علوم دامی ایران
دورۀ ۴۶، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۴ (ص ۲۶۹-۲۶۳)

اثر سطوح جیره‌ای فسفولیپیدهای فعال بر پاسخ سامانۀ ایمنی خونی در جوجه‌های نر گوشتی

هانیه‌سادات بنی‌کمال[۱]، مهدی ژندی[۲*]، ملک شاکری[۳] و حسین مروج[۴]
۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران و دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۱۵)

چکیده

این مطالعه برای ارزیابی تأثیرات استفاده از سطوح جیره‌ای منبع فسفولیپیدهای فعال در جیرۀ غذایی بر پاسخ سامانۀ ایمنی جوجه‌های گوشتی، با ۱۸۰ قطعه جوجۀ نر گوشتی سویۀ راس ۳۰۸ اجرا شد. جیره‌های آزمایشی شامل سطوح ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۶ درصد منبع فسفولیپیدهای فعال به نحوی تهیه شدند که انرژی قابل سوخت‌وساز، پروتئین و سایر مواد مغذی در آن‌ها یکسان بود. خون‌گیری در ۱۶ روزگی برای سنجش پادتن علیه ویروس نیوکاسل، در ۴۱ روزگی برای سنجش تفریقی گلبول‌های سفید و در ۳۶ روزگی و ۴۵ روزگی برای تست تیتر پادتن علیه پادگن گلبول قرمز گوسفند انجام گرفت. نتایج نشان داد که سطح جیره‌ای منبع فسفولیپیدهای فعال بر اندام‌های لنفاوی، تعداد هتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، بازوفیل، نسبت هتروفیل به لنفوسیت، تیتر آنتی‌بادی‌های G و M به علاوه تیتر آنتی‌بادی ضد نیوکاسل اثر معناداری نداشت. در نتیجه، به نظر می‌رسد که سطوح استفاده‌شدۀ منبع فسفولیپیدهای فعال، اثری بر فراسنجه‌های ایمنی ارزیابی‌شده در این آزمایش نداشتند.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، پادتن، خروس، فسفولیپید، نیوکاسل.

مقدمه

در پرورش طیور یکی از اهداف اصلی، پیشگیری از وقوع بیماری‌ها از طریق اجرای صحیح برنامه‌های امنیت زیستی است. نقصان در اجرای برنامه‌های امنیت زیستی به وقوع بیماری و به دنبال آن کاهش سود اقتصادی یا حتی زیان می‌انجامد؛ بنابراین باید مطمئن بود که طیور از نظر عملکرد سیستم ایمنی در وضع مطلوبی قرار دارند. در فرایند بیماری، سازوکار دفاعی در سیستم ایمنی مهم‌ترین اولویت خواهد بود. تغذیه‌ای مناسب است که کیفیت خوب و عملکرد این سازوکار دفاعی را تضمین و به پرنده کمک کند تا در برابر بیماری مقاومت کرده و بهبود یابد.

Medawar *et al.* (1979) در انگلستان و Fernandes *et al.* (1972) در آمریکا، اهمیت اسیدهای چرب موجود در رژیم غذایی را در ایمنی و بیماری‌های خودایمنی نشان دادند. در واقع آن‌ها پیش‌سازهایی برای متابولیت‌هایی هستند که واسطۀ قوی التهاب می‌باشند (Calder, 2006).

فسفاتیدیل‌کولین یا لسیتین، به طبقه‌ای از مواد چرب به نام فسفولیپیدها تعلق دارند که عناصر ساختاری سیستم عصبی را تشکیل می‌دهند (Lawrence *et al.*, 2003). تحقیقات نشان داده است که فسفاتیدیل‌کولین از طریق تأثیرات عمیق خواص غشای سلول‌های کبدی بر بسیاری از سازوکارهای کنترل سلولی در کبد، از جمله تأثیر بر هر دو پاسخ هورمونی و ایمنی بدن، مؤثر است (Lawrence *et al.*, 2003). فسفاتیدیل‌کولین مؤلفۀ اصلی غشاءهای زیستی است که در انتقال سیگنال و تولید

