸ ساعت از دسترسی به خوراک محروم و یک قطعه جوجه به ازای هر تکرار کشتار گردید. حدود ۱/۵ سانتی‌متر از قسمت میانی بافت ژژونوم جدا شد. نمونه‌ها به منظور تهیه‌ی اسلاید و اندازه‌گیری متغیرهای مربوطه شامل ارتفاع پرز، عرض پرز، ضخامت اپیتلیوم، ضخامت عضله و عمق کریپت به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه فردوسی منتقل شدند.

برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی از روش میکروهماگلوتیناسیون استفاده گردید (Boa-Amponsem et al. 2001). برای عیار ایمنو گلوبولین G از مرکاپتواتانول ۰/۰۱ مولار استفاده شد. از تفریق عیار ایمنو گلوبولین G از عیار تام، ایمنو گلوبولین M محاسبه شد. برای آماده‌سازی نمونه‌های بافتی سه مرحله‌ی آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدن انجام گرفت. برای آبگیری از نمونه‌های بافتی، نمونه‌ها داخل محلول الکل اتیلیک با درجات صعودی قرار گرفت. جهت شفاف-سازی از زایلل استفاده گردید. به منظور اشباع‌سازی نمونه‌ها با پارافین، عمل پارافینه کردن انجام شد. سپس به وسیله‌ی میکروتوم چرخان برش‌هایی با ضخامت ۵ الی ۶ میکرومتر بریده شد. برش‌های حاصله به منظور صاف شدن داخل آب ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد شناور شدند و پس از رفع چروک‌های احتمالی روی لام قرار گرفتند. لام‌های مربوطه روی صفحه‌ی گرم با دمای ۴۰ الی ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند تا ضمن خشک شدن، پارافین‌های اضافی نیز ذوب گردد. رنگ‌آمیزی بافت‌های پایدار شده روی لام، پس از پارافین‌گیری با زایلل و آب‌دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک، به کمک هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. برای بررسی بافت‌های تهیه شده از میکروسکوپ نوری (Olympus BX41TF, Tokyo, Japan) متصل به دوربین دیجیتال (Olympus DP12 U-TV0.5 XC-2, Japan) و مجهز به سیستم آنالیز تصویر (Olysia Soft Imaging System, Germany) استفاده گردید. بدین ترتیب ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عرض پرز، عمق کریپت و ضخامت عضله محاسبه شد.

آنالیز اطلاعات به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳×۲ (دو سطح کلسیم، سه سطح عصاره‌ی میوه‌ی پنیرباد و دو سطح کلسیتریول) انجام شد. تجزیه و تحلیل کلیه‌ی داده‌ها با استفاده از روش GLM نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.



www.SID.ir

Archive of SID



## نتایج

### ایمنی هومورال

اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ آنتی‌بادی اولیه و ثانویه ضد SRBC در جدول ۲ نشان داده شده است. اطلاعات جدول نشان می‌دهد که نوع جیره‌ی کنترل، مکمل سازی بوزیدان و کلسیتریول هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر پاسخ ایمونو گلوبولین G، M و تام ضد گلبول قرمز گوسفند در سنین ۳۲ و ۳۹ روزگی نداشته است (P>۰/۰۵). اثر متقابل معنی‌داری بین جیره و کلسیتریول بر پاسخ ایمونوگلوبولین G در تست اولیه مشاهده گردید (P<۰/۰۵). اما این اثر متقابل در تست ثانویه مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

### ایمنی سلولی

کلیه‌ی تیمارهای آزمایشی هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر افزایش حساسیت و ورم پرده بین انگشتان دوم و سوم در اثر تزریق زیر پوستی ۱۰۰ میکروگرم فیتو هم آگلوتینین در ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سالین نشان ندادند (P>۰/۰۵) (جدول ۳).

### وزن اندام‌های لنفاوی

اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در سنین ۲۱ و ۴۲روزگی در جداول ۴ و ۵ نشان داده شده است. در سن ۲۱ روزگی اثر متقابل میان نوع جیره‌ی کنترل و پنیر باد بر وزن نسبی طحال مشاهده شد (جدول۴). این اثر متقابل نشان داد در جیره‌های کنترل مثبت، صرف نظر از سطح کلسیتریول جیره، مکمل‌سازی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی پنیر باد موجب افزایش وزن نسبی طحال در مقایسه با جیره‌های فاقد پنیر باد می‌گردد (۰/۱۳۷ در مقابل ۰/۰۸۸ گرم). در ۴۲ روزگی وزن اندام‌های لنفوئیدی تیموس و طحال تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. وزن نسبی تیموس در پرندگان تغذیه شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره‌ی پنیرباد بیش‌تر از پرندگان تغذیه شده با سطوح دیگر این عصاره بود (P<۰/۰۱). همچنین جیره‌ی کنترل منفی موجب کاهش وزن نسبی طحال در مقایسه با جیره‌ی کنترل مثبت گردید (P<۰/۰۵).

### ریخت‌شناسی روده‌ی کوچک

در ۲۱ روزگی به جز نسبت طول پرز به عمق کریپت سایر پارامترهای روده تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (جدول ۶). در ۴۲ روزگی مکمل سازی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پنیر باد موجب کاهش معنی‌دار طول پرز در مقایسه با مکمل‌سازی سایر سطوح این عصاره گردید (جدول ۶) (تصاویر ۱ و ۲) (P<۰/۰۱). هیچ اثر متقابل معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی روده در ۴۲ روزگی مشاهده نشد (جدول ۷).

**تصویر ۱: کاهش طول پرز در اثر تغذیه‌ی سطح ۲۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم عصاره‌ی میوه پنیرباد در سن ۴۲ روزگی**

**تصویر ۲: افزایش طول پرز در اثر تغذیه‌ی سطح ۱۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم عصاره‌ی میوه‌ی پنیرباد در سن ۴۲ روزگی**



