مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۳، شماره ۴، ۱۳۹۱ (۴۸۹-۴۸۱)

مقایسه سطوح مختلف متیونین گیاهی و سنتتیک بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

شیلا هادی‌نیا[۱]، محمود شیوازاد[۲]، حسین مروج[۳*] و مجید اله‌یاری شهراسب[۱]
۱، ۲، ۳، دانشجویان کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲- تاریخ تصویب: ۹۱/۱۰/۳۰)

چکیده

این پژوهش به منظور مقایسه تاثیرگذاری سطوح مختلف متیونین گیاهی و سنتتیک بر عملکرد رشد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه ذرت و کنجاله سویا انجام گرفت. در این آزمایش تعداد ۲۲۵ قطعه جوجه خروس سه روزه سویه راس ۳۰۸ به ۹ تیمار و ۵ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در واحدهای آزمایشی (قفس) توزیع شدند. تیمارها شامل سطوح افزایش تدریجی از هر یک از دو منبع متیونین گیاهی و سنتتیک طی سه دوره پرورشی بودند. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱: جیره پایه بدون متیونین افزودنی (شاهد)، تیمار ۲: جیره پایه + ۰/۰۷، ۰/۰۶ و ۰/۰۵، تیمار ۳: جیره پایه + ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰، تیمار ٤: جیره پایه + ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱٤، تیمار ٥: جیره پایه + ۰/۲۹، ۰/۲۳ و ۰/۱۹ درصد متیونین سنتتیک به ترتیب برای دوره آغازین، رشد و پایانی، تیمار ٦: جیره پایه + ۰/۰۷، ۰/۰٦ و ۰/۰۵، تیمار ۷: جیره پایه + ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰، تیمار ۸: جیره پایه + ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱٤ و تیمار ۹: جیره پایه + ۰/۲۹، ۰/۲۳ و ۰/۱۹درصد متیونین گیاهی به ترتیب برای دوره آغازین، رشد و پایانی. مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه در طی سه دوره پرورش اندازه‌گیری شد و ضریب تبدیل غذایی محاسبه گردید. به منظور ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی در سنین ۲۸ و ٤۲ روزگی از دو آزمایش هموگلوتیناسیون علیه آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و پاسخ به محلول ۱-کلرو۲-۳- دی نیتروبنزن (DNCB) استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین افزایش وزن پایانی مربوط به ۲ سطح بالای متیونین سنتتیک و گیاهی می‌باشد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند درحالیکه کمترین میانگین افزایش وزن پایانی مربوط به سطح بالای متیونین سنتتیک می‌باشد. پرندگانی که از جیره پایه + ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد متیونین سنتتیک بترتیب برای دوره آغازین، رشد و پایانی و همچنین جیره پایه + ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱٤ درصد متیونین گیاهی بترتیب برای دوره آغازین، رشد و پایانی تغذیه نمودند، دارای بهترین عملکرد تولیدی و پاسخ سیستم ایمنی بودند. لذا با توجه به نتایج آزمایش به نظر می‌رسد امکان جایگزینی متیونین با منشاء گیاهی با متیونین سنتتیک وجود داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: منابع متیونین، جوجه گوشتی، SRBC، DNCB.

مقدمه

حدود ۲۰-۱۵ درصد از خوراک طیور را اسیدهای آمینه تشکیل می‌دهند (NRC, 1994). آگاهی از میزان آمینواسیدهای محتوی موادخوراکی از لحاظ اقتصادی و تغذیه‌ای بسیار ضروری است، اما کافی نیست. آمینواسیدهای گوگرددار نقش مهمی را در سلامت و بیماری‌ها ایفا می‌نمایند. متیونین به لحاظ تغذیه ای جزء آمینو اسیدهای ضروری طبقه بندی می‌شود. DL– متیونین به روش شیمیایی بوسیله آکرولین، متیل مرکاپتان و هیدروژن سیانید تولید می‌شوند (Figge et al., 2010). افزایش قیمت این پیش‌سازها همانند آکرولین و متیل مرکاپتان باعث افزایش کشش تقاضا