* تلفن: ۰۲۶-۳۲۲۴۸۰۸۲
E-mail: mzhandi@ut.ac.ir

مولکول‌های فعال زیستی نقش مهمی دارد (Zhang *et al.*, 2001). هیدرولیز فسفاتیدیل‌کولین، موجب تولید اسیدهای چرب غیراشباع، پروستاگلاندین‌ها، عوامل فعال‌کنندهٔ پلاکت و دی‌اسیل‌گلیسرول می‌شود که در ارتباطات بین و داخل سلولی شرکت می‌کنند و بر پاسخ ماکروفاژها به طیف گسترده‌ای از محرک‌ها اثر دارند (Melendez & Allen, 2002). با توجه به مطالب مذکور، به نظر می‌رسد که استفاده از منبع فسفولیپیدهای فعال بتواند به‌عنوان مکمل غذایی مناسبی برای بهبود پاسخ سامانهٔ ایمنی در طیور مفید باشد. بنابراین هدف این پژوهش استفاده از یک منبع فسفولیپیدهای فعال در جیرهٔ جوجه‌خروس و بررسی آن بر پاسخ سامانهٔ ایمنی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۴۷ روز و با استفاده از ۱۸۰ قطعه جوجهٔ یک‌روزهٔ گوشتی (جنس نر) از سویهٔ تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۹ تیمار، چهار تکرار و پنج پرنده در هر تکرار اجرا شد. جیره‌های آزمایشی با انرژی و پروتئین برابر و حاوی سطوح صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۶ درصد منبع فسفولیپیدهای فعال بر پایهٔ ذرت- کنجالهٔ سویا- گندم با سطوح انرژی قابل سوخت‌وساز ۲۹۰۰، ۲۹۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم و پروتئین خام ۲۱/۱، ۱۹/۴ و ۱۷/۸۲درصد به ترتیب برای دوره‌های آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۷-۲۵ روزگی) تنظیم شدند (جدول‌های ۱، ۲ و ۳).

جدول ۱. جیره‌های آزمایشی استفاده‌شده در دورهٔ آغازین (۱۰-۱ روزگی)

مواد خوراکی (درصد)	سطح منبع فسفولیپیدهای فعال در جیره (درصد)								
	صفر	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
ذرت	۴۶/۸۷	۴۶/۷۹	۴۶/۷۱	۴۶/۶۲	۴۶/۵۴	۴۶/۴۶	۴۶/۳۸	۴۶/۲۹	۴۶/۲۱
کنجالهٔ سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹	۳۶/۳۹
گندم	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
پودر چربی	۲/۵۸	۲/۴۲	۲/۲۷	۲/۱۱	۱/۹۶	۱/۸۰	۱/۶۵	۱/۴۹	۱/۳۴
لسیتین سویا	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
کربنات کلسیم	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۹۵	۰/۹۸
دی کلسیم فسفات	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴	۱/۸۴
نمک طعام	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴
مکمل ویتامینی و معدنی*	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ترئونین	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱
دی- ال متیونین	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
ال- لایزین (هیدروکلراید)	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲
مواد مغذی (محاسبه‌شده)									
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در هر کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین (درصد)	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱
چربی خام (درصد)	۴/۵۱	۴/۳۸	۴/۲۴	۴/۱۱	۳/۹۷	۳/۸۴	۳/۷۰	۳/۵۷	۳/۴۳
کلسیم (درصد)	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۱
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸
سدیم (درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین (درصد)	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷
متیونین (درصد)	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۸
متیونین+ سیستئین (درصد)	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳	۱/۰۳
ترئونین (درصد)	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹

* مقدار ویتامین‌ها در هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی، کوله کلسیفرول: ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۱۸ واحد بین‌المللی، ویتامین B12: ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، فولاسین: ۱ میلی‌گرم، نیاسین: ۳۰ میلی‌گرم، پانتوتنیک اسید: ۲۵ میلی‌گرم، پیریدوکسین: ۲/۹ میلی‌گرم، ریبوفلاوین: ۶/۶ میلی‌گرم، تیأمین: ۱/۸ میلی‌گرم، کولین: ۵۰۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان: ۱ میلی‌گرم.

مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره: مس (مس سولفات): ۱۰ میلی‌گرم، ید (کلسیم یدات): ۰/۹۹ میلی‌گرم، آهن: (آهن سولفات): ۵۰ میلی‌گرم، منگنز (منگنز اکسید): ۹۹ میلی‌گرم، سلنیوم (سدیم سلنیت): ۰/۲ میلی‌گرم و روی (روی اکسید): ۸۴ میلی‌گرم.

در طول دورهٔ پرورش، خوراک و آب آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. برنامه نوری به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی اعمال شد. به‌منظور اجرای تست پاسخ به نیوکاسل در ۱۶ روزگی، سنجش تفریقی گلبول‌های سفید در ۴۱ روزگی و تست تیتر پادتن علیه پادگن گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در ۳۶ روزگی و ۴۵ روزگی، از هر تکرار دو پرنده (۸ پرنده در هر تیمار) با وزن نزدیک به میانگین انتخاب شدند و خون‌گیری از طریق سیاهرگ بال صورت گرفت. پلاسمای نمونه‌های خون به کمک سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد و نمونه‌ها تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد منجمد شدند (Huang *et al*., 2008).

برای اجرای آزمون تیتر پادتن علیه پادگن گلبول قرمز گوسفند، سوسپانسیون ۵ درصد از گلبول‌های قرمز گوسفند تهیه شد. در روزهای ۲۹ و ۳۸، ۰/۲ سی‌سی از این محلول در عضلهٔ سینهٔ دو پرنده از هر واحد آزمایشی تزریق شد. سپس در روز هفتم پس از تزریق، از این جوجه‌ها خون‌گیری شد. برای تعیین تیتر پاسخ کل (IgM+IgG) از روش هموآگلوتیناسیون غلظت آنتی‌بادی‌های تولیدشده بر ضد SRBC استفاده شد. برای اندازه‌گیری IgG از IgM که اجزای پاسخ SRBC هستند با جداسازی آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول که در حقیقت IgG است، این مقدار از پاسخ کل کسر شد که معرف آنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول یا IgM است (Akhlghi *et al*., 2013).

جدول ۲. جیره‌های آزمایشی استفاده‌شده در دورهٔ رشد (۲۴-۱۱ روزگی)

مواد خوراکی (درصد)	سطح منبع فسفولیپیدهای فعال در جیره (درصد)								
	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
ذرت	۴۹/۶۵	۴۹/۵۷	۴۹/۴۹	۴۹/۴۱	۴۹/۳۲	۴۹/۲۴	۴۹/۱۶	۴۹/۰۶	۴۹/۸۶
کنجالهٔ سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴	۳۰/۶۴
گندم	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
پودر چربی	۱/۰۷	۰/۹۱	۰/۷۶	۰/۶۰	۰/۴۴	۰/۲۹	۰/۱۳	۰	۰
لسیتین سویا	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
کربنات کلسیم	۰/۷۷	۰/۸۱	۰/۸۴	۰/۸۸	۰/۹۲	۰/۹۵	۰/۹۹	۱/۰۲	۱/۰۲
دی کلسیم فسفات	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶	۱/۵۶
نمک طعام	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲
مکمل ویتامینی و معدنی	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ترئونین	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
دی- ال متیونین	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ال- لایزین (هیدروکلراید)	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹
مواد مغذی تأمین‌شده									
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در هر کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین (درصد)	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴	۱۹/۴
چربی خام (درصد)	۳/۴۱	۳/۲۸	۳/۱۴	۳/۰۱	۲/۸۷	۲/۷۴	۲/۶۰	۲/۴۸	۲/۴۷
کلسیم (درصد)	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱
سدیم (درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین (درصد)	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴	۱/۱۴
متیونین (درصد)	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵
متیونین+ سیستئین (درصد)	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷
ترئونین (درصد)	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶

برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، در سن ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی دو پرنده تصادفی انتخاب شد. در این آزمایش از روش رنگ‌آمیزی رایت برای رنگ‌آمیزی گسترش‌های خونی پرندگان استفاده شد. به ازای هر اسلاید رنگ‌آمیزی‌شده، ۱۰۰ گلبول سفید به‌صورت تصادفی در زاویه‌های مختلف دید میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰ شمارش شد (Akhlghi *et al*., 2013).