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۱: ترکیب جیره‌های پایه‌ی جوجه‌های گوشتی در بازه‌های زمانی مختلف (٪)**

| | دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی) | | دوره رشد (۲۳-۱۱ روزگی) | | دوره پایانی (۴۲-۲۴ روزگی) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | − | + | − | + | − | + |
| ذرت | ۵۲ | ۵۲ | ۵۳/۲۰ | ۵۳/۲۰ | ۵۳ | ۵۳ |
| کنجاله سویا | ۳۵ | ۳۵ | ۳۷ | ۳۷ | ۳۶/۹۰ | ۳۶/۹۰ |
| گلوتن ذرت | ۵ | ۵ | − | − | − | − |
| روغن گیاهی | ۳/۲۷ | ۳/۲۷ | ۵/۸ | ۵/۸ | ۶/۵۶ | ۶/۵۶ |
| سنگ آهک | ۰/۵۳ | ۱/۳۱ | ۰/۴۰ | ۱/۰۷ | ۰/۳۷ | ۱/۰۳ |
| دی کلسیم فسفات | ۱/۷۵ | ۱/۷۵ | ۱/۵۵ | ۱/۵۵ | ۱/۴۰ | ۱/۴۰ |
| نمک | ۰/۳۵ | ۰/۳۵ | ۰/۴۷ | ۰/۴۷ | ۰/۴۱ | ۰/۴۱ |
| دی ال متیونین | ۰/۳۲ | ۰/۳۲ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ | ۰/۲۰ | ۰/۲۰ |
| ال لیزین | ۰/۴ | ۰/۴ | ۰/۱۳ | ۰/۱۳ | − | − |
| ال ترئونین | ۰/۱ | ۰/۱ | − | − | − | − |
| مکمل ویتامینی۱ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ |
| مکمل معدنی۲ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ |
| ماسه | ۰/۷۸ | − | ۰/۶۷ | − | ۰/۶۶ | − |
| انرژی و مواد مغذی محاسبه شده | | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) | ۳۰۱۱/۴۷ | ۳۰۱۱/۴۷ | ۳۱۳۰/۹۷ | ۳۱۳۰/۹۷ | ۳۱۷۸/۷۷ | ۳۱۷۸/۷۷ |
| پروتئین خام (٪) | ۲۳/۵۲ | ۲۳/۵۲ | ۲۱/۱۵ | ۲۱/۱۵ | ۲۰/۹۱ | ۲۰/۹۱ |
| لیزین (٪) | ۱/۴۴ | ۱/۴۴ | ۱/۲۴ | ۱/۲۴ | ۱/۱۳ | ۱/۱۳ |
| متیونین (٪) | ۰/۷ | ۰/۷ | ۰/۶۱ | ۰/۶۱ | ۰/۵۲ | ۰/۵۲ |
| کل اسیدهای آمینه گوگرد دار (٪) | ۱/۰۷ | ۱/۰۷ | ۰/۹۵ | ۰/۹۵ | ۰/۸۶ | ۰/۸۶ |
| کلسیم (٪) | ۰/۷۳ | ۱/۰۴ | ۰/۶۳ | ۰/۹۰ | ۰/۵۹ | ۰/۸۵ |
| فسفر غیر فیتاته (٪) | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۴۵ | ۰/۴۵ | ۰/۴۲ | ۰/۴۲ |
| فسفر کل (٪) | ۰/۷ | ۰/۷ | ۰/۶۸ | ۰/۶۸ | ۰/۶۵ | ۰/۶۵ |
| سدیم (٪) | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | /۱۹ | ۰/۱۹ | ۰/۱۷ | ۰/۱۷ |
| پتاسیم (٪) | ۰/۸۷ | ۰/۸۷ | ۰/۹۰ | ۰/۹۰ | ۰/۸۹ | ۰/۸۹ |
| کلر (٪) | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۳۲ | ۰/۳۲ | ۰/۲۸ | ۰/۲۸ |
| DEB ۳ (mEq/kg) | ۲۱۷/۲۹ | ۲۱۷/۲۹ | ۲۲۶/۱۱ | ۲۲۶/۱۱ | ۲۲۶/۸۷ | ۲۲۶/۸۷ |
| غلظت مواد مغذی آنالیز شده | | | | | | |
| کلسیم (٪) | ۰/۷۵ | ۱/۰۷ | ۰/۶۵ | ۰/۹۳ | ۰/۶۱ | ۰/۸۸ |
| فسفر کل (٪) | ۰/۷۴ | ۰/۷۴ | ۰/۷۱ | ۰/۷۱ | ۰/۶۷ | ۰/۶۷ |

[۱] پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم جیره ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D، ۱۱ میلی‌گرم ویتامین A، ۲ میلی-گرم ویتامین $K_3$، ۵/۷ میلی‌گرم ویتامین $B_2$، ۲ میلی‌گرم ویتامین $B_6$، ۰/۰۲۴ میلی‌گرم ویتامین $B_{12}$، ۲۸ میلی‌گرم نیکوتینیک اسید، ۰/۵ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۲ میلی‌گرم پانتوتینیک اسید، ۲۵۰ میلی‌گرم کولین کلراید تأمین می‌کرد.

[۲] پیش مخلوط معدنی در هر کیلوگرم جیره ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۵ میلی‌گرم روی، ۵ میلی‌گرم مس، ۰/۲۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۰/۵ میلی‌گرم ید و ۰/۵ میلی‌گرم کبالت تأمین می‌کرد.

[۳] DEB= Dietary electrolyte balance



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۲: اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر پاسخ آنتی‌بادی اولیه و ثانویه‌ی ضد SRBC**

