Archive of SID

**Iranian Journal of Animal Science**
Vol 50, No 1, Spring 2019 (57-68)
DOI: 10.22059/ijas.2019.277963.653691

**علوم دامی ایران**
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۸ (ص ۶۸-۵۷)

# ارزیابی فراسنجه‌های عملکرد، وزن اندام‌های داخلی و برخی پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی از طریق مکمل‌سازی سولفات‌آهن در دوره‌های مختلف تغذیه‌ای

**محمدعلی بهروزلک[۱]، محسن دانشیار[۲*]، پرویز فرهومند[۳] و عباس نیکو[۴]**
۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۴. استادیار، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۳۱)

## چکیده

یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ با استفاده از ۴۵۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یکروزه برای تاثیر سطوح مختلف آهن (صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع سولفات آهن برای ۳ دوره تغذیه‌ای شامل کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، دوره‌های رشد و پایانی (سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی) و دوره پایانی (سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی) بر عملکرد، وزن اندام‌های داخلی بدن و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی با استفاده از ۴۵۰ قطعه جوجه یک‌روزه در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ انجام شد. نتایج نشان دادند که ۸۰ میلی‌گرم سولفات آهن در هر کیلوگرم جیره، مصرف خوراک روزانه جوجه‌های گوشتی را در کل دوره پرورش بطور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵). افزودن ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات آهن در جیره، وزن نسبی تهی‌روده، ایلئوم و کل روده را کاهش داد (P<۰/۰۵). وزن نسبی غده بورس فابریسیوس جوجه‌های تغذیه شده با ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل سولفات آهن در دوره پایانی در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵). در دوره پایانی، اثرات مثبتی بر درصد مونوسیت‌های خون جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل سولفات آهن در مقایسه با کل دوره مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین استفاده از ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از مکمل سولفات آهن، درصد لنفوسیت‌های خون جوجه‌ها را بطور خطی (P<۰/۰۱) افزایش داد. به طور کلی، بر اساس نتایج این آزمایش بنظر می‌رسد که مصرف ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل سولفات آهن، با کاهش وزن روده باریک باعث بهبود کیفیت لاشه می‌گردد و اثرات مفیدی بر پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی بخصوص در دوره پایانی دارد.

**واژه‌های کلیدی:** دوره رشد، رشد، روده کوچک، مصرف خوراک، مونوسیت.

# Evaluation of performance parameters, internal organ weights and some immune responses of broiler chicks through iron sulfate supplementation during different feeding periods

**Mohammad Ali Behroozlak[1], Mohsen Daneshyar[2*], Parviz Farhoomand[3] and Abbas Nikoo[4]**
1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Associate Professor and Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4. Assistant Professor, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran
(Received: Apr. 7, 2019 - Accepted: Jun 21, 2019)

## ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effect of different levels of iron (0, 40, and 80 mg/kg) with iron sulfate source ($FeSO_4$) on performance, internal organ weights and immune response of boiler chicks in periods of whole production (w: 1-42 days of age), grower and finisher (GF: 11-42 day of age) and finisher (F: 25-42 day of age) using a 3×3 factorial experiment. The results showed that the utilization of 80 mg/kg $FeSO_4$ significantly (P<0.05) decreased daily feed intake of broilers during T period. The addition of 40 mg/kg $FeSO_4$ into the diet significantly decreased the relative weights of jejunum, ileum and whole intestine (P<0.05). The relative weight of bursa of Fabricius was higher in chicks fed 40 mg/kg $FeSO_4$ supplement in F period as compared to birds fed control diet (P<0.05). The positive effects was observed on blood monocytes in chicks fed diet containing $FeSO_4$ supplement during F period compared to T period (P<0.05). Furthermore, the inclusion of 40 and 80 mg $FeSO_4$/kg diet linearly (P<0.01) increased blood lymphocytes percentage of broilers. According to the results of this experiment, it seems that the utilization of 40 and 80 mg/kg $FeSO_4$ can improve carcass quality by reduction of small intestine weight and have beneficial effects on immunological responses of broiler chicks especially during F period.

**Keywords:** Carcass, feed intake, growing period, monocytes, small intestine.

* Corresponding author E-mail: daneshyar_mohsen@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

آهن یک عنصر معدنی ضروری برای سلامت حیوانات اهلی و انسان است. به‌طور کلی جیره‌های غذایی عمدتاً بر پایه گیاهی و به خصوص غلات، بیشترین خطر پیشرفت فقر آهن و روی را به همراه دارند و این کمبود می‌تواند حتی در میان جمعیت بسیاری از کشورهای فقیر، درحال توسعه و حتی صنعتی نیز گسترش یابد. برآورد شده است که در حدود نیمی از جمعیت جهان با وجود پیشرفت‌های اقتصادی و علمی، دچار فقر آهن و روی هستند (King & Turnlund, 1989; Carpenter & Mahoney, 1992). کمبود آهن یکی از شایع‌ترین کمبودهای تغذیه‌ای در جهان است که حدود ۲۰ درصد از مردم جهان را تحت تأثیر قرار داده است به‌طوریکه کمبود این عنصر در کشورهای کمتر توسعه یافته (۲۰ تا ۵۰ درصد مردم) بیشتر از کشورهای صنعتی و توسعه یافته (۲ تا ۲۸ درصد مردم) شایع است (Martinez-Navarrete *et al.*, 2002). این عنصر برای رشد جوجه گوشتی لازم بوده و در سوخت‌وساز انرژی، سنتز ناقلین عصبی، فعالیت ضد میکروبی عوامل بیگانه خوار و همچنین سنتز DNA، کلاژن و اسیدهای صفراوی نقش دارد (Kwiecien *et al.*, 2015). با این حال، آهن می‌تواند باعث تشکیل رادیکال‌های آزاد در بدن شود، بنابراین غلظت این عنصر باید در بدن به‌طور دقیق تنظیم گردد چرا که مقادیر زیاد آن می تواند منجر به آسیب بافتی شود (Abbaspour *et al.*, 2014).