* نویسنده مسئول: حسین مروج تلفن: E-mail:hmoraveg@ut.ac.ir

برای دیگر منابع تولیدی متیونین (میکروبی و گیاهی) می‌شود (Figge et al., 2010). امروزه مصرف کنندگان گوشت طیور تمایل بیشتری به مصرف محصولات با منشاء طبیعی دارند. بنابراین بهتر است تولیدکنندگان با در نظر گرفتن این گرایش مصرف کنندگان به تولید محصولات ارگانیک توجه بیشتری داشته‌باشند. از اینرو، بعضی از منابع گیاهی متیونین تجاری (هربال متیونین و هربو متیونین) در بازار طیور موجود می‌باشند. لذا به نظر می‌رسد که مقایسه این منبع جدید متیونین (متیونین گیاهی) و متیونین سنتتیک (DL– متیونین) ضروری باشد. طی مطالعه‌ای نشان داده شد، ۱/۲ کیلوگرم متیونین گیاهی در هر تن خوراک با بازده بهتری می‌تواند جایگزین ۱/۲ کیلوگرم DL-Met سنتیک در هر تن خوراک شود (Halder & Roy, 2007). لذا هدف از طراحی این آزمایش مقایسه متیونین گیاهی با متیونین سنتتیک از نظر خصوصیات عملکردی و پاسخ ایمنی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سالن پرورشی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. در این آزمایش تعداد ۲۲۵ قطعه جوجه‌های نر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۳ روزگی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی به ۹ تیمار و ۵ تکرار تقسیم شدند. جوجه‌ها از سه روزگی تا انتهای دوره آزمایش (۴۲ روزگی) با سطوح افزایش تدریجی از هریک از دو منبع متیونین گیاهی و سنتیک (جدول۱) در جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا که از نظر سایر مواد مغذی مطابق توصیه کتابچه راهنمای پرورشی سویه راس ۳۰۸ بود، تغذیه شدند (جدول ۲). متیونین گیاهی تولید شرکت Arosol- کشور هند[1] می‌باشد (متیونین: ۱۲/۶ و متیونین+ سیستئین: ۱۶/۹٪ خلوص). آنالیز شیمیایی مربوط به متیونین گیاهی طبق روش AOAC (2003)۹۸۲/۳۰ انجام شد. گیاهان تشکیل دهنده آن به نام‌های *ocimum sanctum, andrographis paniculata , asparagus racemosus, zea mays* می‌باشند که با پتانسیل بالایی در بهبود رشد نقش مهمی را ایفا می‌کنند. پرورش جوجه‌ها در قفس انجام شد. دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد بود. واکسیناسیون پرندگان طبق برنامه واکسیناسیون منطقه صورت گرفت. روشنایی در ۳ روز اول ۲۴ ساعت در شبانه‌روز و بعد از آن ۲۳ ساعت در شبانه روز تثبیت گردید.

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی بر اساس مقادیر مازاد متیونین سنتتیک (DL-Met) و متیونین گیاهی (H-Met) نسبت به تیمار شاهد (جیره پایه).

تیمار	منبع متیونین	سطوح اضافه شده (درصد)			تفاوت مقادیر متیونین تامین شده نسبت به نیاز پیشنهادی کاتالوگ راس (درصد)*
		آغازین	رشد	پایانی	
۱	جیره پایه	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۲۶	-۰/۱۰ ، -۰/۱۱ ، -۰/۱۵
۲	DL-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	-۰/۰۵ ، - ۰/۰۵ ، - ۰/۰۷
۳	DL-Met	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۰۰ ،۰/۰۰ ،۰/۰۰
۴	DL-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	+۰/۰۴ ، + ۰/۰۶ ، + ۰/۰۷
۵	DL-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	+۰/۰۹ ، + ۰/۱۲ ، + ۰/۱۴
۶	H-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	-۰/۰۵ ، - ۰/۰۵ ، - ۰/۰۷
۷	H-Met	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۰۰ ،۰/۰۰ ،۰/۰۰
۸	H-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	+۰/۰۴ ، + ۰/۰۶ ، + ۰/۰۷
۹	H-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	+۰/۰۹ ، + ۰/۱۲ ، + ۰/۱۴

متیونین مورد نیاز بر اساس کاتالوگ راس ۰/۴۶، ۰/۳۹ و ۰/۳۶درصد به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی می‌باشد.

عملکرد وزن جوجه‌ها و خوراک مصرفی هر تکرار بصورت هفتگی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم بر حسب روز مرغ ثبت گردید و سپس ضریب تبدیل غذایی از روی این داده‌ها برای هر دوره محاسبه گردید.

1. Methorganic (Herbal Methionine)

پاسخ سیستم ایمنی

در این آزمایش به منظور ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی پرندگان از دو تست ایمنی استفاده شد:

تیتر آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفند (SRBC)

در این آزمایش از اریتروسیت‌های گوسفند به عنوان آنتی‌ژن تحریک کننده سیستم ایمنی هومورال استفاده گردید. جهت استخراج گلبول‌های قرمز گوسفند، خونگیری از گوسفند با استفاده از سرنگ‌های حاوی سیترات سدیم با غلظت ۳/۸٪ (برای جلوگیری از انعقاد) انجام گردید. گلبول‌های قرمز گوسفند سه بار توسط بافر سالین فسفات (PBS) شستشو داده شدند و سپس سوسپانسیون ۱٪ گلبول قرمز به میزان ۰/۲ سی‌سی در سن ۲۱ و ۳۵ روزگی به دو پرنده از هر تکرار از طریق عضله سینه تزریق و هفت روز بعد از همین پرندگان از طریق ورید بال خونگیری به عمل آمد و ۱۶ ساعت پس از انعقاد خون، سرم نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جداسازی گردید. با استفاده از روش هماگلوتیناسیون (Hemagglutination) غلظت آنتی‌بادی‌های تولید شده بر ضد SRBC اندازه‌گیری گردید (Lepage et al., 1996). جهت اندازه‌گیری تیتر پاسخ کل (SRBC) ، از ۵۰ میکرولیتر PBS و ۵۰ میکرولیتر سرم استفاده شد و جهت اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی مقاوم به ۲-مرکاپتو اتانول (IgG) از مرکاپتو اتانول به میزان ۵۰ میکرولیتر استفاده شد. در نهایت با کسر تیتر آنتی‌بادی مقاوم به ۲- مرکاپتواتانول (IgG) از تیتر پاسخ کل (SRBC)، تیتر ایمنوگلوبین (IgM) بدست آمد. داده‌ها بر اساس log 2 گزارش شدند (Niu et al., 2009).

