Archive of SID

سومین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی
3rd National Conference on New Concepts in Agriculture
دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه
دانشکده کشاورزی
پنج شنبه ۲۶ آذرماه ۱۳۹۴

مقایسه سطح ایمنوگلوبولین جی (IgG) موجود در آغوز گاوهای هلشتاین ایران در شکم های مختلف زایش

محمد غلام آزاد*، علی قاضی خانی شاد و جعفر یدی
* گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
* Email: gholamazad.mohammad@yahoo.com

چکیده

این تحقیق با هدف انجام مقایسه سطح ایمنوگلوبولین جی (IgG) موجود در آغوز گاوهای هلشتاین ایران در شکمهای مختلف زایش انجام شد. بدین منظور تعداد ٦٣ راس گاو شیری هلشتاین از سه دوره شیردهی اول با نسبت تقریبا یکسان به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از کیت اختصاصی الایزا برای سنجش میزان ایمونوگلوبولین G در آنها اندازه گیری شد. میانگین تیتر ایمنوگلوبوبین در کل آزمایش۹/۹۳ ±٦٢/٥٧ نانوگرم در هر میلی لیتر آغوز بود. میانگین این متغیر در دوره شیردهی اول، دوم و سوم به ترتیب ۷/۲۳ ± ۵۹/۸۲، ۹/۵۱ ± ٦١/٠٠ و ١١/٦٤ ± ٦٨/٤١ نانوگرم در هر میلی لیتر بود. نتایج آنالیز واریانس نشان دهنده تاثیر معنی دار دوره شیردهی بر روی سطح ایمنوگلوبولین بود (P<۰/۰۵). مقایسه میانگین این صفت در سه دوره نشان داد که گاوهایی که دو دوره سوم شیردهی میباشند به طور معنی داری ایمنوگلوبولین بالاتری نسبت به دو شکم دیگر دارن، اما بین دوره های اول و دوم شیردهی هیچ اختلاف معنی داری وجود نداشت.

کلمات کلیدی: ایمنوگلوبین G، کلستروم، شکم زایش، گاو شیری هلشتاین

مقدمه

ایمونوگلوبولین ها را دسته ای از مولکول های بدن میدانند که در سیستم ایمنی فعالیت می نمایند و مانند سایر پروتئین های سرم دارای بار الکتریکی هستند و در صورت قرارگیری در میدان الکتریکی، برحسب بار جدا شده و در منحنی الکتروفورز عمدتاً در منطقه گاما قرار می گیرند. وقتی ایمونوگلوبولین برای یک آنتی ژن خاص ترشح شده باشد به آن آنتی بادی می گویند. جنس ایمونوگلوبولین ها عمدتا پروتئین است (٩٦٪-٨٢ ٪) و مقدار کمی هم قند یا کربوهیدرات دارند پس جنس آن ها گلیکو پروتئین است. بنابراین جنس آنتی بادیها، گلیکوپروتئینی متعلق به خانواده پروتئینی ایمونوگلبولین (Ig) است که وزن مولکولی آن بین ١٦٠٠٠٠ تا ٩٧٠٠٠٠ است. مولکول های آزاد آنتی بادی را پلاسماسل ها (که از تکثیر و تمایز دودمان های لنفوسیت B به وجود می آیند) ترشح می کنند. آنتی بادی های ترشح شده یا در پلاسما گردش می کنند و در موقع لزوم رگهای خونی را ترک نموده و به بافت ها می رسند و یا اینکه در ترشحات برخی اپی تلیوم ها وجود دارند. سایر آنتی بادی ها مولکول هایی آزاد نیستند، بلکه پروتئین های غشایی سطح لنفوسیت ها هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

پاسخ ایمنی شامل دو سیستم مکمل، هومورال و سیستم ایمنی است. در سیستم هومورال که علیه عفونتهای باکتریایی و ویروس های خارج سلولی عمل می کند، پروتئین هایی به نام ایمونوگلبولین یا آنتی بادی عمل می کنند. این پروتئین ها به باکتری ها، ویروسها و مولکول های بزرگ خارجی اتصال یافته و آنها را برای تخریب نشان دار می کنند. ایمونوگلبولین ها ۲۰٪ پروتئین های خون را تشکیل می دهند و توسط لنفوسیت های B تولید می شوند.