احتیاجات آهن جوجه‌های گوشتی طبق توصیه NRC (1994)، ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده است. با وجود این‌که جیره‌های تجاری بر پایه کنجاله سویا و ذرت حاوی بیش از ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آهن هستند؛ اما وجود مواد ضدتغذیه‌ای از جمله فیتات‌ها و پلی فنل‌ها در جیره‌های تجاری طیور با اثر آنتاگونیستی شدیدی که بر جذب آهن (به ویژه در سطوح پایین) دارند، می‌توانند قابلیت دسترسی آهن جیره را کاهش دهند (Teucher *et al.*, 2004; Bess *et al.*, 2012). عنصر آهن در بسیاری از فرآیندهای سوخت‌وسازی اصلی تمام موجودات زنده از جمله انتقال و ذخیره اکسیژن و انتقال الکترون شرکت داشته و به‌عنوان کوفاکتور بسیاری از فرآیندهای آنزیمی و غیرآنزیمی حیاتی بدن، نقش دارد (Buzala *et al.*, 2016). به‌دلیل توانایی منحصربه‌فرد آهن در عمل اکسیداسیون و احیای الکترون، این عنصر به‌عنوان یک عنصر ضروری و غیر قابل جایگزین برای حیات بشری شناخته می‌شود (Oliveira *et al.*, 2014). همچنین سلول‌های ایمنی نیز همانند سایر سلول‌های بدن نیازمند مقادیر کافی از عناصر کمیاب به‌منظور ساخت و عملکرد متالوپروتئین‌های دخیل در فرآیندهای مهم بدن از جمله تولید انرژی (به‌عنوان مثال حضور عنصر آهن در تولید آنزیم‌های سیتوکروم‌های a، b و c، NADH) و محافظت از سلول در برابر گونه‌های واکنش‌پذیر بسیار سمی اکسیژن (به‌عنوان مثال حضور عنصر آهن در آنزیم کاتالاز) و حفظ فعالیت آنزیم‌های دخیل در فرآیندهای دفاعی بدن می‌باشند (Lieu *et al.*, 2001; Buzala *et al.*, 2016). بهترین نمونه از نقش عناصر کمیاب در سیستم ایمنی، نیاز به آهن هم به‌منظور تولید هیپوکلروس اسید[1] وابسته به آنزیم میلوپروکسیداز است که به‌عنوان عامل از بین برنده میکروب‌ها شناخته می‌شود (Hampton *et al.*, 1998). یافته‌ها نشان داده‌اند که کاهش تکثیر سلول‌های تیموس در موش‌های دچار کمبود آهن احتمالاً منجر به تحلیل بافت تیموس می‌گردد (Munoz *et al.*, 2007). همچنین مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کمبود آهن شمار لنفوسیت‌های محیطی خون از جمله لنفوسیت‌های T کمکی[2] (Th مولکول اختصاصی $CD4^+$ را دارد)، T سایتوتوکسیک[3] (Tc مولکول اختصاصی $CD8^+$ را دارد) و T مهارکننده[4] که به قابلیت دسترسی آهن بسیار حساس هستند را کاهش می‌دهد (Kemp, 1993; Mullick *et al.*, 2006). همچنین Kuvibidila & Warrier (2004) نشان دادند که کمبود آهن در موش‌ها باعث ناهماهنگی در سایتوکین‌های مترشحه از لنفوسیت‌های $Th_1$ (دخیل

1. HCLO
2. Th (T-helper)
3. Tc (T-cytotoxic)
4. Treg (T- suppressor)

www.SID.ir

Archive of SID



در ایمنی سلولی) و $Th_2$ (دخیل در ایمنی خونی) گردید، به‌طوریکه عدم تأمین مقدار کافی آهن در جیره منجر به کاهش سطوح سرمی برخی سایتوکین‌ها از جمله اینترفرون-گاما[1]، اینترلوکین-۱۲[2] و اینترلوکین-۱۰ شد و با تأمین مقدار کافی آهن جیره شرایط به حالت طبیعی بازگشت. در مطالعه دیگری، Jarosz *et al.* (2016) گزارش کردند که استفاده از مکمل معدنی آهن به تنهایی و یا در ترکیب با آنزیم فیتاز در سطح ۲۵ درصد احتیاجات آهن جوجه‌های گوشتی تأثیری بر لنفوسیت‌های T اندازه گیری شده در خون شامل $CD4^+$، $CD8^+$، $CD25^+$، نسبت $CD4^+/CD8^+$ و همچنین سطح سرمی اینترلوکین-۲ نداشت.

مطالعات مختلفی در مورد تأثیر ریزمغذی‌ها از جمله مکمل‌های افزودنی عناصر کمیاب در مورد جوجه‌های گوشتی انجام شده است با این حال، یافته‌ها در مورد تأثیر مکمل‌های عنصر آهن در جیره جوجه‌های گوشتی به‌ویژه بر وزن اندام‌های داخلی و پاسخ‌های ایمونولوژیکی جوجه‌ها بسیار محدود است. بنابراین هدف اصلی از این تحقیق، بررسی اثرات سطوح مختلف مکمل سولفات آهن بر عملکرد، وزن اندام‌های داخلی و برخی پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی در ۳ دوره تغذیه‌ای شامل کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، دوره‌های رشد و پایانی (سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی) و دوره پایانی (سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی) بود.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در مهرماه سال ۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی بخش طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. مطالعه حاضر با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از ۴۵۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یکروزه سویه راس-۳۰۸ با ۹ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل یک جیره فاقد مکمل آهن (به‌عنوان تیمار شاهد منفی) و ۲ جیره با سطوح ۵۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات آهن جوجه‌های گوشتی (به‌ترتیب ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌عنوان تیمارهای شاهد مثبت) از منبع سولفات آهن برای ۳ دوره تغذیه‌ای شامل کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، دوره‌های رشد و پایانی (سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی) و دوره پایانی (سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی) بودند. جیره‌های آزمایشی برای ۳ دوره آغازین (صفر تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) آماده‌سازی شدند و احتیاجات مواد مغذی جوجه‌های گوشتی مطابق احتیاجات سویه راس-۳۰۸ (Aviagen, 2014)، تأمین گردید. جدول ۱ ترکیب جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در مطالعه حاضر را نشان می‌دهد. ترکیب مواد مغذی اقلام خوراکی مورد استفاده در آزمایش حاضر شامل ذرت و کنجاله سویا، در آزمایشگاه تعیین و جیره‌نویسی با استفاده از نرم-افزار UFFDA (Pesti & Miller, 1992) انجام شد. منبع آهن معدنی مورد استفاده در این آزمایش سولفات آهن معدنی ۷ آبه ($FeSO_4.7H_2O$) تولید شرکت مرک آلمان (Merck Company, Germany) بود که در دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره به‌صورت پیش مخلوط به جیره پایه مصرفی اضافه گردید. در آزمایش حاضر، جیره پایه (با آهن اندازه‌گیری‌شده در جدول ۱) و همچنین پیش‌مخلوط معدنی اضافه شده به جیره پایه (۷۵ میلی‌گرم سولفات آهن)، خود حاوی مقادیر مشخصی از آهن بودند و مکمل معدنی آهن در ۲ سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌عنوان گروه‌های آزمایشی شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. جوجه‌ها در تمام مدت آزمایش در جایگاه‌های بستری (پن) جداگانه با ابعاد ۱×۱ تحت شرایط یکسان نگهداری شدند. میانگین وزن اولیه و وزن نهایی جوجه‌ها به‌ترتیب ۳۸ و ۲۲۰۵ گرم بودند و آزمایش به‌مدت ۴۲ روز به طول انجامید. آب و خوراک در تمام مدت آزمایش آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد. نوردهی در تمام طول مدت آزمایش به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی در شبانه روز بود. درجه حرارت سالن در هفته اول، ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود و بعد از آن هر هفته تا رسیدن به دمای ۲۲ درجه، ۳ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یافت.

1. Interferon gamma (IFN$\gamma$)
2. Interleukin (IL)

www.SID.ir

Archive of SID



**ارزیابی فراسنجه‌های عملکرد**

در پایان هر دوره، مقادیر وزن زنده بدن، میانگین مصرف خوراک، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک هر پن اندازه‌گیری و نتایج بر اساس کل دوره آزمایش از سن ۱ تا ۴۲ روزگی، گزارش شد.

**اندازه‌گیری وزن اندام‌های داخلی و وزن اندام‌های لنفاوی بدن**

به‌منظور تعیین وزن اندام‌های داخلی بدن، در روز ۴۲ آزمایش ۵ پرنده از هر تیمار (یک پرنده از هر تکرار) بر اساس میانگین وزن هر پن انتخاب، توزین و کشتار شد و اوزان کبد، سنگدان، قلب، لوزالمعده، روده کوچک و اجزای آن شامل دوازدهه، تهی‌روده و ایلئوم و همچنین وزن اندام‌های لنفاوی شامل تیموس، طحال و غده بورس فابریسیوس با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. سپس با تقسیم وزن اندام‌های داخلی بر وزن زنده، وزن نسبی آنها محاسبه گردید. همچنین به‌منظور حداقل کردن اثر وزن محتویات دستگاه گوارش و خالی ماندن آن، حدود ۸ ساعت قبل از کشتار به جوجه‌ها گرسنگی داده شد.