جدول ۲- مشخصات جیره آزمایشی استفاده شده طی سه دوره پرورش

اجزای جیره (٪)	جیره آغازین	جیره رشد	جیره پایانی
ذرت	۴۹/۸۶	۶۲/۳۰	۶۸/۵۰
کنجاله سویا (۴۴٪)	۳۱/۵۱	۲۲/۰۸	۱۶/۵۳
کنجاله کانولا	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰
روغن گیاهی	۳/۷۱	۱/۳۷	۰/۹۹
دی کلسیم فسفات	۱/۹۴	۱/۶۲	۱/۴۹
پودر صدف	۱/۵۲	۱/۲۳	۱/۲۰
نمک	۰/۴۳	۰/۴۲	۰/۳۷
مکمل ویتامینی[1]	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
مکمل معدنی[2]	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
لایزین کلراید	۰/۲۹	۰/۲۷	۰/۲۴
ترئونین	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۰۸
ترکیبات محاسبه‌ای:			
انرژی متابولیسمی(کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۳۰۰۰
پروتئین خام٪	۲۰/۹۴	۱۷/۹۵	۱۶/۰۸
کلسیم٪	۱/۰۲	۰/۸۴	۰/۸۰
فسفر قابل استفاده٪	۰/۴۹	۰/۴۲	۰/۳۹
سدیم٪	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۶
متیونین٪	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۲۶
میتونین+سیستئین٪	۰/۷۷	۰/۶۸	۰/۶۱
لیزین٪	۱/۲۴	۱/۰۳	۰/۸۸

[1] مقدار ویتامین‌ها در هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۹۰۰۰ واحد بین المللی، کوله کلسیفرول: ۲۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E: ۱۸ واحد بین‌المللی، منادیون ۲ میلی‌گرم، تیامین: ۱/۸ میلی‌گرم، ریبوفلاوین: ۶/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۳۰ میلی‌گرم، پانتوتنیک اسید: ۲۵ میلی‌گرم، پیریدوکسین: ۲/۹ میلی‌گرم، فولاسین: ۱ میلی‌گرم، ویتامین B_{12}: ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، کولین: ۵۰۰ میلی‌گرم و آنتی اکسیدان: ۱ میلی‌گرم.

[2] مکمل‌معدنی در هر کیلوگرم جیره: مس (سولفات مس): ۱۰ میلی‌گرم، ید (یدات کلسیم): ۰/۹۹ میلی گرم، آهن: (سولفات آهن): ۵۰ میلی‌گرم، منگنز (اکسید منگنز): ۹۹ میلی‌گرم، سلنیوم (سدیم سلنیت): ۰/۲ میلی‌گرم و روی (اکسید روی): ۸۴ میلی گرم.

پاسخ به محلول ۱-کلرو ۲-۳-دی نیترو بنزن (DNCB)

به منظور انجام این آزمایش در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی میزان ۱۰ میلی‌گرم از محلول DNCB (حاوی ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) به مخلوط استون و روغن زیتون (به نسبت ۴: ۱) اضافه شد و ۰/۲ سی سی محلول جدید توسط پیپت پاستور(یکبار مصرف) به محل اتصال

ران و سینه (ناحیه راست بدون پر) یک پرنده از هر تکرار تزریق شد (تزریق داخل پوستی) و به ناحیه چپ محلول فاقد DNCB به عنوان شاهد تزریق شد. به منظور بررسی میزان واکنش، ضخامت پوست قبل از تزریق، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آغشته شدن با محلول با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه گیری شد. میانگین افزایش ضخامت پوست در هر پرنده از اختلاف ضخامت قبل و بعد از آغشته شدن با محلول بدست آمد (پاسخ التهابی). هر عدد اندازه گیری شده میانگین ۳ تکرار از ناحیه مورد نظر بوده و بعنوان میانگین هر پرنده درون هر تکرار در نظر گرفته شد (Verma et al., 2004).