در ۴۷ روزگی از هر تکرار دو جوجهٔ نر (۸ قطعه در هر تیمار) با وزن نزدیک به میانگین انتخاب و پس از توزین کشتار شدند. کبد، طحال و بورس فابرسیوس از لاشه جدا شد و وزن نسبی آن‌ها به‌صورت درصدی از وزن لاشهٔ پرنده محاسبه گردید.

داده‌های به‌دست‌آمده در قالب طرح آماری بلوک کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۴ تکرار (بلوک) برای مدل‌های آماری زیر با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ijk=} \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$$

که Y_{ijk}، مقدار مشاهدات؛ μ، میانگین جمعیت؛ T_i، اثر تیمار؛ B_j، اثر بلوک و e_{ijk}، اثر خطای آزمایشی است.

جدول ۳. جیره‌های آزمایشی استفاده‌شده در دورهٔ پایانی (۴۷-۲۵ روزگی)

مواد خوراکی (درصد)	سطح منبع فسفولیپیدهای فعال در جیره (درصد)								
	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
ذرت	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶	۴۷/۹۶
کنجالهٔ سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶	۲۶
گندم	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
پودر چربی	۲/۳۷	۲/۱۸	۲/۹۹	۱/۸۰	۱/۶۱	۱/۴۲	۱/۲۳	۱/۰۴	۰/۸۵
لسیتین سویا	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶
کربنات کلسیم	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۵۲	۰/۵۶	۰/۶۱	۰/۶۵	۰/۷۰	۰/۷۴	۰/۷۹
دی کلسیم فسفات	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳
نمک طعام	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲
مکمل ویتامینی و معدنی	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ترئونین	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴
دی- ال متیونین	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
ال- لایزین (هیدروکلراید)	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸
ماسه	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۳۳	۰/۲۷	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۱۱	۰/۰۵	۰
مواد مغذی تأمین‌شده									
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در هر کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
پروتئین (درصد)	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲	۱۷/۸۲
چربی خام (درصد)	۴/۵۴	۴/۳۸	۴/۲۲	۴/۰۶	۳/۹۰	۳/۷۴	۳/۵۸	۳/۴۱	۳/۲۵
کلسیم (درصد)	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹
سدیم (درصد)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین (درصد)	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲
متیونین (درصد)	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۵
متیونین+ سیستئین (درصد)	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷
ترئونین (درصد)	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶

نتایج و بحث

مطالعهٔ حاضر برای اثر بررسی منبع فسفولیپیدهای فعال بر پاسخ‌های سامانهٔ ایمنی طیور انجام گرفت. منبع فسفولیپیدهای فعال استفاده‌شده در این مطالعه حاوی فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول‌آمین، فسفاتیدیل اینوزیتول، فسفاتیدیل سرین و فسفاتیدیل

گلیسرول بود که از مهم‌ترین فسفولیپیدهای فعال محسوب می‌شوند.

نتایج تست پاسخ به گلبول قرمز گوسفندی و تست پاسخ به نیوکاسل در جدول ۴ نشان داده شده است. تیمارهای مختلف آزمایشی بر پاسخ اولیه و ثانویهٔ تست پاسخ به گلبول قرمز گوسفندی و همچنین تست پاسخ به نیوکاسل تأثیر معناداری نداشت. همچنین سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال بر اندازهٔ اندام‌های لنفاوی اثر معناداری نداشت (جدول ۵). نتایج آنالیز آماری شمارش گلبول‌های سفید جوجه‌های تحت آزمایش در ۴۲ روزگی در جدول ۶ ارائه شده است. تعداد لنفوسیت، هتروفیل و همچنین نسبت لنفوسیت به هتروفیل تحت تأثیر سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال قرار نگرفت (P>۰/۰۵). تعداد ائوزینوفیل‌های خون پرندگانی که ۱/۶ درصد منبع فسفولیپیدهای فعال در جیره دریافت کرده بودند نیز در مقایسه با گروه شاهد و گروه‌هایی با سطوح ۰/۴ و ۰/۶ درصد منبع فسفولیپیدهای فعال به‌طور معناداری افزایش یافت (P<۰/۰۵). سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال نتوانست درصد مونوسیت‌ها و بازوفیل خون جوجه‌ها را تحت تأثیر خود قرار دهد.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین نتایج آزمون تست پادتن علیه پادگن گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و تست نیوکاسل سرم خون جوجه‌های تحت تأثیر سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال

صفت	درصد منبع فسفولیپیدهای فعال										SEM	P Value
	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶			
	پاسخ اولیه (SRBC)											
Total Ig	۲/۸۷	۳/۲۵	۳/۲۵	۲/۷۵	۲/۳۷	۲/۳۷	۲/۳۷	۳/۱۹	۲/۵۷		۰/۴۱	۰/۱۲۵
IgG	۱/۴۴	۱/۳۷	۱/۳۱	۱	۰/۹۴	۰/۸۷	۰/۹۴	۱/۱۲	۱		۰/۲۷	۰/۲۹
IgM	۱/۴۴	۱/۸۷	۱/۹۴	۱/۷۵	۱/۴۴	۱/۵	۱/۴۴	۲/۰۶	۱/۵۷		۰/۲۸	۰/۱۷
	پاسخ ثانویه (SRBC)											
Total Ig	۳/۸۴	۳/۵۶	۴/۰۶	۳/۸۷	۳/۸۷	۴/۳۱	۳/۸۷	۴/۱۸	۴		۰/۴۵	۰/۸۲
IgG	۲/۹۷	۲/۸۷	۲/۷۲	۳/۱۲	۲/۶۹	۳/۰۶	۲/۸۱	۲/۸۷	۲/۸۶		۰/۲	۰/۴۱
IgM	۰/۹	۰/۸۱	۱/۳۴	۰/۷۵	۱/۱۹	۱/۲۵	۱/۰۶	۱/۳۱	۱/۱۴		۰/۲۵	۰/۱۹
	تست نیوکاسل											
HI-NDV	۴/۰۴	۴/۳۷	۳/۸۷	۴/۳۷	۴/۲۵	۴/۲۵	۴/۲۵	۴/۷۶	۴/۷۵		۰/۴	۰/۴

جدول ۵. مقایسهٔ میانگین صفات مربوط به درصد لاشه و اندام‌های مؤثر در ایمنی (کبد، بورس فابرسیوس، طحال و تیموس) جوجه‌های تحت تأثیر سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال

صفت	درصد منبع فسفولیپیدهای فعال										SEM	P Value
	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶			
وزن زنده (گرم)	۲۶۸۳	۲۶۳۴	۲۵۱۶	۲۵۰۶	۲۷۰۹	۲۵۵۹	۲۶۹۴	۲۵۴۰	۲۶۳۰		۱۰۷/۸۵	۰/۳۹
وزن لاشه (گرم)	۲۰۲۷	۱۹۵۳	۱۸۶۱	۱۸۵۴	۲۰۴۴	۱۸۹۳	۱۹۹۶	۱۸۷۹	۱۹۷۱		۸۸/۷۵	۰/۲۴
نسبت لاشه به وزن بدن (درصد)	۰/۷۵	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۵	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۵		۰/۰۰۸	۰/۴۲
نسبت کبد به وزن لاشه (درصد)	۲/۵۲	۲/۴۹	۲/۴۱	۲/۳۲	۲/۳۴	۲/۳۶	۲/۵۶	۲/۶۲	۲/۳۵		۰/۱۴۵	۰/۳۸
نسبت بورس به وزن لاشه (درصد)	۰/۲۸۵	۰/۲۶۵	۰/۲۷۳	۰/۲۸۹	۰/۲۷۰	۰/۳۲۲	۰/۳۰۰	۰/۳۲۶	۰/۲۶۲		۰/۰۳۸	۰/۷۲
نسبت طحال به وزن لاشه (درصد)	۰/۱۳۶	۰/۱۲۰	۰/۱۳۵	۰/۱۴۱	۰/۱۲۶	۰/۱۳۵	۰/۱۴۷	۰/۱۳۹	۰/۱۳۳		۰/۰۱۲	۰/۵۸
نسبت تیموس به وزن لاشه (درصد)	۰/۷۲۲	۰/۷۰۴	۰/۸۳۰	/۷۴۱	۰/۷۴۴	۰/۷۸۶	۰/۶۸۵	۰/۶۶۰	۰/۷۵۴		۰/۰۷۳	۰/۴۶