جدول ۱. اقلام خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and nutrients composition of experimental diets

| Ingredients (%) | Starter (days 1–10) | Grower (days 11–24) | Finisher (days 25–42) |
|---|---|---|---|
| Corn | 51.45 | 54.97 | 59.90 |
| Soybean meal (44% CP) | 41.42 | 37.60 | 32.44 |
| Soybean oil | 1.92 | 2.68 | 3.14 |
| Fatty acid | 0.7 | 0.7 | 0.7 |
| Limestone | 0.92 | 0.92 | 0.85 |
| Dicalcium phosphate (DCP) | 1.95 | 1.60 | 1.45 |
| Vitamin-mineral premix[1] | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| L-lysine HCL | 0.21 | 0.15 | 0.15 |
| DL-methionine | 0.27 | 0.22 | 0.21 |
| L-Threonine | 0.09 | 0.09 | 0.09 |
| Salt (NaCl) | 0.18 | 0.18 | 0.20 |
| Sodium bicarbonate | 0.10 | 0.10 | 0.08 |
| Vitamin E | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| Phytase | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| Sand[2] | 0.18 | 0.18 | 0.18 |
| Total | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| Calculated composition | | | |
| ME (kcal/kg) | 2910 | 3010 | 3100 |
| CP, % | 22.31 | 20.86 | 18.92 |
| Ether extract, % | 4.91 | 5.77 | 6.38 |
| Calcium, % | 0.93 | 0.84 | 0.77 |
| Available P, % | 0.47 | 0.41 | 0.38 |
| Sodium, % | 0.15 | 0.14 | 0.15 |
| Potassium, % | 1.03 | 0.96 | 0.88 |
| Chlorine, % | 0.20 | 0.18 | 0.20 |
| Fe, mg/kg[3] | 85.40 | 83.72 | 84.37 |
| Lysine, % | 1.40 | 1.26 | 1.13 |
| Methionine + Cysteine, % | 0.90 | 0.82 | 0.77 |
| Methionine, % | 0.58 | 0.51 | 0.48 |
| Threonine, % | 0.94 | 0.88 | 0.80 |
| DCAB (meq/kg) | 270.62 | 257.59 | 233.53 |

۱. مکمل ویتامینی و مواد معدنی مقادیر زیر را به ازای هر کیلوگرم جیره تامین می‌کرد: ویتامین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۱ واحد بین‌المللی؛ ویتامین $K_3$، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین $B_{12}$، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۸ میلی گرم ؛کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم؛ بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم

۲. ماسه بادی به‌عنوان پر کننده به جیره‌های آزمایشی اضافه شد.

۳ مقدار آهن آنالیز شده با استفاده از دستگاه جذب اتمی.

1. Vitamin and mineral premix provided per kg of diet: vitamin A (retinol), 8800 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 2500 IU; vitamin E (dl-α- tocopheryl acetate), 11 IU; vitamin $K_3$ (menadione), 2.2 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 2.5 mg; vitamin B12 (cyanocobalamin), 0.01 mg; vitamin $B_3$ (niacin), 35 mg; vitamin $B_5$ (pantothenic acid), 8 mg; vitamin $B_9$ (folic acid), 0.5 mg; Choline chloride: 400 mg; Betaine, 190 mg; Zn (zinc oxide) 65 mg; Mn (manganese sulfate), 75 mg; Se (sodium selenite) 0.2 mg; Iodine (calcium iodate) 0.9 mg; Cu (copper sulfate) 6 mg and Fe (iron sulfate) 75 mg.

2. Builders' sand as a filler was added to experimental diets.

3. Fe value was analyzed by flame atomic absorption spectrophotometry.

www.SID.ir

Archive of SID



**اندازه‌گیری میزان آهن موجود در خوراک مصرفی**

به‌منظور تعیین میزان آهن موجود در خوراک مصرفی، ۱ گرم از هر نمونه در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی به‌طور تصادفی برداشت و نمونه‌ها در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس به‌مدت ۱۰ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد، به خاکستر تبدیل شدند. نمونه‌های خاکستر حاصل در مخلوط یک به یک نیتریک اسید و پرکلریک اسید هضم شده و به‌منظور آنالیز مواد معدنی با استفاده از آب دی‌یونیزه رقیق شدند (Kwiecien *et al.*, 2015). محلول نمونه‌ای که غلظت آهن آن بالا باشد، پس از هضم اثرات مضری هم بر نتایج و هم بر دستگاه خواهد داشت. بنابراین مهم است که محلول تا جایی‌که ممکن است رقیق شود و محلول استاندارد و محلول نمونه از غلظت یکسانی برخوردار باشند. در این صورت، آهن جیره را می‌توان بر اساس یک قاعده کلی با استفاده از یک منحنی استاندارد، اندازه‌گیری کرد. اندازه‌گیری میزان آهن موجود در خوراک با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (AA-6300; Shimadzu, Tokyo, Japan) در طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر انجام شد.

**اندازه‌گیری فراسنجه‌های ایمنولوژیکی خون**

به‌منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های ایمنولوژیکی خون جوجه‌ها، در سن ۴۲ روزگی، عمل خونگیری از ورید بال انجام و نمونه‌های خون داخل شیشه‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شدند و جهت بررسی تعداد گلبول‌های سفید خون، مورد استفاده گرفتند. شمارش تعداد گلبول‌های سفید خون با استفاده از محلول نات- هریک[1] با استفاده از روش هموسیتومتر انجام شد. به این منظور، ابتدا خون حاوی ماده ضدانعقاد توسط ملانژور گلبول سفید با محلول نات- هر یک به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شد. یک قطره از این محلول حاوی گلبول سفید در مرکز لام هماسیتومتر ریخته و عمل شمارش در ۹ مربع بزرگی که در مرکز لام هستند، انجام و در نهایت تعداد گلبول‌های سفید به‌صورت ضریبی از $10^3$ در هر میکرولیتر خون بیان گردید (Campbell, 1995). همچنین شمارش تفریقی اجزای مختلف گلبول‌های سفید خون شامل مونوسیت، لنفوسیت، هتروفیل، نسبت هتروفیل به لنفوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل با استفاده از میکروسکوپ نوری و با درشت نمایی ۱۰۰۰ انجام شد.

**آنالیز آماری**

کلیه داده‌های حاصل از این آزمایش توسط نرم‌افزار SAS ویرایش ۹/۱ (SAS Institute, 2009) با رویه GLM تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها برای هریک از صفات با استفاده از آزمون توکی[2] در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین جهت روند پاسخ تمام متغیرها به سطوح افزایشی جایگزینی سولفات آهن در جیره مقایسات چند جمله‌ای متعامد توسط رویه GLM و نرم‌افزار SAS انجام گرفت. معادله مدل آماری آزمایش به شرح زیرمی‌باشد:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

که در این مدل $y_{ijk}$، مقدار هر مشاهده؛ $\mu$، میانگین جمعیت؛ $A_i$، اثر سطوح سولفات آهن؛ $B_j$، اثر دوره‌های تغذیه‌ای؛ $AB_{ij}$، اثر متقابل سولفات آهن و دوره تغذیه و $e_{ijk}$، اثر خطای آزمایشی و عوامل تصادفی باقیمانده هستند.