IgG، فراوانترین نوع ایمونوگلبولین و ۷۵٪ ایمونوگلبولین سرم را تشکیل می دهد که در خلال پاسخ های ایمنی، به میزان زیادی تولید می شود.IgG ، تنها ایمونوگلبولینی است که از سد جفتی عبور کرده و به سیستم گردش خون جنین منتقل می شود و برای مدت زمان مشخصی نوزاد را در مقابل عفونت ها محافظت می کند.

در پرورش گاو شیری، تولید گوساله های سالم و بدنبال آن گاوهای شیری مهمترین مساله است، چرا که هر سال ۲۵ درصد از گاوهای شیری هر مزرعه به دلایل مختلفی از جمله، ناکافی بودن تولید شیر، بیماری، لنگش حذف و تلیسه های جوان جایگزین آنها می شوند. به منظور دستیابی به حداکثر سود مدیریت پرورش گوساله های شیرخوار سالم بسیار مهم می باشد. با توجه به اینکه سیستم ایمنی گوساله بعد از تولد هنوز نابالغ است و هنوز قادر به تولید ایمنوگلوبولین کافی برای مبارزه با عفونتها و عوامل بیماری زا نیست، لذا مصرف به موقع و کافی آغوز بوسیله گوساله تازه متولد شده مهمترین عامل مدیریتی در سلامتی گوساله است. آغوز نخستین خروج ترشحات پستانی پس از زایش و مجموعه ای از پروتئینهای اختصاصی غیر قابل جایگزین و غیر اختصاصی انتقال یافته از جریان خون و ترشحات غده های شیری در چند هفته آخر آبستنی است. از وظایف آغوز انتقال فاکتورهای ایمنولوژیکی به نوزاد، تامین مواد مغذی مناسب، ضدعفونی کردن و تمیز کردن دستگاه گوارش نوزاد، تامین هورمونها و مواد محرک رشد است فلسفه مصرف آغوز در اوایل تولد به نحوه ارتباط سیستم خونی مادر و نوزاد بر می گردد. در گونه های مختلف پستانداران عبور ایمنوگلوبولین مادر از جفت به ضخامت و تعداد لایه های مختلف موجود بین خون مادر و نوزاد بستگی دارد. نوع جفت در نشخوار کنندگان از نوع اپیتلیوکوریال می باشد که در آن بافت پوششی جنین در تماس مستقیم با بافت رحم بوده و دارای ٦ لایه است و بنابراین عبور مولکولهای کامل ایمنوگلوبولین مادر به جنین در این نوع جفت امکانپذیر نمی باشد و در نتیجه نوزاد نشخوار کنندگان بطور کامل به ایمنوگلوبولینهای دریافتی از آغوز وابسته است و با همین استدلال خون گوساله تا زمانی که آغوز مصرف نشده فاقد ایمنوگلوبولین است یا مقدار بسیار جزئی ایمنوگلوبولین در آن جریان دارد. با وجود این موضوع زمان جذب مستقیم ایمنوگلوبولین آغوز از طریق سیستم گوارش نسبتا کوتاه است و معمولا تا قبل از سن ٦ هفتگی می توان ایمنوگلوبولینهای با منشاء آغوز را در خون گوساله ردیابی کرد.

Walterو همکاران (۲۰۱۱) و نیز HEINRICHS و همکاران (۲۰۰۹) سطح ایمنوگلوبولین و بویژه ایمنوگلوبولین G را تحت تاثیر عواملی چون نژاد و دوره شیردهی حیوان گزارش نمودند.

Boucher و همکاران کیفیت آغوز و بویژه ایمنوگلوبولین های آغوز در گوسفند نژاد مرینوس و دورپر را تحت تاثیر نژاد و نیز جیره غذایی میشها میدانستند.