جدول ۶. مقایسهٔ میانگین گلبول‌های سفید خون جوجه‌های تحت تأثیر سطوح مختلف منبع فسفولیپیدهای فعال

صفت	درصد منبع فسفولیپیدهای فعال									SEM	P Value
	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۶		
لنفوسیت	۰/۵۳	۰/۵۴	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۵۷	۰/۵۴	۰/۵۱	۰/۵۴	۰/۵۴	۰/۰۲۷	۰/۶۵
هتروفیل	۰/۶۱	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۴۸	۰/۴۷	۰/۴۹	۰/۶۷	۰/۶۲	۰/۴۹	۰/۰۸۹	۰/۲۱
مونوسیت	۰/۰۴۹	۰/۰۴۱	۰/۰۳۱	۰/۰۴۷	۰/۰۴۵	۰/۰۴	۰/۰۳۸	۰/۰۲۵	۰/۰۲۶	۰/۰۰۹	۰/۱۱۴
بازوفیل	۰/۰۶۵	۰/۰۵۸	۰/۰۷۵	۰/۰۸۹	۰/۰۸۷	۰/۰۹۶	۰/۰۹۶	۰/۰۸۲	۰/۱۱	۰/۰۲۱	۰/۱۶
ائوزینوفیل	۰/۰۲۴[a]	۰/۰۱۹[a]	۰/۰۲۹[a]	۰/۰۳۴[ab]	۰/۰۳۲[ab]	۰/۰۳۲[ab]	۰/۰۳۲[ab]	۰/۰۳۲[ab]	۰/۰۴۵[b]	۰/۰۰۶	۰/۰۳۴
هتروفیل/ لنفوسیت	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۳	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۰۳۶	۰/۱۲

اعدادی که در هر ردیف با حروف لاتین متفاوت علامت‌گذاری شده‌اند، با همدیگر اختلاف معنادار دارند ($P< ۰/۰۵$).

در مطالعات بسیاری اثر فسفاتیدیل کولین بر توان تکثیر و فعالیت لنفوسیت‌ها و افزایش فعالیت فاگوسیتوزی ماکروفاژها بررسی شده است (Asaoka *et al*., 1992; Nishiyama-Naruke & Curi, 2000; Miranda *et al*., 2008; Grando *et al*., 2009). فسفاتیدیل‌کولین با تغییر ترکیب چربی غشا و در نتیجه تغییر سیالیت غشا و تغییر عملکرد گیرنده‌ها موجب افزایش فعالیت فاگوسیتوزی ماکروفاژها می‌شود (Calder *et al*., 1990). نشان داده شده است که مولکول‌های فسفاتیدیل کولین به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ منفی پروتئین‌کیناز C عمل کرده و موجب مهار فعالیت این آنزیم می‌شوند (Kaibuchi *et al*., 1981; Isakov, 1988). هیدرولیز فسفاتیدیل کولین توسط فسفولیپاز A_2 سبب تولید اسیدهای چرب غیراشباع، لیزوفسفاتیدیل‌کولین، فاکتور فعال‌کنندهٔ شبه پلاکت، کولین، اسیدفسفاتیدیک و دی‌آسیل‌گلیسرول می‌شود که این ترکیبات در ارتباطات درون و بین‌سلولی که بر عملکرد ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها اثر می‌گذارند، شرکت می‌کنند (Asaoka *et al*., 1992; Rotondo *et al*., 1994; Exton, 1997). دی‌آسیل‌گلیسرول تولیدشده در این مسیر نیز در فعالیت PKC نقش دارد (Nishiyama-Naruke & Curi, 2000). همچنین لیزوفسفاتیدیل‌کولین تولیدشده در حضور دی‌آسیل‌گلیسرول و Ca^{2+}، فعال شده و باعث فعال‌شدن لنفوسیت‌های T می‌شود (Asaoka *et al*., 1992). از طرف دیگر بیان شده است که اثر فسفاتیدیل کولین به ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ساختمان آن بستگی دارد (Calder, 1993; Calder *et al*., 1994). اسید چرب غیراشباع غالب در ترکیب استفاده‌شده، لینولئیک اسید است (۵۹درصد). لینولئیک اسید توسط آسیل‌کوآنزیم‌آ سنتتاز، تولید آراشیدونیک اسید می‌کند که به شکل‌گیری ایکوزانوئیدها مانند پروستاگلاندین، پروستاسیکلین و ترمبوکسان‌ها می‌انجامد (Gonzalez, 2008).