## نتایج و بحث

**فراسنجه‌های عملکرد**

نتایج مربوط به صفات عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است. مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی طی دوره ۱ تا ۴۲ روزگی تحت تأثیر هیچ یک از اثرات اصلی تغذیه سطوح مختلف سولفات آهن و دوره تغذیه قرار نگرفت ($P>0/05$) ولی اثر متقابل بین دوره تغذیه و سطوح مختلف آهن معدنی در مورد متوسط مصرف خوراک روزانه اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/001$)؛ به‌طوریکه مصرف ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سولفات آهن در کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، متوسط مصرف خوراک روزانه جوجه‌های گوشتی را کاهش داد ولی این اثر در

1. Natt-Herrich Solution

2. Tukey's test

www.SID.ir

Archive of SID



دوره‌های رشد و پایانی (سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی) و در دوره پایانی (سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی)، مشاهده نگردید. هیچ یک از اثرات اصلی شامل تغذیه با سطوح مختلف سولفات آهن و دوره‌های تغذیه‌ای و اثر متقابل بین آنها بر مقادیر میانگین افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک و همچنین وزن نهایی جوجه‌های گوشتی طی دوره ۱ تا ۴۲ روزگی تأثیرگذار نبودند (P>۰/۰۵). مطابق با نتایج این آزمایش، Mrkaljevic (2014) هیچ تأثیر معنی‌داری از افزودن سطوح بالاتر سولفات آهن (۱۴۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی مشاهده نکرد. به‌نظر می‌رسد سطوح بالاتر آهن افزودنی به جیره نسبت به سطح توصیه‌شده در NRC (1994) باعث بهبود عملکرد تولیدی پرنده نمی‌شوند چرا که آهن مصرفی به میزان محدودی می‌تواند جذب شود و باقیمانده آهن مصرفی، در نهایت از بدن دفع خواهد شد. برخلاف نتایج حاضر، Vahl London & Klooster (1987) نشان دادند که مکمل‌سازی ۲۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آهن، عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشید؛ در حالی که سطوح بالاتر آهن جیره از منبع سولفات آهن (بالاتر از ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، عملکرد را کاهش دادند. در مطالعه دیگری، Shinde *et al.* (2011) نشان دادند که مکمل‌سازی ۸۰ میلی‌گرم آهن از منابع معدنی و آلی به میزان یکسانی در بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی، مؤثر بودند. احتیاجات تغذیه‌ای آهن در جوجه‌های گوشتی بر طبق گزارش‌های قبلی، بین ۴۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Davis *et al.*, 1962; McNaugton & Day, 1979) و در گزارش دیگری ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (NRC, 1994) بیان شده است، درحالی‌که مکمل آهن در سطوح بالاتر از ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌عنوان سطوح سمی شناخته می‌شود (Theil, 2004).

جدول ۲. اثرات سطوح مختلف مکمل سولفات آهن در جیره و دوره‌های تغذیه بر صفات عملکرد جوجه‌های گوشتی از سن ۱ تا ۴۲ روزگی

Table 2. The effects of different levels of dietary $FeSO_4$ supplement and feeding periods on performance of broilers from 1 to 42 days of age

| Factor | Final body weight (g) at 42d | ADWG (g/bird)[1] | ADFI (g/bird)[1] | FCR (g/g)[1] |
|---|---|---|---|---|
| Periods[2] | | | | |
| T | 2173.92 | 52.28 | 96.36 | 1.84 |
| GF | 2207.97 | 53.04 | 97.55 | 1.84 |
| F | 2172.93 | 52.20 | 97.49 | 1.87 |
| Added Fe (mg/kg) | | | | |
| 0 | 2163.22 | 53.05 | 96.54 | 1.82 |
| 40 | 2255.59 | 52.63 | 97.44 | 1.86 |
| 80 | 2136.01 | 51.85 | 97.42 | 1.88 |
| Pooled SEM[3] | 55.49 | 1.06 | 1.71 | 0.03 |
| Period ×Added Fe | | | | |
| T period×0 | 2109.58 | 51.38 | 93.07$^{ab}$ | 1.81 |
| T period×40 | 2281.64 | 56.41 | 106.47$^{a}$ | 1.89 |
| T period×80 | 2130.54 | 49.05 | 89.55$^{b}$ | 1.83 |
| GF periods×0 | 2340.00 | 53.18 | 95.89$^{ab}$ | 1.80 |
| GF periods×40 | 2220.28 | 51.34 | 94.22$^{ab}$ | 1.84 |
| GF periods×80 | 2063.63 | 54.61 | 102.54$^{ab}$ | 1.88 |
| F period×0 | 2040.08 | 54.58 | 100.67$^{ab}$ | 1.85 |
| F period×40 | 2264.85 | 50.13 | 91.63$^{b}$ | 1.84 |
| F period×80 | 2213.86 | 51.88 | 100.15$^{ab}$ | 1.93 |
| Pooled SEM | 96.11 | 1.82 | 2.95 | 0.053 |
| P-value | | | | |
| Period | 0.88 | 0.82 | 0.85 | 0.70 |
| Fe | 0.29 | 0.71 | 0.91 | 0.39 |
| Period × Fe | 0.19 | 0.03 | 0.0003 | 0.72 |
| Type of response | | | | |
| Linear | 0.73 | 0.42 | 0.71 | 0.18 |
| Quadratic | 0.13 | 0.89 | 0.82 | 0.83 |

a,b: در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P < ۰/۰۵).

۱. ADFI: میانگین مصرف خوراک روزانه؛ ADWG: میانگین افزایش وزن روزانه؛ FCR: ضریب تبدیل خوراک.

۲ دوره‌های تغذیه‌ای شامل: T: کل دوره (۴۲ روز، از سن ۱ تا ۴۲ روزگی)؛ GF: دوره‌های رشد و پایانی (۳۲ روز، از سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی)؛ F: دوره پایانی (۱۸ روز، از سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی).

a,b: Means within a column in each section with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

1. ADFI, average daily feed intake; ADWG, average daily weight gain; and FCR, feed conversion ratio.

2. Feeding periods included, T, total period (42d:1-42 days of age); GF, grower and finisher periods (32d: 11-42 days of age); F, finisher period (18d: 25-42 days of age).

www.SID.ir

Archive of SID



اغلب جیره‌های جوجه‌های گوشتی حاوی ذرت و کنجاله سویا، بیش از ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن دارند و با توجه به سرعت رشد بالای جوجه‌های گوشتی، این مقدار توصیه‌شده، ممکن است برای آنها کافی نباشد (Vahl London & Klooster, 1987)، ولی با وجود سرعت رشد بالا در جوجه‌های گوشتی، آنها به ندرت از کم‌خونی ناشی از فقر آهن رنج می‌برند، چرا که اجزای پروتئینی خوراک آنها حاوی مقدار آهن بالایی هستند (Suttle, 2010). بنابراین، مطابق نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر، مقدار آهن تأمین‌شده در جیره به‌منظور دستیابی به عملکرد مطلوب، کافی بود و افزودن ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آهن از منبع سولفات آهن تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های عملکرد پرندگان در این آزمایش نداشت.

**وزن اندام‌های داخلی**

نتایج ارائه‌شده در جدول ۳ نشان می‌دهند که اثر اصلی افزودن سطوح مختلف سولفات آهن به جیره جوجه‌های گوشتی بر اوزان نسبی کل روده کوچک و بخش‌های تهی‌روده و ایلئوم روده کوچک، معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) به‌طوری‌که استفاده از ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل سولفات آهن در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، وزن نسبی کل روده کوچک و وزن نسبی بخش‌های تهی‌روده و ایلئوم را کاهش داد. در مورد وزن نسبی ایلئوم، این اثر معنی‌دار از رابطه درجه دوم تبعیت می‌کرد. کاهش وزن نسبی روده باریک احتمالاً به‌دلیل نازک‌شدن دیواره روده می‌باشد و به‌عنوان مکانیسمی برای بهبود جذب مواد مغذی از دیواره روده و همچنین کاهش نیازهای نگهداری پرنده، شناخته شده است.