| تیمار | | | تست اولیه (۳۲ روزگی) | | | تست ثانویه (۳۹ روزگی) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جیره [۱] | پنیر باد (میلیگرم/ کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/ کیلوگرم) | ایمونوگلوبولین G | ایمونوگلوبولین M | ایمونوگلوبولین کل | ایمونوگلوبولین G | ایمونوگلوبولین M | ایمونوگلوبولین کل |
| – | صفر | صفر | ۲/۰۰$^{ab}$ | ۵/۲۰ | ۷/۲۰ | ۲/۰۰ | ۵/۵۰ | ۷/۵۰ |
| – | صفر | ۰/۵ | ۱/۴۰$^{ab}$ | ۵/۴۰ | ۶/۸۰ | ۲/۵۰ | ۵/۶۰ | ۷/۴۰ |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۲/۲۰$^{a}$ | ۶/۰۰ | ۸/۲۰ | ۲/۰۰ | ۵/۲۰ | ۷/۲۰ |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۱/۶۰$^{ab}$ | ۶/۰۰ | ۷/۶۰ | ۲/۰۰ | ۶/۲۰ | ۸/۲۰ |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۱/۶۰$^{ab}$ | ۵/۸۰ | ۷/۴۰ | ۲/۴۰ | ۵/۴۰ | ۷/۸۰ |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱/۶۰$^{ab}$ | ۶/۴۰ | ۸/۰۰ | ۲/۲۰ | ۶/۲۰ | ۸/۴۰ |
| + | صفر | صفر | ۱/۶۰$^{ab}$ | ۶/۴۰ | ۸/۰۰ | ۱/۸۰ | ۶/۲۰ | ۸/۰۰ |
| + | صفر | ۰/۵ | ۱/۸۰$^{ab}$ | ۵/۶۰ | ۷/۴۰ | ۲/۰۰ | ۵/۷۵ | ۷/۸۰ |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۱/۵۰$^{ab}$ | ۶/۶۰ | ۷/۵۰ | ۲/۰۰ | ۵/۵۰ | ۷/۵۰ |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۱/۸۰$^{ab}$ | ۵/۲۰ | ۷/۰۰ | ۲/۴۰ | ۵/۶۰ | ۸/۰۰ |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۱/۲۰$^{b}$ | ۶/۶۰ | ۷/۸۰ | ۲/۲۰ | ۵/۴۰ | ۷/۶۰ |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱/۷۵$^{ab}$ | ۶/۴۰ | ۷/۸۰ | ۱/۸۰ | ۵/۶۰ | ۷/۴۰ |
| SEM | | | ۰/۲۷۱ | ۰/۶۶۶ | ۰/۶۷۳ | ۰/۳۶۹ | ۰/۵۴۷ | ۰/۴۷۵ |
| اثر اصلی | | | | | | | | |
| جیره | | – | ۱/۷۳ | ۵/۸۰ | ۷/۵۳ | ۲/۱۷ | ۵/۶۸ | ۷/۷۵ |
| | | + | ۱/۶۰ | ۶/۱۰ | ۷/۵۸ | ۲/۰۳ | ۵/۶۷ | ۷/۷۲ |
| پنیر باد | | صفر | ۱/۷۰ | ۵/۶۵ | ۷/۳۵ | ۲/۰۵ | ۵/۷۷ | ۷/۶۸ |
| | | ۱۰۰ | ۱/۷۸ | ۵/۸۸ | ۷/۵۷ | ۲/۱۰ | ۵/۶۳ | ۷/۷۳ |
| | | ۲۰۰ | ۱/۵۲ | ۶/۳۰ | ۷/۷۵ | ۲/۱۵ | ۵/۶۵ | ۷/۸۰ |
| کلسیتریول | | صفر | ۱/۶۸ | ۶/۰۷ | ۷/۶۸ | ۲/۰۷ | ۵/۵۳ | ۷/۶۰ |
| | | ۰/۵ | ۱/۶۵ | ۵/۸۳ | ۷/۴۳ | ۲/۱۳ | ۵/۸۲ | ۷/۸۶ |
| P Values | | | | | | | | |
| جیره | | | ۰/۴۳۸ | ۰/۳۸۸ | ۰/۸۹۹ | ۰/۴۴۹ | ۰/۹۷۷ | ۰/۹۰۵ |
| پنیر باد | | | ۰/۴۷۶ | ۰/۳۹۴ | ۰/۷۰۳ | ۰/۹۵۴ | ۰/۹۲۱ | ۰/۹۳۴ |
| کلسیتریول | | | ۰/۸۷۶ | ۰/۴۸۶ | ۰/۵۲۷ | ۰/۶۷۴ | ۰/۳۲۲ | ۰/۳۴۶ |
| جیره× پنیر باد | | | ۰/۸۱۴ | ۰/۷۳۷ | ۰/۳۸۴ | ۰/۴۵۸ | ۰/۵۳۵ | ۰/۳۰۷ |
| جیره × کلسیتریول | | | ۰/۰۲۳ | ۰/۱۷۵ | ۰/۷۶۷ | ۰/۹۳۲ | ۰/۲۴۷ | ۰/۴۰۹ |
| پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۴۲۰ | ۰/۶۳۶ | ۰/۶۱۲ | ۰/۳۶۹ | ۰/۵۴۰ | ۰/۴۳۰ |
| جیره× پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۹۰۱ | ۰/۹۴۲ | ۰/۹۳۶ | ۰/۷۳۷ | ۰/۹۶۵ | ۰/۸۷۶ |

[a-b] میانگین‌های هر ستون و برای هر عامل که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای تفاوت معنی‌دار هستند (P< ۰/۰۵).

[۱] جیره کنترل مثبت (+) حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی (–) حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۳: اثر پنیرباد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر افزایش ضخامت پرده بین انگشت دوم و سوم جوجه‌های گوشتی در سن ۳۷ تا ۳۸ روزگی**

| تیمار | | | افزایش ضخامت پرده بین انگشت دوم و سوم | |
|---|---|---|---|---|
| جیره [1] | پنیر باد (میلی‌گرم/کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/کیلوگرم) | افزایش ۱۲ ساعته (میلی‌متر) | افزایش ۲۴ ساعته (میلی‌متر) |
| – | صفر | صفر | ۰/۳۶۸ | ۰/۳۳۶ |
| – | صفر | ۰/۵ | ۰/۲۰۸ | ۰/۱۹۶ |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۰/۱۵۰ | ۰/۲۰۴ |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۲۹۴ | ۰/۴۲۴ |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۰/۲۳۰ | ۰/۲۳۰ |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۳۰۴ | ۰/۳۷۸ |
| + | صفر | صفر | ۰/۶۶۲ | ۰/۵۰۴ |
| + | صفر | ۰/۵ | ۰/۲۷۸ | ۰/۱۹۴ |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۰/۴۰۴ | ۰/۴۹۶ |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۴۶۴ | ۰/۴۳۴ |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۰/۲۹۰ | ۰/۲۵۴ |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۲۷۴ | ۰/۳۳۶ |
| SEM | | | ۰/۱۲۷ | ۰/۱۱۵ |
| اثر اصلی | | | | |
| جیره | | – | ۰/۲۵۹ | ۰/۲۹۴ |
| | | + | ۰/۳۹۵ | ۰/۳۶۹ |
| پنیر باد | | صفر | | |
| | | ۱۰۰ | ۰/۳۷۹ | ۰/۳۰۷ |
| | | ۲۰۰ | ۰/۳۲۸ | ۰/۳۸۹ |
| کلسیتریول | | صفر | ۰/۲۷۴ | ۰/۲۹۹ |
| | | ۰/۵ | | |
| P Values | | | | |
| جیره | | | ۰/۰۷۰ | ۰/۲۶۵ |
| پنیر باد | | | ۰/۵۱۵ | ۰/۴۷۸ |
| کلسیتریول | | | ۰/۵۲۶ | ۰/۸۷۷ |
| جیره× پنیر باد | | | ۰/۵۰۵ | ۰/۶۱۸ |
| جیره × کلسیتریول | | | ۰/۳۷۲ | ۰/۲۰۰ |
| پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۱۰۰ | ۰/۰۸۲ |
| جیره×پنیر باد×کلسیتریول | | | ۰/۹۰۸ | ۰/۸۰۳ |