نتایج و بحث

عملکرد

با توجه به عدم وجود تلفات در طول دوره پرورش مقایسه‌ای در این خصوص صورت نگرفت. مقایسه میانگین فراسنجه‌های مرتبط با عملکرد در طی آزمایش (۳-۴۲ روزگی) در جدول ۳ آورده شده است. نتایج آزمایش نشان داد، بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ فراسنجه‌های مرتبط با عملکرد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵)، بطوریکه پرندگانی که از جیره‌های حاوی سطوح ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد متیونین سنتتیک و همچنین سطوح ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱۴ درصد متیونین گیاهی به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تغذیه نمودند، بهترین عملکرد را از لحاظ فراسنجه‌های مرتبط با افزایش وزن و خوراک مصرفی از خود نشان دادند (P<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد با افزایش متیونین از دو منبع (گیاهی و سنتتیک)، افزایش وزن و خوراک مصرفی پرندگان بهبود می‌یابد، اما پرندگان مرتبط با جیره‌های حاوی سطوح ۰/۲۹، ۰/۲۳ و ۰/۱۹ درصد متیونین سنتتیک به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی با وجود افزایش سطح متیونین دریافتی کاهش خوراک مصرفی و کاهش افزایش وزن را داشته‌اند. این نتایج در تطابق با نتایج آزمایش Xie et al. (2006) می‌باشد. این محققین گزارش نمودند با افزایش سطح متیونین اضافه شده در جیره اردک، ابتدا افزایش وزن و سپس کاهش وزن مشاهده می‌شود. همچنین نتایج این آزمایش در تطابق با نتایج آزمایش Han & Baker (1993) می‌باشد. این محققین اظهار داشتند افزودن ۰/۵ درصد مازاد بر نیاز متیونین پرنده در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت و کنجاله سویا مضر نمی‌باشد. از طرفی نتایج حاصله از این آزمایش با نتایج حاصله از تحقیقات آزمایش Halder & Roy (2007) در تضاد است. این محققین گزارش نمودند تفاوت معنی‌داری بین سطوح مشابه متیونین سنتتیک و گیاهی وجود ندارد. به نظر می‌رسد که افزودن متیونین سنتتیک به مقدار ۲ برابر بیشتر از نیاز متیونین، به جیره جوجه‌های گوشتی باعث ایجاد سمیت در آن‌ها می‌شود. در حالیکه متیونین گیاهی مشکلی را در این سطح ایجاد نمی‌نماید. این مسئله احتمالاً به علت سمیت کمتر متیونین گیاهی نسبت به متیونین سنتتیک است یا به علت خلوص کمتر و کارآیی کمتر متیونین گیاهی نسبت به متیونین سنتتیک می‌باشد. برخی تحقیقات نشان دادند مصرف مقادیر نامناسب متیونین می‌تواند روی رشد پرندگان اثر منفی داشته و حتی سبب ایجاد آسیب‌های بافتی در آن‌ها شود (Harter & Baker, 1978). فرضیه‌های مختلف درباره علت این عوارض مطرح است که برخی از آن‌ها عبارتند از: ۱- کاهش ATPکبدی برای تبدیل متیونین به فرم فعال آن (s-آدنوزیل متیونین) (Hardwick et al., 1970)، ۲- کمبود گیرنده‌های متیل برای تبدیل s-آدنوزیل متیونین به s-آدنوزیل هموسیستئین، (Cohen et al., 1958) ۳- متابولیسم متیونین از مسیر دیگری غیر از مسیر تولید s-آدنوزیل متیونین سبب ایجاد مسمومیت می کند (Benevenga, 1974).

از سوی دیگر برخی تحقیقات نشان می‌دهد این مسیر موجب تبدیل متیونین به فرم کتو آنالوگ آن و سپس دکربوکسیله شدن آن به ۳- متیل تیو پروپیونات می‌شود که این محصول منجر به کاهش وزن می‌شود (Benevenga, 1974; Meister, 1965). مسیر نرمال متیونین منجر به تولید هموسیستئین می‌شود که گروه سولفور خود را به سرین برای تولید سیستین اهدا می-کند (Harter & Baker, 1978). Daniel & Waisman (1969) گزارش نمودند که متیونین اضافی باعث افزایش سرین-ترئونین دهیدراتاز می‌شود. از طرفی Girard-

Globa et al. (1972) کاهش ترئونین در نتیجه متیونین اضافی را گزارش نمودند.

جدول ۳- مقایسه سطوح مختلف متیونین سنتتیک و گیاهی بر فراسنجه‌های عملکرد تولیدی طی سه دوره پرورشی

	آغازین (۳-۱۰ روزگی)			رشد (۱۱-۲۴ روزگی)			پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)		
تیمار*	افزایش وزن روزانه (گرم)	خوراک مصرفی روزانه (گرم)	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)	افزایش وزن روزانه (گرم)	خوراک مصرفی روزانه (گرم)	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)	افزایش وزن روزانه (گرم)	خوراک مصرفی روزانه (گرم)	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)
۱	۱۸/۵^{c}	۱۹/۳^{d}	۱/۰۴^{c}	۵۰/۰^{c}	۶۶/۷^{d}	۱/۳۴^{c}	۷۸/۰^{c}	۱۴۷/۳^{d}	۱/۸۹^{c}
۲	۱۹/۱^{b}	۱۹/۹^{c}	۱/۰۴^{c}	۵۴/۳^{b}	۸۱/۲^{c}	۱/۵۰^{b}	۸۱/۳۰^{b}	۱۵۳/۷^{c}	۱/۹۵^{b}
۳	۱۹/۷^{a}	۲۱/۱^{b}	۱/۰۷^{b}	۵۸/۲^{a}	۸۹/۰^{b}	۱/۵۳^{b}	۸۵/۵۰^{a}	۱۶۶/۷^{b}	۱/۹۵^{b}
۴	۱۹/۶^{a}	۲۱/۹^{a}	۱/۱۲^{a}	۵۷/۶^{a}	۹۵/۸^{a}	۱/۶۷^{a}	۸۴/۷۰^{a}	۱۷۵/۰^{a}	۲/۰۷^{a}
۵	۱۷/۵^{d}	۱۷/۱^{e}	۰/۹۸^{d}	۴۸/۰^{d}	۷۲/۶^{e}	۱/۵۰^{b}	۶۹/۵۷^{d}	۱۵۹/۸^{e}	۲/۳۰^{d}
۶	۱۸/۵^{c}	۱۹/۴^{d}	۱/۰۵^{c}	۵۰/۷^{c}	۶۷/۴^{d}	۱/۳۳^{c}	۷۸/۱۰^{c}	۱۴۷/۶^{d}	۱/۸۹^{c}
۷	۱۸/۹^{b}	۱۹/۹^{c}	۱/۰۵^{c}	۵۴/۲^{b}	۸۱/۸^{c}	۱/۵۱^{b}	۸۱/۲^{b}	۱۵۹/۰^{c}	۱/۹۶^{b}
۸	۱۹/۶^{a}	۲۱/۸^{a}	۱/۱۱^{a}	۵۸/۲^{a}	۸۹/۵^{b}	۱/۵۴^{b}	۸۴/۷^{a}	۱۶۶/۸^{b}	۱/۹۷^{b}
۹	۱۹/۵^{a}	۲۱/۹^{a}	۱/۱۳^{a}	۵۷/۴^{a}	۹۸/۰^{a}	۱/۷۱^{a}	۸۴/۷^{a}	۱۷۵/۶^{a}	۲/۰۷^{a}
SEM	۰/۲	۰/۲	۰/۰۱	۰/۵	۱/۳	۰/۰۳	۰/۷	۰/۷	۰/۰۲