جدول ۳. اثرات سطوح مختلف مکمل سولفات آهن در جیره و دوره‌های تغذیه بر وزن اندام‌های داخلی بدن (درصدی از وزن زنده) جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 3. The effects of different levels of diatary $FeSO_4$ supplement and feeding periods on internal organ weights (percent of live weight) of broilers at 42 day of age

| Factor | Liver | Pancreas | Heart | Gizzard | Duodenum | Jejunum | Ileum | Small intestine |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Periods[1] | | | | | | | | |
| T | 2.07 | 0.21 | 0.54 | 1.61 | 0.70 | 2.61 | 1.60 | 4.92 |
| GF | 2.05 | 0.24 | 0.55 | 1.57 | 0.69 | 2.50 | 1.64 | 4.84 |
| F | 1.92 | 0.21 | 0.49 | 1.79 | 0.71 | 2.55 | 1.74 | 5.00 |
| Added Fe (mg/kg) | | | | | | | | |
| 0 | 2.04 | 0.22 | 0.54 | 1.65 | 0.75 | 2.80$^{a}$ | 1.83$^{a}$ | 5.38$^{a}$ |
| 40 | 2.05 | 0.22 | 0.50 | 1.65 | 0.67 | 2.30$^{b}$ | 1.51$^{b}$ | 4.48$^{b}$ |
| 80 | 1.95 | 0.21 | 0.55 | 1.66 | 0.69 | 2.56$^{ab}$ | 1.65$^{ab}$ | 4.90$^{ab}$ |
| Pooled SEM | 0.05 | 0.01 | 0.02 | 0.09 | 0.02 | 0.12 | 0.09 | 0.19 |
| Period ×Added Fe | | | | | | | | |
| T period×0 | 2.02$^{ab}$ | 0.20 | 0.53 | 1.54 | 0.74 | 2.77 | 1.67 | 5.17 |
| T period×40 | 2.30$^{a}$ | 0.22 | 0.53 | 1.59 | 0.66 | 2.34 | 1.44 | 4.44 |
| T period×80 | 1.89$^{ab}$ | 0.21 | 0.56 | 1.71 | 0.72 | 2.74 | 1.70 | 5.15 |
| GF periods×0 | 2.04$^{ab}$ | 0.25 | 0.57 | 1.44 | 0.72 | 2.67 | 1.99 | 5.39 |
| GF periods×40 | 2.00$^{ab}$ | 0.23 | 0.52 | 1.60 | 0.69 | 2.41 | 1.45 | 4.55 |
| GF periods×80 | 2.12$^{ab}$ | 0.22 | 0.60 | 1.66 | 0.68 | 2.41 | 1.49 | 4.57 |
| F period×0 | 2.07$^{ab}$ | 0.21 | 0.54 | 1.99 | 0.79 | 2.96 | 1.84 | 5.59 |
| F period×40 | 1.85$^{b}$ | 0.21 | 0.46 | 1.75 | 0.67 | 2.14 | 1.64 | 4.45 |
| F period×80 | 1.84$^{b}$ | 0.21 | 0.49 | 1.63 | 0.68 | 2.55 | 1.76 | 4.98 |
| Pooled SEM | 0.09 | 0.02 | 0.03 | 0.15 | 0.04 | 0.20 | 0.15 | 0.33 |
| P-value | | | | | | | | |
| Period | 0.09 | 0.15 | 0.08 | 0.17 | 0.89 | 0.78 | 0.52 | 0.82 |
| Fe | 0.31 | 0.95 | 0.15 | 0.99 | 0.07 | 0.02 | 0.05 | 0.007 |
| Period × Fe | 0.02 | 0.76 | 0.52 | 0.35 | 0.73 | 0.58 | 0.48 | 0.71 |
| Type of response | | | | | | | | |
| Linear | 0.21 | 0.83 | 0.66 | 0.94 | 0.09 | 0.16 | 0.15 | 0.08 |
| Quadratic | 0.37 | 0.82 | 0.06 | 0.90 | 0.10 | 0.01 | 0.04 | 0.007 |

a-b: در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند ($P < ۰/۰۵$).

۱. دوره‌های تغذیه‌ای شامل: T: کل دوره (۴۲ روز، از سن ۱ تا ۴۲ روزگی)؛ GF: دوره‌های رشد و پایانی (۳۲ روز، از سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی)؛ F: دوره پایانی (۱۸ روز، از سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی).

a-b: Means within a column in each section with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

1. Feeding periods included: T, total period (42d: 1-42 days of age); GF, grower and finisher periods (32d: 11-42 days of age).

www.SID.ir

Archive of SID



بهبود قابلیت هضم و جذب مواد مغذی منجر به تعادل بهتر جمعیت میکروبی روده و کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود که این امر می‌تواند منجر به بهبود رشد پرنده گردد. به‌علاوه کاهش وزن روده باریک منجر به کاهش وزن نسبی آن شده که این امر می‌تواند یک مزیت اقتصادی مهم تلقی شده و باعث بهبود بازده لاشه گردد (Brenes *et al*., 1993). وزن نسبی سایر بخش‌های دستگاه گوارش و اندام‌های داخلی شامل دوازدهه، لوزالمعده، قلب و سنگدان تحت تأثیر استفاده از سطوح مختلف مکمل سولفات آهن و دوره‌های تغذیه و همچنین اثرات متقابل بین آنها قرار نگرفت (P>۰/۰۵) ولی مصرف ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل سولفات آهن در کل دوره پرورش، وزن نسبی کبد را در مقایسه با مصرف ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم از این مکمل در دوره پایانی، افزایش داد (P<۰/۰۵). احتمالاً با مصرف ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از مکمل معدنی سولفات آهن از ابتدای دوره پرورش، شدت سوخت‌وساز در این بافت، افزایش یافته و موجب افزایش وزن کبد شده است. علاوه بر این، یافته‌ها نشان داده‌اند که بیشترین مقدار عنصر آهن (حدود ۶۰ درصد) در بافت کبد، ذخیره می‌شود و این عنصر حیاتی نقش مهمی در تولید انرژی و سوخت‌وساز اکسیداتیو بدن بر عهده دارد (Buzala *et al*., 2016).