[1] جیره‌ی کنترل مثبت (+) حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی (–) حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۴: اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) در سن ۲۱ روزگی**

| تیمار | | | وزن اندام‌های لنفاوی | | |
|---|---|---|---|---|---|
| جیره [۱] | پنیر باد (میلی‌گرم/کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/کیلوگرم) | تیموس | طحال | بورس فابرسیوس |
| – | صفر | صفر | ۰/۹۷۱ | ۰/۱۱۱ ab | ۰/۲۵۲ |
| – | صفر | ۰/۵ | ۰/۷۷۶ | ۰/۱۲۸ ab | ۰/۲۴۲ |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۰/۸۰۲ | ۰/۱۰۸ ab | ۰/۲۹۱ |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۷۳۰ | ۰/۰۹۵ ab | ۰/۲۱۴ |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۰/۸۵۹ | ۰/۱۰۸ ab | ۰/۲۴۷ |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۹۲۶ | ۰/۱۱۷ ab | ۰/۲۴۶ |
| + | صفر | صفر | ۰/۹۳۲ | ۰/۰۹۵ab | ۰/۲۵۴ |
| + | صفر | ۰/۵ | ۰/۹۰۰ | ۰/۰۸۸b | ۰/۱۹۲ |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۰/۸۸۸ | ۰/۱۲۵ ab | ۰/۲۴۸ |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۷۶۱ | ۰/۱۱۲ ab | ۰/۲۹۲ |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۰/۹۱۷ | ۰/۱۳۷a | ۰/۲۱۱ |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۶۸۸ | ۰/۱۰۲ ab | ۰/۳۰۳ |
| SEM | | | ۰/۰۸۵ | ۰/۰۱۳ | ۰/۰۳۴ |
| اثر اصلی | | | | | |
| جیره | | – | ۰/۸۴۴ | ۰/۱۱۱ | ۰/۲۴۹ |
| | | + | ۰/۸۴۸ | ۰/۱۱۰ | ۰/۲۵۰ |
| پنیر باد | | صفر | ۰/۸۹۵ | ۰/۱۰۵ | ۰/۲۳۵ |
| | | ۱۰۰ | ۰/۷۹۵ | ۰/۱۰۹ | ۰/۲۶۱ |
| | | ۲۰۰ | ۰/۸۴۸ | ۰/۱۱۶ | ۰/۲۵۲ |
| کلسیتریول | | صفر | ۰/۸۹۵ | ۰/۱۱۴ | ۰/۲۵۰ |
| | | ۰/۵ | ۰/۷۹۷ | ۰/۱۰۷ | ۰/۲۴۸ |
| P Values | | | | | |
| جیره | | | ۰/۷۲۲ | ۰/۸۱۱ | ۰/۹۴۸ |
| پنیر باد | | | ۰/۱۳۴ | ۰/۴۹۹ | ۰/۵۵۷ |
| کلسیتریول | | | ۰/۱۰۱ | ۰/۳۴۷ | ۰/۹۱۵ |
| جیره× پنیر باد | | | ۰/۳۶۹ | ۰/۰۴۳ | ۰/۶۵۹ |
| جیره × کلسیتریول | | | ۰/۸۶۴ | ۰/۱۹۷ | ۰/۱۷۵ |
| پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۷۶۹ | ۰/۷۹۶ | ۰/۲۳۰ |
| جیره× پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۱۵۵ | ۰/۷۴۰ | ۰/۱۷۰ |



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۵: اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) در سن ۴۲ روزگی**

| تیمار | | | وزن اندام‌های لنفاوی | | |
|---|---|---|---|---|---|
| جیره [۱] | پنیر باد (میلی‌گرم/کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/کیلوگرم) | تیموس | طحال | بورس فابرسیوس |
| – | صفر | صفر | ۰/۵۲۰ | ۰/۱۲۵ | ۰/۰۹۵ |
| – | صفر | ۰/۵ | ۰/۶۳۲ | ۰/۱۰۵ | ۰/۰۹۸ |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۰/۶۹۳ | ۰/۱۱۲ | ۰/۱۱۶ |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۶۱۹ | ۰/۱۱۴ | ۰/۱۱۳ |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۰/۹۰۶ | ۰/۱۱۶ | ۰/۰۹۸ |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۸۵۷ | ۰/۱۳۲ | ۰/۰۸۴ |
| + | صفر | صفر | ۰/۶۳۲ | ۰/۱۴۲ | ۰/۱۱۷ |
| + | صفر | ۰/۵ | ۰/۶۳۵ | ۰/۱۲۸ | ۰/۱۰۴ |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۰/۶۷۹ | ۰/۱۴۱ | ۰/۱۱۳ |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۰/۷۰۹ | ۰/۱۳۵ | ۰/۱۱۲ |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۰/۷۷۷ | ۰/۱۱۸ | ۰/۱۰۲ |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۰/۹۱۷ | ۰/۱۲۹ | ۰/۱۰۳ |
| SEM | | | ۰/۰۹۹ | ۰/۰۱۱ | ۰/۰۱۸ |
| اثر اصلی | | | | | |
| جیره | | – | ۰/۷۰۵ | ۰/۱۱۷[b] | ۰/۱۰۰ |
| | | + | ۰/۷۲۵ | ۰/۱۳۲[a] | ۰/۱۰۹ |
| پنیر باد | | صفر | ۰/۶۰۵[b] | ۰/۱۲۵ | ۰/۱۰۳ |
| | | ۱۰۰ | ۰/۶۷۵[b] | ۰/۱۲۶ | ۰/۱۱۴ |
| | | ۲۰۰ | ۰/۸۶۴[a] | ۰/۱۲۴ | ۰/۰۹۶ |
| کلسیتریول | | صفر | ۰/۷۰۱ | ۰/۱۲۶ | ۰/۱۰۷ |
| | | ۰/۵ | ۰/۷۲۸ | ۰/۱۲۴ | ۰/۱۰۲ |
| P Values | | | | | |
| جیره | | | ۰/۷۲۶ | ۰/۰۳۲ | ۰/۴۹۵ |
| پنیر باد | | | ۰/۰۰۱ | ۰/۹۶۹ | ۰/۴۹۴ |
| کلسیتریول | | | ۰/۶۳۹ | ۰/۷۸۶ | ۰/۶۸۶ |
| جیره× پنیر باد | | | ۰/۷۹۰ | ۰/۲۵۹ | ۰/۸۲۴ |
| جیره × کلسیتریول | | | ۰/۵۹۵ | ۰/۸۶۹ | ۰/۹۸۳ |
| پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۸۳۱ | ۰/۲۰۰ | ۰/۹۸۹ |
| جیره× پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۵۵۵ | ۰/۹۰۲ | ۰/۸۵۹ |

[a-c] میانگین‌های هر ستون و برای هر عامل که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای تفاوت معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