هدف از انجام این تحقیق بررسی و مقایسه سطح ایمنوگلوبولین جی (IgG) موجود در آغوز گاوهای هلشتاین ایران در شکمهای مختلف زایش است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ٦٣ راس گاو شیری تازه زا متعلق به گاوداری صنعتی افضلیان نائینی با ظرفیت ٦٠٠٠راس با تولید ٢٦٨٠ گاودوشا واقع در آبیک قزوین نمونه آغوز به میزان ٨سی سی در لوله های آزمایش گرفته شد. گاوها از سه دوره شیردهی مختلف (به ترتیب ٢٣، ٢٣ و ١٧ راس از شکمهای اول، دوم و سوم) نمونه های آغوز بلافاصله به آزمایشگاه مبناواقع درکرج منتقل گردید تا سطح ایمنوگلوبولین آنها تعیین گردد. برای تعیین سطح ایمنوگلوبولین، ٢٠ میلی‌گرم پودر (آغوز) را دقیقاً وزن کرده، در یک لیوان کوچک ریخته و توسط همزن مغناطیسی در حدود ١٥ میلی‌لیتر محلول PBS حل نمودیم. هنگامی که پودر کاملاً حل شد، محلول را به یک فلاسک حجمی ٢٠ میلی‌لیتری انتقال دادیم. جهت رساندن حجم به ٢٠ میلی‌لیتر، PBS را افزوده، بطوریکه کف مرز بالایی محلول در فلاسک باید دقیقاً با خط ٢٠ میلی‌لیتر فلاسک برابری کند. در فلاسک را گذاشته و کاملاً مخلوط میکنیم تا محلول کالیبراسیون آماده شود (دقت تست الایزا تا حد زیادی به دقت در ایجاد شیب کالیبراسیون وابسته است). محلول کالیبراسیون را همانطور که در جدول ذیل آمده رقیق نمودیم (رقیق‌سازی ١/٥ برابر).

جدول ١: طرز رقیق نمودن نمونه های آغوز برای آزمایش

	رقت (آغوز)	غلظت
محلول پایه	١/١	٣٢٤٢٠٠ نانوگرم/میلی‌لیتر
1o dilution	١ / ١/٥	٢١٦١٣٣ نانوگرم/میلی‌لیتر
2o dilution	١ / ٢/٢٥	١٤٤٠٨٩ نانوگرم/میلی‌لیتر
3o dilution	١ / ٣/٣٧٥	٩٦٠٥٩ نانوگرم/میلی‌لیتر
4o dilution	١ / ٥/٠٦٢٥	٦٤٠٣٩ نانوگرم/میلی‌لیتر
5o dilution	١ / ٧/٥٩٣٧٥	٤٢٦٩٣ نانوگرم/میلی‌لیتر
6o dilution	١ / ١١/٣٩٠٦٣	٢٨٤٦٢ نانوگرم/میلی‌لیتر
7o dilution	١ / ١٧/٠٨٥٩٣٨	١٨٩٧٥ نانوگرم/میلی‌لیتر

دو چاهک برای هر رقت و حداقل ٣٠٠ میکرولیتر از هر رقت تهیه نمودیم. (١٠٠ میکرولیتر در هر چاهک). رقت‌های نمونه‌های نامعلوم را در PBS تهیه کردیم. فاکتور رقیق‌سازی جهت اعمال مبتنی بر غلظت تقریبی ایمونوگلوبولین نمونه-هاست، بدین جهت حیاتی است که تراکم نوری (OD) نمونه‌های تست باید بین کمترین و بیشترین مقدار شیب کالیبراسیون واقع شود. کلستروم یا آغوز را به نسبت ١٠٠٠ / ١ رقیق نمودیم.

جهت آنالیز واریانس داده ها از رویه GLM در نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین سه گروه نیز با کمک آزمون چند دامنه ای دانکی صورت گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