در این مطالعه اثر شایان توجهی از منبع فسفولیپیدهای فعال بر پاسخ سامانهٔ ایمنی در جوجه‌های نر گوشتی مشاهده نشد. همان‌طور که گفته شد، بیشترین تأثیر منبع فسفولیپیدهای فعال به حضور فسفاتیدیل‌کولین موجود در آن بستگی دارد. منبع فسفولیپیدهای فعال مورد استفاده در این مطالعه تنها حاوی ۲۳ درصد فسفاتیدیل کولین است. شاید بتوان گفت به دلیل خالص‌نبودن این ترکیب و کافی‌نبودن مقدار آن برای برانگیختن پاسخ سامانهٔ ایمنی، تغییرات مورد انتظار بر سیستم ایمنی جوجه‌ها مشاهده‌پذیر نبوده است.

REFERENCES

1. Akhlghi, A., Zamiri, M. J., Jafari Ahangary, Y. & Atashi, H. (2013). Oral exposure of broiler breeder hens to extract thyroxine to modulates early adaptive immune response in progeny chicks. *Poultry Science*, 9(2), 1040-1049.
2. Asaoka, Y., Oka, M. Yoshida, K., Sasaki, Y. & Nishizuka, Y. (1992). Role of lysophosphatidylcholine in T-lymphocyte activation: involvement of phospholipase A2 in signal transduction through protein kinase C. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(14), 6447-6451.