[۱] جیره کنترل مثبت (+) حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی (–) حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۶: اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر ریخت‌شناسی بخش ژژونوم روده‌ی کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ روزگی**

| تیمار | | | خصوصیات ریخت شناسی بخش ژژونوم | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جیره [۱] | پنیر باد (میلی‌گرم/کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/کیلوگرم) | طول پرز (میکرومتر) | عرض پرز (میکرومتر) | عمق کریپت (میکرومتر) | ضخامت لایه عضلانی (میکرومتر) | طول پرز/ عمق کریپت |
| – | صفر | صفر | ۱۰۴۹ | ۱۰۵/۳ | ۲۳۹/۷ | ۲۹۲/۷ | ۴/۴۰۱ ab |
| – | صفر | ۰/۵ | ۹۹۰/۷ | ۱۰۰/۷ | ۲۵۴/۴ | ۲۷۳/۱ | ۳/۹۶۲ ab |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۱۰۰۸ | ۹۹/۵۰ | ۲۳۲/۱ | ۲۱۰/۴ | ۴/۴۶۲ ab |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۱۰۱۳ | ۸۹/۷۴ | ۲۳۵/۶ | ۲۴۷/۹ | ۴/۳۴۸ ab |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۱۰۶۰ | ۸۵/۸۸ | ۲۴۴/۷ | ۲۸۲/۷ | ۴/۴۵۴ ab |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱۱۷۵ | ۹۹/۲۱ | ۲۳۴/۷ | ۲۹۷/۶ | ۵/۰۹۲ a |
| + | صفر | صفر | ۱۱۵۳ | ۱۱۳/۶ | ۲۴۰/۲ | ۲۶۳/۴ | ۴/۷۸۴ ab |
| + | صفر | ۰/۵ | ۱۰۱۶ | ۱۰۵/۵ | ۲۷۵/۴ | ۲۷۳/۳ | ۳/۷۸۱ b |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۱۰۱۹ | ۹۸/۵۹ | ۲۵۰/۴ | ۲۹۹/۰ | ۴/۰۸۶ ab |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۹۹۷/۸ | ۱۰۵/۱ | ۲۵۵/۰ | ۲۷۵/۰ | ۳/۹۳۱ ab |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۱۰۸۰ | ۱۰۷/۹ | ۲۵۹/۷ | ۲۶۳/۳ | ۴/۱۸۴ ab |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱۱۱۵ | ۸۹/۷۶ | ۲۲۴/۲ | ۲۱۹/۶ | ۵/۰۵۲ a |
| SEM | | | ۷۷/۷۸ | ۸/۳۳۰ | ۱۷/۸۱ | ۴۳/۸۹ | ۰/۳۴۷ |
| اثر اصلی | | | | | | | |
| جیره | | | ۱۰۴۹ | ۹۶/۴۴ | ۲۴۰/۲ | ۲۸۰/۳ | ۴/۴۵۵ |
| | | | ۱۰۶۵ | ۱۰۳/۶ | ۲۵۰/۸ | ۲۶۴/۴ | ۴/۳۱۱ |
| پنیر باد | | | ۱۰۵۲ | ۱۰۶/۳ | ۲۳۵/۱ | ۲۹۵/۸ | ۴/۲۲۳ |
| | | | ۱۰۰۹ | ۹۸/۲۳ | ۲۴۴/۹ | ۲۵۵/۹ | ۴/۲۱۳ |
| | | | ۱۱۰۸ | ۹۵/۷۱ | ۲۴۰/۸ | ۲۶۵/۸ | ۴/۶۹۶ |
| کلسیتریول | | | ۱۰۶۴ | ۱۰۱/۸ | ۲۴۶/۵ | ۲۸۰/۹ | ۴/۴۰۶ |
| | | | ۱۰۵۱ | ۹۸/۳۶ | ۲۴۴/۴ | ۲۶۴/۴ | ۴/۳۶۱ |
| | | P Values | | | | | |
| جیره | | | ۰/۷۵۶ | ۰/۱۷۷ | ۰/۳۱۷ | ۰/۴۷۸ | ۰/۴۶۷ |
| پنیر باد | | | ۰/۲۲۲ | ۰/۱۹۴ | ۰/۶۴۱ | ۰/۳۷۲ | ۰/۰۹۷ |
| کلسیتریول | | | ۰/۸۱۸ | ۰/۴۸۳ | ۰/۸۴۳ | ۰/۴۲۴ | ۰/۸۶۸ |
| جیره×پنیر باد | | | ۰/۷۳۱ | ۰/۹۹۶ | ۰/۸۱۱ | ۰/۱۲۴ | ۰/۶۲۱ |
| جیره×کلسیتریول | | | ۰/۵۰۵ | ۰/۵۲۶ | ۰/۹۵۱ | ۰/۹۵۲ | ۰/۷۶۲ |
| پنیر باد×کلسیتریول | | | ۰/۳۰۹ | ۰/۹۱۵ | ۰/۱۸۴ | ۰/۶۲۲ | ۰/۰۱۷ |
| جیره×پنیر باد×کلسیتریول | | | ۰/۹۶۳ | ۰/۱۴۳ | ۰/۶۶۵ | ۰/۲۳۸ | ۰/۷۲۵ |

[a-b] میانگین‌های هر ستون و برای هر عامل که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای تفاوت معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

[۱] جیره کنترل مثبت (+) حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی (–) حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.



www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۷: اثر پنیر باد، کلسیتریول و نوع جیره‌ی کنترل بر ریخت‌شناسی بخش ژژونوم روده‌ی کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی**