**وزن اندام‌های لنفاوی**

جدول ۴ وزن نسبی اندام‌های لنفاوی را نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، سطوح مختلف مکمل سولفات آهن، دوره‌های تغذیه و همچنین اثرات متقابل آنها، وزن نسبی تیموس را تحت تأثیر قرار ندادند (P>۰/۰۵). همچنین وزن نسبی طحال نیز تحت تأثیر سطوح مختلف مکمل سولفات آهن و دوره‌های تغذیه قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

جدول ۴. اثرات سطوح مختلف مکمل سولفات آهن در جیره و دوره‌های تغذیه بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی (درصدی از وزن زنده) جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 4. The effects of different levels of dietary $FeSO_4$ supplement and feeding periods on lymphoid organ weights (percent of live weight) of broilers at 42 day of age

| Factor | Thymus | Spleen | Bursa of Fabricius |
|---|---|---|---|
| Periods[1] | | | |
| T | 0.551 | 0.110 | 0.203 |
| GF | 0.551 | 0.096 | 0.207 |
| F | 0.559 | 0.090 | 0.211 |
| Added Fe (mg/kg) | | | |
| 0 | 0.541 | 0.097 | 0.203 |
| 40 | 0.524 | 0.098 | 0.214 |
| 80 | 0.597 | 0.100 | 0.204 |
| Pooled SEM | 0.03 | 0.007 | 0.04 |
| Period ×Added Fe | | | |
| T period×0 | 0.592 | 0.110 | $0.194^{b}$ |
| T period×40 | 0.464 | 0.102 | $0.204^{ab}$ |
| T period×80 | 0.598 | 0.118 | $0.210^{ab}$ |
| GF periods×0 | 0.456 | 0.088 | $0.214^{ab}$ |
| GF periods×40 | 0.562 | 0.122 | $0.202^{ab}$ |
| GF periods×80 | 0.636 | 0.080 | $0.204^{ab}$ |
| F period×0 | 0.576 | 0.094 | $0.200^{ab}$ |
| F period×40 | 0.546 | 0.072 | $0.236^{a}$ |
| F period×80 | 0.556 | 0.104 | $0.198^{ab}$ |
| Pooled SEM | 0.05 | 0.01 | 0.009 |
| P-value | | | |
| Period | 0.97 | 0.11 | 0.50 |
| Fe | 0.15 | 0.94 | 0.25 |
| Period × Fe | 0.08 | 0.03 | 0.04 |
| Type of response | | | |
| Linear | 0.15 | 0.72 | 0.86 |
| Quadratic | 0.18 | 0.97 | 0.10 |

a-b: در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P < ۰/۰۵).

دوره‌های تغذیه‌ای شامل: T: کل دوره (۴۲ روز، از سن ۱ تا ۴۲ روزگی)؛ GF: دوره‌های رشد و پایانی (۳۲ روز، از سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی)؛ F: دوره پایانی (۱۸ روز، از سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی).

a-b: Means within a column in each section with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

1. Feeding periods included: T, total period (42d: 1-42 days of age); GF, grower and finisher periods (32d: 11-42 days of age).

www.SID.ir

Archive of SID



اگرچه اثرات متقابل بین دوره تغذیه و مکمل سولفات آهن بر وزن نسبی طحال، معنی‌دار بود (P=۰/۰۳) ولی این اثر مثبت از لحاظ آزمون آماری مورد استفاده در این مطالعه (آزمون توکی) مقدار معنی‌داری را نشان نداد. در مورد وزن نسبی غده بورس فابریسیوس، اثرات اصلی دوره تغذیه و مکمل سولفات آهن بر وزن این اندام لنفاوی، معنی‌دار نبود ولی اثرات متقابل بین دوره تغذیه و مکمل سولفات آهن، وزن نسبی آن را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد به‌طوری‌که استفاده از ۴۰ میلی‌گرم مکمل سولفات آهن در دوره پایانی در مقایسه با تیمار شاهد، وزن نسبی غده بورس فابریسیوس را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۴). اندام‌های اصلی ایمنی در طیور شامل تیموس، طحال و بورس فابریسیوس هستند. به دنبال پاسخ ایمنی در پرنده، لنفوسیت‌های بالغ و سایر سلول‌های ایمنی مستقر در اندام‌های لنفاوی بدن در صدد مقابله با عوامل خارجی یا همان آنتی‌ژن‌ها برمی‌آیند. در نتیجه، حجم و وضعیت سلولی این اندام‌های ایمنی معمولاً می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت ایمونولوژیکی بدن پرنده باشد (Smith & Hunt, 2004). بورس فابریسیوس جایگاه لنفوسیت‌های گروه B در طیور است که در محافظت از پرنده در مقابل عوامل مهاجم وارد عمل می‌شوند. بنابراین این اندام لنفوئیدی با تولید ایمنوگلوبین‌ها یا همان آنتی‌بادی‌ها نقش اصلی را در ایمنی خونی ایفا می‌کند. گزارش شده است که افزایش وزن غده بورس فابریسیوس در اثر تکثیر سلول‌های لنفوسیت در این غده ایجاد می‌شود و نشان‌دهنده بهبود پاسخ‌های ایمنی پرنده می‌باشد (Katanbaf *et al.*, 1989; Dibner *et al.*, 1998).

**فراسنجه‌های ایمنولوژیکی خون**

نتایج آنالیز آماری شمارش گلبول‌های سفید خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۵. اثرات سطوح مختلف مکمل سولفات آهن در جیره و دوره‌های تغذیه بر فراسنجه‌های ایمونولوژیکی خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 5. The effects of different levels of dietary $FeSO_4$ supplement and feeding periods on immunological parameters of broilers at 42 day of age

| Factor | White blood cells count ($\times 10^3$/µl) | Monocytes (%) | Lymphocytes (%) | Heterophils (%) | Eosinophils (%) | Basophils (%) | H/L ratio |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Periods[a] | | | | | | | |
| T | 23.10 | 2.00[b] | 66.77 | 25.27 | 1.66 | 0.92 | 0.378 |
| GF | 22.47 | 2.07[ab] | 67.11 | 25.60 | 1.82 | 0.99 | 0.381 |
| F | 22.81 | 2.08[a] | 67.22 | 25.61 | 1.79 | 1.00 | 0.381 |
| Added Fe (mg/kg) | | | | | | | |
| 0 | 22.55 | 2.08 | 66.57[b] | 25.23 | 1.75 | 0.99 | 0.379 |
| 40 | 22.66 | 2.06 | 67.20[a] | 25.43 | 1.74 | 0.94 | 0.378 |
| 80 | 23.16 | 2.00 | 67.33[a] | 25.77 | 1.78 | 0.97 | 0.383 |
| Pooled SEM | 0.42 | 0.02 | 0.16 | 0.18 | 0.05 | 0.05 | 0.003 |
| Period ×Added Fe | | | | | | | |
| T period×0 | 22.74 | 1.95 | 66.25 | 25.02 | 1.64 | 0.97 | 0.378 |
| T period×40 | 22.23 | 2.05 | 66.85 | 25.34 | 1.64 | 0.86 | 0.379 |
| T period×80 | 24.33 | 2.00 | 67.20 | 25.46 | 1.70 | 0.92 | 0.379 |
| GF periods×0 | 22.43 | 2.02 | 66.55 | 25.38 | 1.86 | 1.00 | 0.381 |
| GF periods×40 | 22.56 | 2.08 | 67.40 | 25.38 | 1.76 | 0.98 | 0.376 |
| GF periods×80 | 22.41 | 2.11 | 67.38 | 26.04 | 1.84 | 0.98 | 0,386 |
| F period×0 | 22.48 | 2.04 | 66.90 | 25.48 | 1.74 | 1.00 | 0.381 |
| F period×40 | 23.20 | 2.12 | 67.35 | 25.56 | 1.82 | 0.97 | 0.379 |
| F period×80 | 22.75 | 2.08 | 67.40 | 25.80 | 1.80 | 1.02 | 0.382 |
| Pooled SEM | 0.72 | 0.04 | 0.28 | 0.31 | 0.08 | 0.09 | 0.005 |
| P-value | | | | | | | |
| Period | 0.53 | 0.04 | 0.13 | 0.17 | 0.06 | 0.49 | 0.86 |
| Fe | 0.57 | 0.06 | 0.004 | 0.33 | 0.82 | 0.76 | 0.71 |
| Period × Fe | 0.43 | 0.87 | 0.88 | 0.92 | 0.87 | 0.98 | 0.89 |
| Type of response | | | | | | | |
| Linear | 0.30 | 0.09 | 0.002 | 0.07 | 0.63 | 0.83 | 0.53 |
| Quadratic | 0.70 | 0.09 | 0.21 | 0.64 | 0.69 | 0.48 | 0.59 |

a-b: در هر ستون در هر بخش، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P < ۰/۰۵).