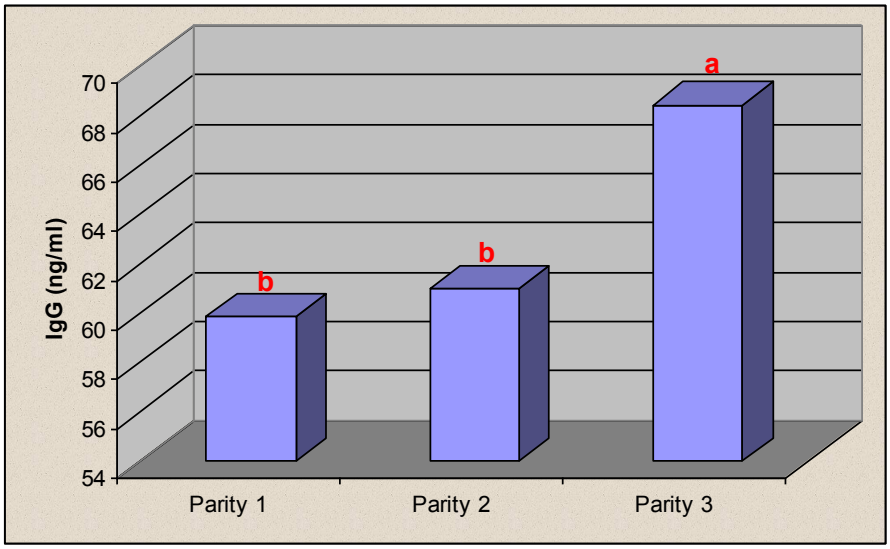
نتایج و بحث

نتایج شاخصهای توصیفی سطح ایمنوگلوبولین در کل آزمایش و نیز در سه گروه گاوهای تحت مطالعه در جدول ۲ آمده است:

گروه	تعداد (راس)	میانگین (نانوگرم/ میلی لیتر)	انحراف معیار (نانوگرم/ میلی لیتر)	حداقل (نانوگرم/ میلی لیتر)	حداکثر (نانوگرم/ میلی لیتر)
شکم اول	۲۳	۵۹/۸۲ [a]	۷/۲۳	٤۳	۷۰
شکم دوم	۲۳	٦۱/۰۰ [b]	۹/۵۱	۳۰	۷٤
شکم سوم	۱۷	٦۸/٤۱ [b]	۱۱/٦٤	٤۰	۸۰
کل	٦۳	٦۲/۵۷	۹/۹۳	۳۰	۸۰

همانگونه که در جدول ۲ مشخص است، میانگین مقدار ایمنوگلوبولین در آغوز کل گاوهای آزمایش۹/۹۳ ±٦۲/۵۷ با حداقل و حداکثر ٤۳ و ۷۰ نانوگرم در هر میلی لیتر آغوز بود. نتایج آنالیز واریانس نشان میداد که این صفت تحت تاثیر سن گاو شیری یا به عبارتی دوره شیردهی گاو قرار میگیرد($P<۰/۰۵$). مقایسه میانگین گاوهای سه دوره شیردهی نشان داد که میانگین این متغیر در دوره شیردهی اول، دوم و سوم به ترتیب ۷/۲۳ ± ۵۹/۸۲، ۹/۵۱ ± ٦۱/۰۰ و ۱۱/٦٤ ± ٦۸/٤۱ بود. از سوی دیگر مقایسه میانگین این صفت در سه دوره نشان داد که گاوهایی که دو دوره سوم شیردهی میباشند به طور معنی داری ایمنوگلوبولین بالاتری نسبت به دو شکم دیگر دارند، اما بین دوره های اول و دوم شیردهی هیچ اختلاف معنی داری وجود نداشت، هر چند میانگین این متغیر در گاوهای دوره شیردهی دوم بالاتر بود. نتایج تحقیق حاضر نیز با نتایج مطالعه Walterو همکاران (۲۰۱۱) و نیز HEINRICHS و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت.

نمودار ۱: مقایسه میانگین ایمنوگلوبولین g در سه دوره شیردهی



www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی

۳- نتایج نشان میدهد که تاثیر دوره شیردهی گاوها بر سطح ایمنوگلوبولین در آغوز آنها معنی دار است.

٤- میانگین سطح ایمنوگلوبولین در گاوها، با افزایش تعداد شکم های زایش افزایش می یابد و در مقایسه در دوره سوم بالاتر از دو دوره اول است.

منابع

Boucher, Z. 2014. Breed and diet effects on ewe colostrum quality, lamb birthweight and the transfer of passive immunity. A dissertation submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Animal Science (Honours). Charles Sturt University, Wagga Wagga.

-Gouilleux-Gruart V, H. Chapel, S. Chevret, M. Lucas, M. Malphettes, C. Fieschi. 2013. Efficiency of immunoglobulin G replacement therapy in common variable immunodeficiency: correlations with clinical phenotype and polymorphism of the neonatal Fc receptor. Clinical & Experimental Immunology. 171: 186–194.

Walter L. Hurley and Peter K. Theil. 2011. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. Nutrients 2011, 3, 442-474;

- Zhang R, Zhao Z, Zhao Y, Kacskovics I, Eijk Mv, Groot Nd, Li N, Hammarstrom L. 2009. Association of FcRn Heavy Chain Encoding Gene (FCGRT) Polymorphisms with IgG Content in Bovine Colostrum. Animal biotechnology 20:4 :pg 242-6.

www.SID.ir