$^{a-e}$وجود حروف غیر مشابه در میانگین‌های هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

*۱: جیره پایه، ۲: جیره پایه+ ۰/۰۷، ۰/۰۶ و ۰/۰۵ درصد، ۳: جیره پایه+ ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد، ۴: جیره پایه+ ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱۴ درصد، ۵: جیره پایه+ ۰/۲۹، ۰/۲۳ و ۰/۱۹ درصد متیونین سنتتیک به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی، ۶: جیره پایه+ ۰/۰۷، ۰/۰۶ و ۰/۰۵ درصد، ۷: جیره پایه+ ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد، ۸: جیره پایه+ ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱۴ درصد، ۹: جیره پایه+ ۰/۲۹، ۰/۲۳ و ۰/۱۹ درصد متیونین گیاهی به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی.

سیستم ایمنی

نتایج حاصل از پاسخ سیستم ایمنی در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی در جداول ۴ و ۵ ارائه شده است. نتایج حاصله از این آزمایش نشان داد که پاسخ اولیه سیستم ایمنی (۲۸ روزگی) هومورال (SRBC) و سلولی (DNCB) تحت تاثیر افزایش سطح متیونین سنتتیک و گیاهی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج این آزمایش با نتایج حاصله از تحقیقات Takahashi et al. (1993, 1994) و Swain & Johri (2000) هماهنگ بود. این محققین بیان نمودند کمبود متیونین و همچنین متیونین اضافی، تولید اولیه آنتی‌بادی‌ها را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند. از طرفی نتایج حاصل از پاسخ ثانویه به SRBC (IgG+IgM) و مقدار ایمنوگلوبین‌های G و M در سن ۴۲ روزگی تحت تاثیر سطوح مختلف متیونین مصرفی قرار گرفت (P<۰/۰۵) . نتایج نشان داد پرندگانی که جیره‌های حاوی سطوح ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد متیونین سنتتیک و همچنین سطوح ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱۴ درصد متیونین گیاهی به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تغذیه نمودند دارای بیشترین مقدار ایمنوگلوبولین‌ها و تیتر IgG بودند، در حالی که پرندگانی که از جیره تیمار۵ تغذیه نمودند در سن ۴۲ روزگی دارای کمترین مقدار ایمنوگلوبولین‌ها و تیتر IgG بودند (P<۰/۰۵). نتایج بدست آمده با نتایج حاصله از آزمایشات Rama Rao et al. (2003) در توافق است.

همچنین نتایج حاصله از پاسخ ثانویه (۴۲ روزگی) به DNCB نشان می‌دهد پرندگانی که از جیره‌های حاوی سطوح ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ درصد متیونین سنتتیک و همچنین سطوح ۰/۲۲، ۰/۱۷ و ۰/۱۴ درصد متیونین گیاهی به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تغذیه نمودند، به طور معنی داری ازلحاظ بهبود و تقویت سیستم ایمنی بهتر از دیگر پرندگانی که از جیره حاوی سطوح مختلف دو منبع متیونین تغذیه کردند، بوده‌اند (P<۰/۰۵) . تورم بافتی DNCB نشان دهنده پاسخ جوجه‌ها به این محلول بوسیله تجمع هتروفیل‌ها و سلول‌های تک هسته‌ای در ناحیه سطحی پوست تزریق شده می‌باشد (Huynh & Chubb, 1987). همچنین Awadhiya et al. (1982) گزارش نمودند، پاسخ پرندگان به DNCB به علت نفوذ گرانولوسیت‌های چند هسته‌ای و لنفوسیت‌ها می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مرتبط با تست‌های سیستم ایمنی (SRBC، DNCB) نشان می‌دهد که مصرف مقادیر نامناسب متیونین می‌تواند روی پاسخ سیستم ایمنی اثر منفی داشته باشد و استفاده از سطوح بالاتر متیونین از دو منبع استفاده شده در این بررسی باعث کاهش سیستم ایمنی به طور معنی‌داری شود (P<۰/۰۵). این امر می‌تواند به کنترل سوخت و ساز آمینواسیدهای گوگرددار و تغییرات متابولیک در پاسخ به تغییرات در متیونین مصرفی مربوط باشد (Huynh & Chubb, 1987).

Ditscheid et al. (2005) در ارتباط با متابولیسم متیونین گزارش نمودند این متابولیسم شامل فعال سازیS- آدنوزیل متیونین و تبدیل آن به S- آدنوزیل هموسیستئین و سپس هموسیستئین می‌شود. همچنین این محققین بیان داشتند، مسیرهای متابولیکی شامل متیلاسیون مجدد و ترانس سولفوراسیون در این ارتباط وجود دارد. بصورتی که ۵-متیل تتراهیدروفولات، توسط سرین که خود بوسیله گلایسین تولید می‌شود یکی از دهنده‌های گروه متیل برای مسیر متیلاسیون مجدد می‌باشد که برای تبدیل هموسیستئین به متیونین ضروری می‌باشد. همچنین بتائین نیز یکی از اهدا کننده‌های گروه متیل می‌باشد.