۱. دوره‌های تغذیه‌ای شامل: T: کل دوره (۴۲ روز، از سن ۱ تا ۴۲ روزگی)؛ GF: دوره‌های رشد و پایانی (۳۲ روز، از سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی)؛ F: دوره پایانی (۱۸ روز، از سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی).

a-b: Means within a column in each section with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

1. Feeding periods included: T, total period (42d: 1-42 days of age); GF, grower and finisher periods (32d: 11-42 days of age).

www.SID.ir

Archive of SID



سطوح مختلف مکمل سولفات آهن اثر معنی‌داری بر تعداد لنفوسیت‌های خون جوجه‌های گوشتی داشت به‌طوری‌که استفاده از سطوح ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل سولفات آهن در مقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش درجه دوم تعداد لنفوسیت‌های خون جوجه‌ها گردید (P<۰/۰۱). همچنین استفاده از مکمل سولفات آهن در دوره پایانی در مقایسه با کل دوره پرورش باعث افزایش تعداد مونوسیت‌های خون جوجه‌ها شد (P<۰/۰۵). با این حال، تعداد کل گلبول‌های سفید و سایر اجزای گلبول‌های سفید خون شامل هتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها و همچنین نسبت هتروفیل به لنفوسیت تحت تأثیر سطوح مختلف مکمل سولفات آهن و دوره‌های تغذیه قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). فراسنجه‌های هماتولوژیکی خون معمولاً مرتبط با سلامت پرنده هستند و اهمیت تشخیصی را در ارزیابی بالینی وضعیت سلامت پرنده دارند. همچنین این فراسنجه‌ها، شاخص‌های خوبی از وضعیت فیزیولوژیکی، پاتولوژیکی و تغذیه‌ای حیوانات هستند (Toghyani *et al*., 2010). به‌طور کلی افزایش شمار لوکوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) در خون محیطی اغلب در شرایط تنش و التهاب به‌دلیل وجود عفونت های عمومی و یا موضعی، تروما[1] (آسیب‌دیدگی ناشی از ضربه، جراحت و شوک)، مسمومیت‌ها، بافت توموری و غیره مشاهده می‌شود درحالی‌که کاهش آن می‌تواند نشان‌دهنده وجود عفونت‌ها و التهاب‌های مزمن باشد (Campbell, 1994; Doneley & Doneley, 2010). افزایش شمار هتروفیل‌ها نیز در عفونت‌های باکتریایی، قارچی و انگلی، التهاب، تنش، مسمومیت‌ها، شرایط تروماتیک و لوکمیا[2] یا لوسمی (سرطان خون که با ازدیاد غیرطبیعی گلبول‌های سفید خون شناسایی می‌شود)، رخ می‌دهد (Campbell, 1994; Mitchell & Johns, 2008). همچنین افزایش تعداد لنفوسیت‌ها نیز عمدتاً در اثر تحریک آنتی‌ژنیک و یا عوامل خارجی ناشی از عفونت‌های مزمن و یا شرایط التهابی که می‌توانند در ارتباط با عفونت‌های ویروسی خاص باشند، اتفاق می‌افتد درحالی‌که کاهش شمار لنفوسیت‌ها معمولاً در شرایط تنش رخ می‌دهد (Latimer & Bienzle, 2010). بسته به شرایط مختلف، هرگونه تغییر در شمار هتروفیل‌ها و یا لنفوسیت‌ها می‌تواند منجر به تغییر در نسبت هتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها گردد. نسبت هتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها یکی از شاخص‌های بیولوژیکی معتبر در تعیین میزان تنش در طیور، محسوب می‌شود. عوامل تنش‌زا در طیور معمولاً باعث افزایش شمار هتروفیل‌ها و کاهش شمار لنفوسیت‌ها می‌شوند (Campbell, 1994). افزایش شمار مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها نیز می‌تواند در ارتباط با شرایط عفونی و التهابی مختلفی باشد (Latimer & Bienzle, 2010). در آزمایش حاضر، فقط شمار لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها به‌ترتیب تحت تأثیر مکمل سولفات آهن و دوره تغذیه قرار گرفتند و هیچگونه عوامل خارجی تنش‌زا که منجر به ایجاد اثرات معنی‌داری در سایر فراسنجه‌های ایمونولوژیکی خون جوجه‌ها شود، مشاهده نگردید. علاوه بر این، مشخص شده است که عنصر آهن نقش قابل‌توجهی در تنظیم شماری از پاسخ‌های ایمنی از قبیل فعال‌سازی لنفوسیت‌ها، افزایش فعالیت ماکروفاژها، افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی[3]، تکثیر لنفوسیت‌های T، تکثیر سلول‌های تیموس و تولید سایتوکین‌هایی نظیر اینترلوکین-۲ و عامل نکروزکننده تومور[4] دارد (Spear & Sherman, 1992; Oppenheimer, 2001; Munoz *et al*., 2007) به‌طوری‌که کمبود منابع آهن بدن منجر به بروز اختلالاتی در هر دو سیستم ایمنی خونی و عمدتاً سلولی می‌گردد (Bowlus, 2003). یافته‌ها نشان داده‌اند که برخی از سایتوکین‌ها مثل IL-12، TNF-α، IL-1 و IFN-γ در ایجاد پاسخ‌های التهابی حاد و مزمن دخالت داشته و باعث فعال‌سازی ماکروفاژها و عمل فاگوسیتوزی آنها می‌شوند (Schat *et al*., 2014). همچنین گزارش شده است که کمبود آهن در حیوانات جونده آزمایشگاهی از جمله موش‌ها می‌تواند منجر به تحلیل بافت تیموس و کاهش شمار لنفوسیت‌های T در جریان خون گردد (Kuvibidila *et al*., 1990).

1. Trauma
2. Leukemia
3. Natural Killer Cells (NKs)
4. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α)

www.SID.ir

Archive of SID



افزون بر این، شواهد نشان داده‌اند که ارتباط متقابلی بین سلول‌های ایمنی و عنصر آهن در بدن وجود دارد به‌طوری که ممکن است سلول‌های T در تنظیم سوخت‌وساز آهن بدن از طریق تعامل با ژن HFE مولکول‌های اصلی ارائه‌کننده آنتی‌ژن در سیستم ایمنی به نام MHC[1] نقش داشته باشند (Bowlus, 2003). بنابراین، کمبود آهن ممکن است تأثیر مهمی بر مکانیسم دفاعی بدن داشته باشد، از این رو اصطلاح ایمنی تغذیه‌ای برای نشان دادن اهمیت آهن به همراه سایر مواد مغذی ضروری در پیشگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مضر، پدیدار شد.

**نتیجه‌گیری کلی**

با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که فراسنجه‌های عملکرد جوجه‌های گوشتی به‌طور چشمگیری تحت تأثیر مکمل سولفات آهن و دوره تغذیه‌ای قرار نگرفتند ولی استفاده از مکمل سولفات آهن در سطوح ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره با کاهش ضخامت روده می‌تواند باعث بهبود کیفیت لاشه گردد. همچنین استفاده از مکمل سولفات آهن در دوره پایانی باعث بهبود برخی از پاسخ‌های ایمنی در این مطالعه شد.