| تیمار | | | خصوصیات ریخت شناسی بخش ژژونوم | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جیره [۱] | پنیر باد (میلی‌گرم/کیلوگرم) | کلسیتریول (میکروگرم/کیلوگرم) | طول پرز (میکرومتر) | عرض پرز (میکرومتر) | عمق کریپت (میکرومتر) | ضخامت لایه عضلانی (میکرومتر) | طول پرز/ عمق کریپت |
| – | صفر | صفر | ۱۵۸۱ | ۱۰۹/۹ | ۳۳۲/۳ | ۳۷۰/۴ | ۴/۸۴۰ |
| – | صفر | ۰/۵ | ۱۴۳۴ | ۱۲۴/۰ | ۳۵۹/۶ | ۳۸۲/۴ | ۴/۰۰۶ |
| – | ۱۰۰ | صفر | ۱۴۹۷ | ۱۱۱/۸ | ۳۲۲/۸ | ۴۴۲/۷ | ۴/۸۰۴ |
| – | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۱۴۶۸ | ۱۱۳/۳ | ۳۵۱/۱ | ۳۸۰/۷ | ۴/۳۱۵ |
| – | ۲۰۰ | صفر | ۱۲۵۴ | ۱۱۱/۱ | ۳۴۷/۷ | ۴۴۹/۴ | ۳/۷۳۹ |
| – | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱۲۳۱ | ۱۰۲/۰ | ۲۷۷/۰ | ۳۷۹/۷ | ۴/۵۱۱ |
| + | صفر | صفر | ۱۳۰۳ | ۱۱۶/۴ | ۳۱۸/۳ | ۳۷۷/۷ | ۴/۲۴۸ |
| + | صفر | ۰/۵ | ۱۴۵۸ | ۱۳۴/۶ | ۳۴۷/۱ | ۳۹۵/۸ | ۴/۲۶۰ |
| + | ۱۰۰ | صفر | ۱۶۲۸ | ۱۱۰/۷ | ۲۹۷/۶ | ۴۱۰/۹ | ۵/۲۱۳ |
| + | ۱۰۰ | ۰/۵ | ۱۵۶۱ | ۱۰۷/۶ | ۳۳۷/۹ | ۳۲۶/۵ | ۵/۰۱۶ |
| + | ۲۰۰ | صفر | ۱۴۱۹ | ۱۱۸/۶ | ۳۳۴/۷ | ۴۲۸/۸ | ۵/۱۷۵ |
| + | ۲۰۰ | ۰/۵ | ۱۱۴۹ | ۱۲۸/۱ | ۳۴۴/۱ | ۳۷۵/۲ | ۴/۴۲۷ |
| SEM | | | ۱۰۸/۹ | ۹/۶۹۰ | ۳۷/۶۷ | ۳۲/۹۲ | ۰/۴۶۲ |
| اثر اصلی | | | | | | | |
| جیره | | – | ۱۴۱۱ | ۱۱۱/۶ | ۳۳۱/۷ | ۴۰۰/۰ | ۴/۳۶۹ |
| | | + | ۱۴۱۷ | ۱۱۹/۰ | ۳۲۹/۴ | ۳۷۷/۵ | ۴/۶۹۷ |
| پنیر باد | | صفر | ۱۴۴۴[a] | ۱۲۱/۰ | ۳۳۹/۳ | ۳۷۱/۶ | ۴/۳۳۹ |
| | | ۱۰۰ | ۱۵۳۲ [a] | ۱۱۰/۸ | ۳۲۷/۳ | ۳۸۷/۸ | ۴/۸۰۶ |
| | | ۲۰۰ | ۱۲۶۹ [b] | ۱۱۴/۳ | ۳۲۴/۹ | ۴۰۸/۸ | ۴/۴۲۵ |
| کلسیتریول | | صفر | ۱۴۴۱ | ۱۱۳/۱ | ۳۲۵/۶ | ۴۰۴/۶ | ۴/۶۳۳ |
| | | ۰/۵ | ۱۳۸۵ | ۱۱۷/۷ | ۳۳۵/۸ | ۳۷۳/۰ | ۴/۴۰۰ |
| P Values | | | | | | | |
| جیره | | | ۰/۸۹۱ | ۰/۲۰۵ | ۰/۹۳۴ | ۰/۲۷۹ | ۰/۲۱۷ |
| پنیر باد | | | ۰/۰۰۳ | ۰/۳۳۵ | ۰/۸۶۰ | ۰/۳۲۳ | ۰/۳۲۴ |
| کلسیتریول | | | ۰/۳۲۳ | ۰/۳۶۹ | ۰/۶۳۲ | ۰/۰۹۹ | ۰/۳۸۵ |
| جیره× پنیر باد | | | ۰/۲۹۴ | ۰/۳۵۳ | ۰/۶۵۲ | ۰/۷۵۱ | ۰/۴۰۹ |
| جیره × کلسیتریول | | | ۰/۹۶۱ | ۰/۶۰۰ | ۰/۴۸۱ | ۰/۷۳۵ | ۰/۸۲۲ |
| پنیر باد × کلسیتریول | | | ۰/۶۱۱ | ۰/۴۰۵ | ۰/۴۲۴ | ۰/۰۵۳ | ۰/۸۱۳ |
| جیره×پنیرباد× کلسیتریول | | | ۰/۲۰۷ | ۰/۷۰۵ | ۰/۷۳۵ | ۰/۷۷۵ | ۰/۲۲۲ |

[a-b] میانگین‌های هر ستون و برای هر عامل که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای تفاوت معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

[۱] جیره‌ی کنترل مثبت (+) حاوی سطح توصیه شده‌ی کلسیم و کنترل منفی (–) حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.



www.SID.ir

Archive of SID



## بحث

اثر متقابل معنی‌دار بین جیره و کلسیتریول بر پاسخ ایمونوگلوبولین G در تست اولیه نشان داد که صرف نظر از سطح عصاره‌ی هیدروالکلی میوه‌ی پنیرباد در شرایط عدم مکمل‌سازی کلسیتریول یعنی سطح صفر میلی‌گرم در کیلوگرم کلسیتریول بیش‌ترین پاسخ ایمونوگلوبولین G در پرندگانی رخ می‌دهد که از جیره‌ی کنترل منفی در مقایسه با کنترل مثبت تغذیه کرده باشند (۲/۲ در مقایسه با ۱/۲۰، P<۰/۰۵). کاهش ۳۰ درصدی سطح کلسیم جیره در این آزمایش علی‌رغم گزارش‌های متعدد بر نقش کلسیم در فعال‌سازی و بلوغ لنفوسیت‌ها (بریج و همکاران ۲۰۰۳، فسک ۲۰۰۷)، نوتروفیل‌ها، تولید سیتوکین، بیان رسپتور سیتوکین (Kimura et al. 1999) افزایش بیان mRNA ژن‌های اینترلوکین ۲، سنتز پروتئین اینترلوکین ۲ (McCrady et al. 1978) و در نتیجه تحریک تولید آنتی‌بادی و پاسخ سیستم ایمنی (Cantorna et al. 2004)، هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر تیتر آنتی‌بادی در مقایسه با جیره‌ی استاندارد نداشت. ویتافرین A و ویتانولید E موجود در عصاره‌ی ریشه و میوه‌ی پنیر باد اثرات ویژه‌ای بر لنفوسیت‌های B و T انسان و همچنین تکثیر سلول‌های تیموس موش دارد (Shohat et al. 1978). کواگولین H موجود در عصاره‌ی میوه نیز اثرات مهمی در تکثیر لنفوسیت و تولید سیتوکین Th1 دارد. این نوع سیتوکین نیز به نوبه‌ی خود باعث کنترل تکثیر و تمایز سلول‌های مؤثر در پاسخ ایمنی می‌شود (Mesaik et al. 2006). طحال از اندام‌های لنفوئیدی ثانویه‌ی بدن است که در توسعه و تمایز لنفوسیت‌های B و T نقشی مهم دارد (Eerola et al. 1987, Toivanen et al. 1987). طحال از مناطق اصلی تولید آنتی‌بادی در بدن در مقابل هر گونه آنتی‌ژن می‌باشد و افزایش وزن آن نشانه‌ی افزایش جمعیت سلولی و تولید سلول‌های ایمنی می‌باشد ( White et al. 1975). کاهش وزن طحال در گروه تغذیه شده با جیره‌های کنترل منفی ممکن است به دلیل کاهش دسترسی پرنده به کلسیم کافی برای پاسخ‌های ایمنی مناسب باشد که این عدم دسترسی موجب کاهش جمعیت سلول‌های ایمنی و در نتیجه کاهش وزن این اندام شده است. Cantorna و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که میزان و قابلیت دسترسی کلسیم جیره از فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر پاسخ ایمنی و در نتیجه وزن طحال است. استفاده از سطوح بالای کلسیتریول توسط Chou و همکاران در سال ۲۰۰۹ منجر به افزایش طول پرزهای دئودنوم در ۲۱ و ۲۸ روزگی و پرزهای ژژونوم در ۱۴ و ۲۸ روزگی گردید. آن‌ها از سطوح ۳۴/۵ و ۶۹ میکروگرم در هر کیلوگرم جیره‌ی جوجه‌های گوشتی مازاد بر سطح ویتامین $D_3$ جیره (IU/kg 3000) استفاده کردند که ۷۰ تا ۱۴۰ برابر بیش‌تر از سطح مورد استفاده در این آزمایش است. Spielvogel و همکاران در سال ۱۹۷۲ با تزریق میزان‌های فیزیولوژیک کوله‌ی کلسیفرول، افزایش ۳۰ درصدی طول پرزهای روده در جوجه را مشاهده کردند. با توجه به گزارش‌های پیشین مبنی بر استفاده از کلسیتریول در جیره‌ی طیور، به نظر می‌رسد در این آزمایش‌ها سطوح کلسیتریول مکمل شده به عنوان مکمل مازاد بر احتیاجات ویتامین D جیره، کم‌تر از سطوح مورد نیاز برای تغییر در بافت روده‌ی کوچک به خصوص پارامترهای هضمی از قبیل طول پرزها باشد. اثر متقابل میان پنیر باد و کلسیتریول بر نسبت طول پرز به عمق کریپت نشان داد مکمل‌سازی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پنیر باد، در سطح ثابت ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول و صرف نظر از سطح کلسیم جیره موجب افزایش معنی-دار نسبت طول پرز به عمق کریپت در مقایسه با جیره‌ی فاقد پنیر باد می‌گردد (۵/۰۹۲ و ۵/۰۵۲ در مقابل ۳/۷۸۱). عمق کریپت در روده به خصوص در ژژنوم شاخصه‌ای از بلوغ و ظرفیت هضمی روده می‌باشد لذا بهبود ظرفیت روده و دستگاه گوارش موردی مهم در عملکرد جوجه-های گوشتی است (Uni and Ferket 2004). در فرآیند