در مسیر ترانس سولفوراسیون، سیستین ساخته می‌شود که پیش‌ساز تائورین و گلوتاتیون می‌باشد و نیز نقش مهمی ایفا می‌کند. همچنین سولفات و تائورین محصولات اصلی متابولیسم اسیدهای آمینه گوگرددار می‌باشند. لذا شاید بتوان گفت بهبود پاسخ ایمنی می‌تواند در ارتباط با اثرات مثبت متیونین و محصولات ناشی از متابولیسم آن باشد.

مکانیسم‌هایی که متیونین جیره پاسخ‌های ایمنی را تنظیم می‌کند نامشخص است. یکی از احتمالات این است که متیونین می‌تواند میانجی‌گرهای سیستم ایمنی مثل سیتوکینازها (اینترلوکین-۱) (Klasing & Barnes, 1988) یا هورمون‌ها (انسولین- فاکتور رشد I، تری-یدوتیرونین و تیروکسین) را تنظیم کند (Rosebrough et al., 1996). بعضی محققین بیان نمودند غنی‌سازی جیره با Zn-متیونین به مقدار ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جیره باعث افزایش پاسخ آنتی بادی و تیتر آنتی بادی و بهبود عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (Hamidi & Pourreza, 2009).

مشخص شده متیونین علاوه بر ساخت پروتئین دارای نقش‌های دیگری در تقسیم سلولی و کاهش اکسیژن فعال می‌باشد که نقش آن در کاهش اکسیژن فعال می‌تواند در بهبود ایمنی موثر باشد (Kalbande et al., 2009). در ارتباط با پاسخ پرندگان به DNCB نشان داده شده است عامل نکروز کننده تومور- آلفا[1] و اینترلوکین ۱۲[2] دوتا از میانجی‌گرهای عمده ایجاد تورم هستند که بوسیله ماکروفاژها ترشح می‌شوند. عامل نکروز کننده تومور- آلفا باعث ترشح سیتوکینازها مثل اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱۰ و فعال سازی سلول‌های T می‌شود (Locksley et al., 2001). از طرفی اینترلوکین ۱۲ باعث فعال‌سازی سلول‌های تورمی مثل سلول‌های T و سلول‌های کشنده طبیعی می‌شود (Trinchieri, 2003).

طی تحقیقاتی نشان داده شده است افزایش بیش از اندازه عامل نکروز کننده تومور- آلفا و اینترلوکین ۱۲ با گسترش بعضی از بیماری-

1. TNF-α
2. IL-12

ها مـــــرتبط است (Locksley et al. 2001). همچنین تولیـــد بیـــش از انـــدازه عامـــل نکـــروز کننـــده تومور- آلفا موجـــب آسیـــب‌هـــای بافتـــی می‌شـــود (Pasparakis et al., 1996).

جدول۴- اثر سطوح مختلف متیونین سنتتیک (DL-Met) و متیونین گیاهی (H-Met) بر پاسخ سیستم ایمنی (SRBC و DNCB) در سن ۲۸ روزگی

تیمار	منبع متیونین	سطوح اضافه شده (٪)			تیتر هماگلوتیناسیون		افزایش ضخامت پوست (٪)	
		آغازین	رشد	پایانی	SRBC (Log 2)		DNCB	
					IgM	IgG	h*۲۴	h*۴۸
۱	جیره پایه	-	-	-	۲/۴۶	۱/۸۵	۰/۸۳	۰/۰۸
۲	DL-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	۲/۵۴	۱/۸۷	۰/۸۳	۰/۰۸
۳	DL-Met	۰/۱۵	/۰۱۱	۰/۱۰	۲/۵۴	۱/۹۸	۰/۸۴	۰/۰۹
۴	DL-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	۲/۴۷	۱/۹۴	۰/۸۴	۰/۰۸
۵	DL-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	۲/۴۵	۱/۸۳	۰/۸۱	۰/۰۷
۶	H-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	۲/۴۸	۱/۸۶	۰/۸۳	۰/۰۸
۷	H-Met	۰/۱۵	/۰۱۱	۰/۱۰	۲/۵۱	۱/۹۰	۰/۸۳	۰/۰۸
۸	H-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	۲/۵۵	۱/۹۷	۰/۸۴	۰/۰۹
۹	H-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	۲/۵۴	۱/۹۱	۰/۸۴	۰/۰۹
SEM					۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰۴

* ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق

جدول۵- اثر سطوح مختلف متیونین سنتتیک (DL-Met) و متیونین گیاهی (H-Met) بر پاسخ سیستم ایمنی (SRBC و DNCB) در سن ۴۲ روزگی