3. Calder, P.C. (1993). The effects of fatty acids on lymphocyte functions. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 26(9), 901-917.
4. Calder, P.C. (2003). N−3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. *Lipids*, 38(4), 343-352.
5. Calder, P.C. (2005). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochemical Society Transactions*, 33(2), 423-427.
6. Calder, P.C. (2006). n−3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The* American *Journal of Clinical Nutrition*, 83(6), S1505-1519S.
7. Calder, P.C., Bond, J.A., Harvey, D.J., Gordon, S. & Newsholme, E.A. (1990). Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis. *The Biochemcal Journal*, 269(3), 807-814.
8. Calder, P. C., Costa-Rosa, L. F. & Curi, R. (1994). Effects of feeding lipids of different fatty acid compositions upon rat lymphocyte proliferation. *Life Sciences*, 56(6), 455-463.
9. Exton, J.H. (1997). Phospholipase D: enzymology, mechanisms of regulation, and function. Physiological *Reviews*, 77(2), 303-320.
10. Fernandes, G., Yunis, E.J., Smith, J. & Good, R.A. (1972). Dietary influence on breeding behaviour, hemolytic anemia and longevity in NZB mice. Proceedings of *the Society for Experimental Biology and Medicine*, 139, 1189-1196.
11. Gonzalez, D. (2008). Effect of dietary fatty acids, time of feeding and immune response in poultry. http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/handle/1957/10225.
12. Grando, F., Felicio, C., Twardowschy, A., Paula, F., Batista, V., Fernandes, L., Curi, R. & Nishiyama, A. (2009). Modulation of peritoneal macrophage activity by the saturation state of the fatty acid moiety of phosphatidylcholine. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42(7), 599-605.
13. Harbige, L., Yeatman, N., Amor, S. & Crawford, M. (1995). Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats by a novel fungal source of γ-linolenic acid. *British Journal of Nutrition*, 74(5), 701-715.
14. Huang, J., Yang, D., Gao, S. & Wang, T. (2008). Effects of soy-lecithin on lipid metabolism and hepatic expression of lipogenic genes in broiler chickens. *Livestock Science*, 118(1), 53-60.
15. Isakov, N. (1988). Regulation of T-cell-derived protein kinase C activity by vitamin A derivatives. *Cellular Immunology*, 115(2), 288-298.
16. Kaibuchi, K., Takai, Y. & Nishizuka, Y. (1981). Cooperative roles of various membrane phospholipids in the activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 256(14), 7146-7149.
17. Lawrence, G., Plaskett, B. A., Chem, C. & F. R. I. C. (2003). Phosphatidylcholine. *Nutrition Information Services*, 8(2), 344-352.
18. Medawar, P., Hunt, R. & Mertin, J. (1979). An influence of diet on transplantation immunity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 206(1164), 265-280.
19. Melendez, A. J. & Allen, J. M. (2002). Phospholipase D and immune receptor signalling. *Seminars in Immunology*, 14(1), 49-55.
20. Mertin, J. (1981). Essential fatty acids and cell-mediated immunity. *Progress in Lipid Research*, 20, 851-856.
21. Miranda, D. T., Batista, V. G., Grando, F. C., Paula, F. M., Felicio, C. A., Rubbo, G. F., Fernandes, L. C., Curi, R. & Nishiyama, A. (2008). Soy lecithin supplementation alters macrophage phagocytosis and lymphocyte response to concanavalin A: a study in alloxan-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*, 26(8), 859-865.
22. Morrow, W., Ohashi, Y., Hall, J., Pribnow, J., Hirose, S., Shirai, T. & Levy, J. (1985). Dietary fat and immune function. I. Antibody responses, lymphocyte and accessory cell function in (NZB x NZW) F1 mice. *The Journal of Immunology*, 135(6), 3857-3863.
23. Nishiyama-Naruke, A. & Curi, R. (2000). Phosphatidylcholine participates in the interaction between macrophages and lymphocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 278(3), 554-560.
24. Rotondo, D., Earl, C., Laing, K. & Kaimakamis, D. (1994). Inhibition of cytokine-stimulated thymic lymphocyte proliferation by fatty acids: the role of eicosanoids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1223(2), 185-194.
25. Zhang, F., Zhao, G. & Dong, Z. (2001). Phosphatidylcholine-specific phospholipase C and D in stimulation of RAW264. 7 mouse macrophage-like cells by lipopolysaccharide. *International Immunopharmacology*, 1(7), 1375-1384.

Iranian Journal of Animal Science, Vol. 46, No. 3, Autumn 2015

The effects of feeding different dietary levels of active phospholipids on humeral immune system response in male broilers

Haniyeh Sadat Banikamal[1], Mahdi Zhandi[2*], Malak Shakeri[3] and Hossin Moravej[4]
1, 2, 3, 4. M. Sc. Student, Assistant Professors and Associate Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Jan. 10, 2015 - Accepted: Aug. 6, 2015)

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effects of dietary levels of an active phospholipids source on immune system response in broilers using 180 male Ross 308 broilers chicks. Experimental diets containing 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6% of active phospholipids were prepared in a way that they had the same metabolizable energy, protein and other nutrients. Blood samples were collected at days 16 for Newcastle test, day 41 for differential measurement of white blood cells and at days 36 and 45 for SRBC test. The obtained results showed that different levels of active phospholipids source had no significant effect on lymphoid organs, number of heterophil, lymphocyte, monocyte, basophil, heterophil to lymphocyte ratio, IgG and IgM titer as well as anti-Newcastle antibody titer in broilers. In conclusion, it seems that levels of used active phospholipids source had no effect on the evaluated immune parameters in this experiment.

Keywords: antibody, broiler, immunity, newcastle, phospholipid.

* Corresponding author E-mail: mzhandi@ut.ac.ir Tel: +98 26 32248082, +98 912 7688051