www.SID.ir

Archive of SID



تکامل روده، توسعه کریپت مرحله‌ای مهم می‌باشد (Uni et al. 2000). نسبت طول پرز به عمق کریپت نیز شاخصی مفید برای تخمین ظرفیت هضمی روده‌ی کوچک است (Montagne et al. 2003). کاهش در نسبت طول پرز به عمق کریپت تأثیر منفی قابل ملاحظه‌ای در هضم و جذب دارد (Kelly et al. 1991). پوترسین از پلی‌آمین‌های مهم در تکثیر و تمایز سلول است که در سلول‌های پرز عمدتاً از اسپرمیدین تشکیل می‌شود. سرعت تخریب و بازسازی سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال روده بسیار بالا است. در سلول‌های کریپت پلی آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) به طور متوالی از اورنیتین ساخته می‌شوند که آنزیم‌های کاتالیز کننده‌ی این واکنش‌ها اورنیتین دکربوکسیلاز و اسپرمیدین ان استیل ترانسفراز در غشای مخاطی پرز است (Shinki et al. 1985). مطالعات اندکی به اثرات سمی سطوح بالای عصاره‌ی پنیر باد و مکانیزم‌های آن پرداخته‌اند. با این وجود مکمل‌سازی ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره‌ی هیدروالکلی پنیر باد موجب بروز اثرات تخریبی در پرزها گردید. ارتباط اثرات نامطلوب مکمل‌سازی ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره‌ی هیدروالکلی پنیر باد با آنزیم‌های کاتالیز کننده‌ی پوترسین از جمله اورنیتین دکربوکسیلاز و اسپرمیدین ان استیل ترانسفراز، به آزمایش‌های کامل و دقیق‌تری نیاز دارد.

کاهش سطح کلسیم جیره و مکمل‌سازی عصاره‌ی پنیرباد و کلسیتریول اثر قابل ملاحظه‌ای بر عیار آنتی‌بادی ضد SRBC و همچنین پاسخ ایمنی سلولی نداشتند اما جیره‌ی کنترل منفی موجب کاهش وزن نسبی طحال در مقایسه با جیره‌ی کنترل مثبت و مکمل‌سازی عصاره‌ی پنیرباد در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منجر به افزایش معنی‌دار وزن تیموس گردید. به نظر می‌رسد در این آزمایش‌ها سطوح کلسیتریول مکمل شده به عنوان مکمل مازاد بر احتیاجات ویتامین D جیره، کم‌تر از سطوح مورد نیاز برای تغییر در بافت روده‌ی کوچک به خصوص پارامترهای هضمی از قبیل طول پرزها باشد.

## منابع


Aslam, S.M.; Garlich, J.D. and Qureshi, M.A. (1998). Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. Poultry Science, 77(6): 842-849.

Beal, R.K.; Wigley P.; Powers, C.; Hulme, S.D.; Barrow, P.A. and Smith, A.L. (2004). Age at primary infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken influences persistence of infection and subsequent immunity to re-challenge. Veterinary Immunology and Immunopathology, 100: 151-164.

Berridge, M.J.; Bootman, M.D. and Roderick, H.L. (2003). Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 4: 517-529.

Boa-Amponsem, K.; Price, S.E.H.; Dunnington, E.A. and Siegel, P.B. (2001). Effect of route of inoculation on humoral immune response of white leghorn chickens selected for high or low antibody response to sheep red blood cells. Journal of Poultry Science, 80:1073-1078.

Cantorna, M.T.; Zhu, Y.; Froicu, M. and Wittke, A. (2004). Vitamin D status, 1, 25-dihydroxyvitamin $D_3$, and the immune system. The American Journal of Clinical Nutrition, 80 (6 Suppl): 1717S-1720S.

Chou, S.H.; Chung, T.K. and Yu, B. (2009). Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broiler chickens. Poultry Science, 88: 2333-2341.

Davis, L. and Kuttan, G. (1998). Suppressive effect of cyclophosphamide-induced toxicity by *Withania somnifera* extract in mice. Journal of Ethno pharmacology, 62: 209-214.

Eerola, E.; Veromaa, T. and Toivanen, P. (1987). Special features in the structural organization of the avian lymphoid system. Avian Immunology: Basis and Practice. A.Toivanen and P. Toivanen, ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, P: 9-22.

Feske, S. (2007). Calcium signalling in lymphocyte activation and disease. Nature Reviews. Immunology, 7: 690-702.




www.SID.ir

Archive of SID



Jaiswal, D.; Rai, P.K. and Watal, G. (2009). Antidiabetic effect of *Withania coagulans* in experimental rats. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 24 (1): 88-93.

Kelly, D.; Smyth, J.A. and McCracken, K.J. (1991). Digestive development of the early-weaned pig. 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the 1st week postweaning. British Journal of Nutrition. 65: 169-180.

Kenney, A.D. (1976). Vitamin D metabolism: Physiological regulation in egg-laying Japanese quail. American Journal of Physiology, 230: 1606-1616.

Khodaei, M.; Jafari, M. and Noori, M. (2012). Remedial use of withanolides from *withania coagolans* (Stocks) dunal. Advances in Life Sciences, 2(1): 6-19.