تیمار	منبع متیونین	سطوح اضافه شده (٪)			تیتر هماگلوتیناسیون		افزایش ضخامت پوست (٪)	
		آغازین	رشد	پایانی	SRBC (Log 2)		DNCB	
					IgM	IgG	h*۲۴	h*۴۸
۱	جیره پایه	-	-	-	^{d}۲/۳۴	۹ ^{c}۳/۴	^{b}۰/۹۸	^{b}۰/۱۶
۲	DL-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	^{c}۲/۴۳	۰ ^{d}۴/۳	^{b}۰/۹۹	^{b}۰/۱۷
۳	DL-Met	۰/۱۵	/۰۱۱	۰/۱۰	^{a}۲/۵۴	۱ ^{a}۴/۴	^{a}۱/۲۳	^{a}۰/۲۸
۴	DL-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	^{ab}۲/۵۳	۱ ^{bc}۴/۳	^{a}۱/۲۳	^{a}۰/۲۷
۵	DL-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	^{e}۲/۲۱	۷ ^{f}۳/۵	^{c}۰/۸۲	^{c}۰/۱۱
۶	H-Met	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	^{d}۲/۳۴	۹ ^{e}۳/۴	^{b}۰/۹۹	^{b}۰/۱۶
۷	H-Met	۰/۱۵	/۰۱۱	۰/۱۰	^{c}۲/۴۳	۰ ^{d}۴/۲	^{b}۰/۹۹	^{b}۰/۱۷
۸	H-Met	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	^{a}۲/۵۴	۱ ^{ab}۴/۴	^{a}۱/۲۳	^{a}۰/۲۸
۹	H-Met	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۱۹	^{b}۲/۵۳	۱ ^{c}۴/۲	^{a}۱/۲۳	^{a}۰/۲۷
SEM					۰/۰۳	۰	۰/۰۰۴	۰/۰۴

	۰/۳

* ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق

[a-f]وجود حروف غیر مشابه در میانگین‌های هر ستون نمایانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

گیاه موجود در متیونین گیاهی به نام Andrographolide که از andrographis paniculata مشتق می‌شود دارای خواص دارویی است (Qin et al., 2006; Chiou et al., 2000). Andrographolide مانع از فعالیت لیپوپلی‌ساکاریدها که منجر به تولید نیتریک اکساید[1] در سلول‌های ماکروفاژ می‌شود (Chiou et al., 2000). Andrographolide با سرکوب تولید سیگنال‌های خارج سلولی مرتبط با پروتئین کینازهای ۱ و ۲، تولید عامل نکروز کننده تومور- آلفا و اینترلوکین ۱۲ را سرکوب می‌کند (Qin et al., 2006). همچنین عصاره گیاه andrographis paniculata شامل دیترپنوئیدها، فلاوونوئیدها و استروئیدها می‌شود اما ترکیب عمده آن دیترپن لاکتون‌ها می‌باشند که Andrographolide ۷۰٪ عصاره این گیاه را تشکیل می‌دهد (Siripong et al., 1992). لذا به نظر می‌رسد که متیونین گیاهی با داشتن گیاه andrographis paniculata می‌تواند در بهبود سیستم ایمنی نقش داشته باشد.

قیمت اقتصادی

با در نظر گرفتن نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که اگر قیمت متیونین گیاهی اقتصادی در نظر گرفته شود، می‌تواند جایگزین مناسبی برای متیونین سنتتیک باشد. همان‌طور که نتایج آزمایش نشان می‌دهد تیمار ۳ (متیونین سنتتیک) و تیمار ۸ (متیونین گیاهی) بیشترین افزایش وزن را به خود اختصاص داده‌اند و با در نظر گرفتن تعداد روزهای آزمایش برای هر دوره و میانگین سطوح افزوده شده به جیره پایه در ۳ دوره آزمایشی، سطح ۰/۱۱٪ از متیونین سنتتیک و سطح ۰/۱۷ ٪ از متیونین گیاهی بهترین سطوح افزوده شده به جیره در کل دوره آزمایشی بوده است. بنابراین، متیونین گیاهی ۱/۵۵ برابر متیونین سنتتیک باید استفاده شود تا عملکردی برابر عملکرد متیونین سنتتیک حاصل شود. از اینرو، اگر قیمت متیونین گیاهی ۴۵٪ متیونین سنتتیک در نظر گرفته شود، اقتصادی خواهد بود.

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که احتمالاً متیونین با منشاء گیاهی می‌تواند جایگزین مناسبی برای متیونین سنتتیک (متیونین ساخته شده با فرآورده های نفتی) باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از شرکت گلبار شیمی دانه به خاطر فراهم نمودن متیونین گیاهی و هزینه‌های آزمایش سپا سگزاری می‌کنند.