## REFERENCESS


1. Abbaspour, N., Hurrell, R. & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research Medical Science*, 19, 164-174.
2. Aviagen. (2014). Ross 308 Broiler Nutrition specification. Aviagen Incorporated Publishing, Huntsville, AL, USA.
3. Bess, F., Vieira, S. L., Favero, A., Cruz, R. A. & Nascimento, P. C. (2012). Dietary iron effects on broiler breeder performance and egg iron contents. *Animal Feed Science and Technology*, 178, 67-73.
4. Bowlus, C. L. (2003). The role of iron in T cell development and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, 2, 73-78.
5. Brenes, A., Smith, M., Guenter, W. & Marquardt, R. R. (1993). Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat- and barleybased diets. *Poultry Science*, 72, 1731-1739.
6. Buzala, M., Slomka, A. & Janicki, B. (2016). Heme iron in meat as the main source of iron in the human diet, a review. *Journal of Elementology*, 21, 303-314.
7. Campbell, T. W. (1994). Hematology. In: Ritchie, B.W., Harrison, G.J. & Harrison, L.R. (Eds.), *Avian Medicine: Principles and Application.* 1th edition. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL., Pp.176-198.
8. Campbell T. W. (1995). Avian Haematology and Cytology. Iowa State University Press, USA.
9. Carpenter, C. E. & Mahoney, A. W. (1992). Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31, 333-367.
10. Davis, P. N., Norris, L. C. & Kratzer, F. H. (1962). Iron deficiency studies in chicks using treated isolated soybean protein diets. *Journal of Nutrition*, 78, 445-453.
11. Dibner, J., Knight, C., Kitchell, M., Atwell, C., Downs, A. & Ivey, F. (1998). Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 425-436.
12. Doneley, B. & Doneley, R. (2010). Avian Medicine and Surgery in Practice: Companion and Aviary Birds. 2th edition. Manson Publishing Ltd., London, UK.
13. Hampton, M. B., Kettle, A. J. & Winterbourn, C. C. (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92, 3007-3017.
14. Jarosz, L., Kwiecień, M., Marek, A., Gradzki, Z., Winiarska-Mieczan, A., Kalinowski, M. & Laskowska, E. (2016). Effects of feed supplementation with glycine chelate and iron sulfate on selected parameters of cell-mediated immune response in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 107, 68-74.
15. Katanbaf, M. N., Dunnington, E. A. & Siegel, P. B. (1989). Restricted feeding in early and late feathering chickens. 1. Growth and physiological responses. *Poultry Science*, 68, 344-351.
16. Kemp. J. D. (1993). The role of iron and iron binding proteins in lymphocyte physiology and pathology. *Journal of Clinical Immunology*, 13, 81-92.
17. King, J. & Turnlund, J. (1989). Human Zinc Requirements. In: MILLS, C. (ed.) Zinc in Human Biology. 1th edition. Springer London.
18. Kuvibidila, S., Dardenne, M., Savino, W. & Lepault, F. (1990). Influence of iron-deficiency anemia on selected thymus functions in mice: thymulin biological activity, T-cell subsets, and thymocyte proliferation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 51, 228-232.


1. Major Histocompatibility Complex (MHC)

www.SID.ir

Archive of SID




19. Kuvibidila, S. R. & Warrier, R. P. (2004). Differential effects of iron deficiency and underfeeding on serum levels of interleukin-10, interleukin-12p40, and interferon-gamma in mice. *Cytokine,* 26, 73-81.
20. Kwiecien, M., Samolinska, W. & Bujanowicz-Haras, B. (2015). Effects of iron-glycine chelate on growth, carcass characteristic, and liver mineral concentrations and haematological and biochemical blood parameters in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,* 99, 1184-1196.
21. Latimer, K. S. & Bienzle, D. (2010). Schalm's Veterinary Hematology. In: Weiss, D. & Wardrop, K.J. (Eds.). *Determination and Interpretation of the Avian Leukogram*. 6th edition, Blackwell Publishing Ltd., Ames, IA., Pp.345-357.
22. Lieu, P. T., Heiskala, M., Peterson, P. A. & Yang, Y. (2001). The roles of iron in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine,* 22, 1-87.
23. Martinez-Navarrete, N., Camachoa, M. M., Martínez-Lahuerta, J., Martínez-Monzó, J. & Fito, P. (2002). Iron deficiency and iron fortified foods – a review. *Food Research International,* 35, 225-231.
24. McNaugton, J. L. & Day, E. J. (1979). Effect of dietary Fe to Cu ratios on hematological and growth responses of broiler chickens. *Journal of Nutrition,* 109, 559-564.
25. Mitchell, E. B. & Johns. J. (2008). Avian hematology and related disorders. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice,* 11, 501-522.
26. Mrkaljevic, D. (2014). *Iron and Zinc availability to broiler chicken from mineral biofortified wheat*. Master Thesis, Norwegian University of Life Sciences, Faculty of Environmental Science and Technology Department of Environmental Sciences, Norway.
27. Mullick, S., Rusia, U., Sikka, M. & Faridi, M. A. (2006). Impact of iron deficiency anaemia on T lymphocytes and their subsets in children. *Indian Journal of Medical Research,* 124, 647-654.
28. Munoz, C., Rios, E., Olivos, J., Brunser, O. & Olivares, M. (2007). Iron, copper and immunocompetence. *British Journal of Nutrition,* 98, S24-S28.
29. NRC. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th revised edition. National Academy Press. Washington, DC, USA, Pp, 176.
30. Oliveira, F., Rocha, S. & Fernandes, R. (2014). Iron metabolism: From health to disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 28, 210-218.
31. Oppenheimer, S. J. (2001). Iron and its relation to immunity and infectious disease. *Journal of Nutrition,* 131, 616S-35S.
32. Pesti, G. M. & Miller, B. R. (1992). Animal Feed Formulation: Economic and Computer Applications. Nostrand Reinhold (Van), New York, NY.
33. SAS. (2009). SAS Statistics User's Guide, Statistical Analysis System, 9.2 version. SAS Institute Inc, Cary, NC.
34. Schat, K., Kaspers, B. & Kaiser, P. (2014). Avian Immunology. In: Kaiser, P. & Staheli, P. *Avian Cytokines and Chemokines*. 2th edition. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Netherlands. Pp.189-204.
35. Shinde, D. L., Ingale, S. L., Kim, J. Y., Pak, S. I. & Chae, B. I. (2011). Efficiency of inorganic and organic iron sources under iron depleted conditions in broilers. *British Poultry Science*, 52, 578-583.
36. Smith, K. G. & Hunt, J. L. (2004). On the use of spleen mass as a measure of avian immune system. *Oecologia,* 138, 28-31.
37. Spear, A. T. & Sherman, A. R. (1992). Iron deficiency alters DMBA-induced tumor burden and natural killer cell cytotoxicity in rats. *Journal of Nutrition,* 122, 46-55.
38. Suttle, N. F. (2010). Iron. In: Suttle N. F, *Mineral Nutrition of Livestock*. 4th edition. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK. Pp. 334-354.
39. Teucher, B., Olivares, M. & Cori, H. (2004). Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research,* 74, 403-19.
40. Theil, E. C. (2004). Iron, ferritin, and nutrition. *Annual Review of Nutrition,* 24, 327-343.
41. Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A. B. & Tabeidian, S. A. (2010). Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9, 6819-6825.
42. Vahl London, H. A. & Klooster, A. T. V. T. (1987). Dietary iron and broiler performance. *British Poultry Science,* 28, 567-576.


www.SID.ir