Kimura, K.; Goff, J.P. and Kehrli, M.E., Jr. (1999). Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 82: 2385-2392.

McCrady, C.W.; Ely, C.M.; Westin, E. and Carchman, R.A. (1988). Coordination and reversibility of signals for proliferative activation and interleukin-2 mRNA production in resting human T lymphocytes by phorbol ester and calcium ionophore. The Journal of Biological Chemistry, 263: 37-44.

Mesaik, M.A.; Haq, Zu.; Murad, S.; Ismail, Z.; Abdullah, N.R.; Gill, H.K. et al. (2006). Biological and molecular docking studies on coagulin-H, Human IL-2 novel natural inhibitor. Molecular Immunology, 43: 1855-1863.

Montagne, L.; Pluske, J.R. and Hampson, D.J. (2003). A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. Animal Feed Science and Technology, 108: 95-117.

Nagareddy, P.R. and Lakshmana, M. (2006). *Withania somnifera* improves bone calcification in calcium-deficient ovariectomized rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 58: 513-519.

Negulescu, P.A.; Shastri, N. and Cahalan, M.D. (1994). Intracellular calcium dependence of gene expression in single T lymphocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 91 (7): 2873-2877.

Prasad, S.K.; Kumar, R.; Patel, D.K. and Hemalatha, S. (2010). Wound healing activity of *Withania coagulans* in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmaceutical Biology, 48: 1397-1404.

Reddy, G.S. and Tserng, K.Y. (1989). Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin $D_3$ through C-24 oxidation pathway. Biochemistry, 28: 1763-1769.

Satoh, E.; Edamatsu, H. and Omata, Y. (2006). Acute restraint stress enhances calcium mobilization and proliferative response in splenic lymphocytes from mice. Stress, 9: 223-230.

Sei, Y.; McIntyre, T.; Skolnick, P. and Arora, P.K. (1991). Stress modulates calcium mobilization in immune cells. Life Science, 49: 671-676.

Shinki, T.; Tanaka, H.; Takito, J.; Yamaguchi, A.; Nakamura, Y.; Yoshiki, S. and Suda, T. (1991). Putrescine is involved in the vitamin D action in chick intestine. Gastroenterology, 100: 113-122.

Shinki, T.; Takahashi, N.; Kadofuku, T.; Sato, T. and Suda T. (1985). Induction of spermidine N1-acetyltransferase by 1α, 25-dihydroxyvitamin $D_3$ as an early common event in the target tissues of vitamin D. The Journal of Biological Chemistry, 260: 2185-2190.

Shohat, B.; Kirson, I. and Lavie, D. (1978). Immunosuppressive activity of two plant steroidal lactones withaferin A and wi-thanolide E. Biomedicine, 28: 18-24.

Soares, J.H.Jr. (1984). Calcium metabolism and its control-a review. Poultry Science, 63: 2075-2083.

Spielvogel, A.M.; Farley, R.D. and Norman, A.W. (1972). Studies on the mechanism of action of calciferol. V. Turnover time of chick intestinal epithelial cells in relation to the intestinal action of vitamin D. Experimental Cell Research, 74: 359-366.

Thompson D.L.; Elgert K.D.; Gros, W.B. and Siegel, P.B. (1980). Cell mediated immunity in marek's disease virus infected chickens genetically selection for high and low concentrations of plasma corticostrone. American Journal of Veterinary Research. 41: 91-96.

Toivanen, P.; Naukkarinen, A. and Vainio, O. (1987). What is the function of bursa of Faricius, in: Avian Immunology: Basis and Practice. A. Toivanen and P. Toivanen, ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. Pages, 79–100.



www.SID.ir

Archive of SID



Uni, Z. and Ferket, P.R. (2004). Methods for early nutrition and their potential. World Poultry Science Journal, 60: 101-111.

Uni, Z.; Geyra, A.; Ben-Hur, H. and Sklan, D. (2000). Small intestinal development in the young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration. British Poultry Science, 41(5): 544-551.

White, R.G.; Henderson, D.C.; Eslami, M.B. and Neilsen, K. H. (1975). Localization of a protein antigen in the chicken spleen. Effect of various manipulative procedures on the morphogenesis of the germinal centre. Immunology, 28: 1-21.

Yamauchi, K.; Buwjoom, T.; Koge, K. and Ebashi, T. (2006). Histological alterations of the intestinal villi and epithelial cells in chickens fed dietary sugar cane extract. British Poultry Science, 47: 544-553.



www.SID.ir

Archive of SID

Vol. 12, No. 2, Summer, 2016

# The effects of dietary 1, 25-dihydroxycholecalciferol (calcitriol) and root hydroalcoholic extract of *Withania Coagulans* on immune response and small intestinal morphology of broiler chickens

Hosseini, S.J.[1]; Mirakzehi, M.T.[2] and Saleh, H.[2]

Received: 13.05.2015 Accepted: 30.12.2015

**Abstract**

This study was carried out to investigate the effects of 1, 25-dihydroxycholecalciferol (1, 25 $(OH)_2$ $D_3$) (calcitriol) and fruit hydroalcoholic extract of *Withania coagulans* (WC) on immune response and small intestinal morphology of broiler chickens. Treatments were arranged factorially (2×3×2) consisted of a positive control with adequate Ca and a negative control diet (Ca level reduced by 30%), three levels of WC (0, 100 and 200 mg/kg diet), and two levels of 1, 25 $(OH)_2$ $D_3$ (0 and 0.5 µg/kg diet). Six hundred male day old Ross 308 broiler chicks were randomly distributed into 60 floor pens, 10 birds each. Each treatment was replicated 5 times (50 birds). Each diet was fed *ad libitum* to chicks from day one to 42 d of age. Sheep red blood cells (SRBC) test was used as measure of humoral immunity. So, at 25 and 32 days of age chicks were injected to evaluate the primary and secondary antibody response. At 37 days of age, the cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) test was used to evaluate cell-mediated immune response. On d 21 and 42, one bird per replicate was killed to determine small intestinal morphology and lymphoid organ weights. The results of humoral immune response showed that reduction of dietary Ca level by 30% and supplementation of WC did not significantly influence total antibody levels. The CBH response showed that supplementation of WC and calcitriol had no significant effect on interdigital skin thickness. At 42 d of age, the weight of spleen significantly reduced by feeding of negative control diet. Also, supplementation of WC at 200 mg/kg significantly increased the weight of thymus at this age. It was found that supplementation of WC at 200 mg/kg resulted in shorter villus length at 42 d of age. It seemed that level of calcitriol which used in current experiment is lower than those required for alteration of intestine morphological and immunological parameters.

**Key words**: Calcitriol, *Withania coagulans*, Immune response, Intestine morphology, Broiler chickens

1- PhD Graduated of Poultry Nutrition, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Higher Educational Complex of Saravan, Iran
**Corresponding Author:** Mirakzehi, M.T., E-mail: mt_mirakzehi@yahoo.com



www.SID.ir