1. NO

REFERENCES

1. Awadhiya, R. P., Vegad, J. L. & Kolte, G. N. (1982). Eosinophil leukocytic response in dinitrochlorobenzene skin hypersensitivity reaction in chicken. *Avian Pathology,* 11, 187-194.
2. Benevenga, N. I. (1974). Toxicities of methionine and other amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 2-9.
3. Chiou, W. F., Chen, C. F. & Lin, J. J. (2000). Mechanisms of suppression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264.7 cells by andrographolide. *British Journal of Pharmacology*, 129, 1553-1560.
4. Cohen, H. P., Choitz, H. C. & Berg, C. P. (1958). Response of rats to diets high in methionine and related compounds. *The Journal of Nutrition*, 64, 555-569.
5. Daniel, R. G. & Waisman, H. A (1969). Adaptation of the weanling rat to diets containing excess methionine. *The Journal of Nutrition*, 99, 299-306.
6. Ditscheid, B., Funfstuck, R., Busch, M., Schubert, R., Gerth, J. & Jahreis, G. (2005). Effect of L-methionine supplementation on plasma homocysteine and other free amino acids: a placebo-controlled double-blind cross-over study. *European Journal of Clinical Nutrition,* 59, 768-775.
7. Duncan, D. B. (1995). Multiple range and multiple F tests. Biometrics, 11, 1-42.
8. Figge, R., Soucaile, P. & Bestel-corre, G. (2010). Producing methionine without n-acetyle-methionine. United States Patent, No.0047879 AI.
9. Girard-Globa, A., Robin, P. & Forestier, M. (1972). Long-term adaptation of weanling rats to high dietary levels of methionine and serine. *The Journal of Nutrition*, 102, 209-218.
10. Halder, G. & Roy, B. (2007). Effect of herbal or synthetic methionine on performance cost benefit ratio, meat and feather quality of broiler chicken. *International Journal of Poultry Science,* 12, 987-996.
11. Hamidi, H. & Pourreza, J. (2009). Effect of zinc-methionine and feed restriction on performance, immunocompetence and gut content osmolarity of broilers challenged with a mixed coccidial infection. *International Journal of Biological Sciences,* 7, 669-675.
12. Han, Y. & Baker, D. H. (1993). Effects of excess methionine or lysine for broilers fed a corn-soybean meal diet. *Poultry Science,* 72, 1070-1074.
13. Hardwick, D. F., Applegarth, D. A., Cockroft, P. M. & Calder, R. J. (1970). Pathogenesis of methionine-induced toxicity. *Metabolism*, 19, 381-391.
14. Harter, J. & Baker, D. H. (1978). Factors affecting methionine toxicity and its alleviation in the chick. *The Journal of Nutrition,* 180, 1061-1070.
15. Huynh, V. & Chubb, R. C. (1987). The induction of delayed type hypersensivity to dinitrocholorobenzene in the chicken. *Avian Pathology*, 16, 383-393.
16. Kalbande, V. H., Ravikanth, K., Maini, S. & Rekhe, D. S. (2009). Methionine supplementation option in poultry. *International Journal of Poultry Science,* 8, 588-591.
17. Klasing, K. C. & Barnes, D. M. (1988). Decreased amino acid requirements of growing chicks due to immunologic stress. *The Journal of Nutrition*, 118, 1158–1164.
18. Lepage, K. T., Bloom, S. E. & Taylor, R. L. J. R. (1996). Antibody response to sheep red blood cells in a major histocompatibility (B) complex aneuploid line of chickens. *Poultry Science,* 75, 346–350.
19. Locksley, R. M., Killeen, N. & Lenardo, M. J. (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology.*Cell*, 104, 487—501.
20. Meister, A. (1965). Intermediary metabolism of the amino acids. Biochem. Amino. Acids, 785. Academic Press, New York, London.
21. Methorganic (Herbal Methionine) Retrieved November 12, 2010, from http://www.veterinaryindia.net/poultry.html.
22. National Research Council. (1994). Nutrition Requirements of poultry. 9th rev. (Ed.), National Academy Press, Washington DC.
23. Niu, Z. Y., Liu, F. Z., Yan, Q. L. & Li, W. C. (2009). Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry Science,* 88, 2101–2107.
24. Pasparakis, M., Alexopoulou, L., Episkopou, V. & Kollias, G. (1996). Immune and inflammatory responses in TNF alpha-deficient mice: a critical requirement for TNF alpha in the formation of primary B cell follicles, follicular dendritic cell networks and germinal centers, and in the maturation of the humoral immune response. *The Journal of Experimental Medicine***,** 184, 1397-1411.
25. Qin, L. H., Kong, L., Shi, G. J., Wang, Z. T. & Ge, B. X. (2006). Andrographolide Inhibits the

* نویسنده مسئول: حسین مروج تلفن: E-mail:hmoraveg@ut.ac.ir

Production of TNF-a and Interleukin-12 in Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages: Role of Mitogen-Activated Protein Kinases. *Biological and Pharmaceutical Bulletin,* 29, 220-224.

26. Rama Rao, S. V, Praharaj, N. K, Reddy, M. R. & Panda, A. K. (2003). Interaction between genotype and dietary concentrations of methionine for immune function in commercial broilers. *British Poultry Science,* 44, 104-112.
27. Rosebrough, R. W., Mitchell, A. D. & Mcmurtry, J. P. (1996). Carry-over effects of dietary crude protein and triiodothyronine (T3) in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 75, 573–581.
28. SAS. (2002). SAS/STAT Users Guide. (Release 9.1) SAS Inst., Cary, NC.
29. Siripong, P., Konckathip, B., Preechanukool, K., Picha, P., Tunsuwan, K. & Taylor, W. C. (1992). *Journal of the Science Society of Thailand,* 18, 187-194.
30. Swain, B. K. & Johri, T. S. (2000). Effect of supplemental methionine, choline and their combinations on the performance and immune response of broilers. *British Poultry Science,* 41, 83-88.
31. Takahashi, K., Konashi, S., Akiba, Y. & Horiguchi, M. (1994). Effects of dietary threonine level on antibody production in growing broilers. *Animal Feed Science and Technology,* 65, 956-960.
32. Takahashi, K., Konashi, S., Akiba, Y. & Horiguchi, M. (1993). Effects of marginal excess or deficiency of dietary methionine on antibody production in growing broilers. *Animal Feed Science and Technology,* 64, 13-19.
33. Trinchieri, G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Review Immunology*, 2, 133-146.
34. Verma, J., Johri, T. S, Swain, B. K & Ameena, S. (2004). Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *British Poultry Science,* 45, 512–518.
35. Xie, M., Hou, S. S. & Huang, W. (2006). Methionine requirements of male white peking ducks from twenty-one to forty-nine days of age. *Poultry Science*, 85, 743–746.