تاثیر سطوح مختلف مس و روی بر تیتر آنتی بادی و جمعیت سلولهای سفید خون جوجه های گوشتی

ساجده حسینی و جواد آرشامی دانش آموخته فیزیولوژی دام و عضو هیات علمی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف مس و روی بر برخی پاسخهای ایمنولوژیک جوجه های گوشتی، از ٤٠٠ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس، با چهار تکرار و در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۳ ۳ استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل یک جیره شاهد و سه سطح مختلف مس حاوی ۳۵، ۷۰ و ۱۰۵ میلیگرم بر کیلوگرم جیره غذایی (سطوح افزودن مکمل) بود که هر یک در سه سطح روی شامل ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلیگرم بر کیلوگرم به جیره پایه (فاقد مکمل روی و مس) اضافه شدند. تیتر آنتی بادی علیه ویروس گامبورو ۱۲ روز پس از تزریق واکسن، با افزایش سطح مس از ۳۵ به ۷۰ میلیگرم بر کیلوگرم جیره افزایش یافت ($P<۰/۰۱$). همچنین تیتر آنتی بادی علیه ویروس برونشیت در روز ۱۲ پس از تزریق واکسن با افزایش سطح مس به صورت درجه دوم ($P<۰/۰۵$) افزایش پیدا کرد. افزایش سطح مس جیره، سبب افزایش جمعیت هتروفیل ها و همچنین افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت به صورت خطی ($p<۰/۰۱$) شد. به طور معکوس افزایش سطح روی سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که استفاده از مکمل سولفات مس و سولفات روی به طور موثری می تواند عملکرد سامانه ایمنی پرنده را تقویت کند.

مقدمه

بیشتر احتیاجات تغذیه ای طیور به خصوص در زمینه ویتامین ها و مواد معدنی نتیجه تحقیقاتی است که ٤٠ سال پیش بر روی جوجه هایی که از نظر ژنتیکی با جوجه های امروزه تفاوت دارند انجام گرفته است (۲۰). صنعت پرورش طیور، برای افزایش مقاومت طیور در برابر بیماری ها و تولید محصولات سالم به دنبال یک راهکار مناسب دیگری به غیر از استفاده از آنتی بیوتیکها می باشد (۱). عنصر مس مقاومت سلول را در برابر بیماریها افزایش می دهد و برای حفظ فعالیت فاگوستیک گلبولهای سفید خون ضروری می باشد(۱۵). روی یک عنصر حیاتی برای عملکرد بهتر سیستم ایمنی در حیوانات محسوب می شود. کمبود روی سبب کاهش ایمنی سلولی (۳) می شود. روی به طور معمول به بیشتر جیره های طیور و خوک برای تامیت احتیاجات این عنصر اضافه می شود. زیرا قابلیت دسترسی روی در منابع گیاهی به خاطر باند شدن آن با فیتات بسیار پایین است (٤). مقدار احتیاجات مس و روی برای جوجه های گوشتی به ترتیب ۸ و ٤٠ ppm می باشد (۱۲). بنابراین هدف مطالعه حاضر تخمین واکنش تیتر آنتی بادی و درصد سلولهای سفید خون در برابر سطوح مختلف مس و روی در جوجه های گوشتی می باشد.

مواد و روش ها

مراحل عملی آزمایشات این پژوهش در ایستگاه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به انجام رسید. از هفته دوم جیره های غذایی مورد مطالعه در اختیار آنها قرار گرفت. تیمارها شامل ۹ سطح مختلف از مخلوط سولفات روی ($ZnSo_4.H_2O$) (٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم) و سولفات مس ($CuSo_4.5H_2O$) (۳۵، ۷۰ و ۱۰۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم) به همراه یک جیره شاهد بودند. جیره پایه (جدول ۱) دارای ۱۹/۰۹ و ۱۷/۳۱ میلی گرم روی بر کیلوگرم و ۳/۹ و ۳/۱ میلی گرم مس بر کیلوگرم به ترتیب برای مراحل آغازین و رشد می باشد. برای ارزیابی تیتر آنتی بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل، تمامی پرندگان هر پن در روز ۸ دوره پرورش علیه سویه B1 بیماری نیوکاسل، به صورت قطره چشمی واکسینه شدند. نمونه های سرم خون دو قطعه پرنده، ۱۲ روز بعد از واکسیناسیون جمع آوری و تیتر آنتی بادی نمونه ها به روش HI مورد اندازه گیری قرار

گرفت(۹). برای ارزیابی ایمنی پرندگان در برابر ویروس بیماریهای برونشیت و گامبورو، تمامی پرندگان هر پن در روزهای ۱۲ (برونشیت) و ۱۵ (گامبورو) دوره پرورش، علیه بیماریهای مذکور واکسینه شدند. نمونه های سرم خون دو قطعه پرنده انتخابی، ۱۲ روز پس از هر نوبت واکسیناسیون، جمع آوری و به روش الایزا (۵) مورد آنالیز قرار گرفتند. در سن ٤۲ روزگی، از هر پن یک قطعه جوجه انتخاب و خونگیری شد. برای شمارش گلبولهای سفید خون از روش رنگ آمیزی گیمسا استفاده شد (۷).

جدول-۱- موادخوراکی تشکیل دهنده جیره پایه در دو مرحله آغازین و رشد

مواد خوراکی (٪)	آغازین (۲۱-۱ روزگی)	رشد (٤۲-۲۱ روزگی)
ذرت	٥٤/٤	٦٤/٦۳
کنجاله سویا	۳۹/۰۱	۳۱
روغن	۲/۳۳	۱
سنگ آهک	۱/۲۹	۱/۲٥
دی کلسیم فسفات	۱/۸٥	۱/۲
نمک معمولی	۰/٤٦	۰/۳٥
مکمل معدنی[1]	۰/۲٥	۰/۲٥
مکمل ویتامینی	۰/۲٥	۰/۲٥
DL- متیونین	۱	۰/۰۷
ترکیب شیمیایی		
انرژی (Kcal/Kg)	۳۰۱۸	۳۰٥۰
پروتئین خام (٪)	۲۱/٦٥	۱۹/۰٦
روی (mg/kg)	۱۹/۰۹	۱۷/۳۱
مس (mg/kg)	۳/۹	۳/۱

[1]مکمل معدنی فاقد روی و مس به ازای هر کیلوگرم جیره، ترکیب مغذی زیر را فراهم مینمود: ٥٥mg منگنز (از اکسید منگنز)، ۹٦mg آهن (از سولفات آهن هپتا هیدرات)، ۱/٤ mg ید (از یدور کلسیم)،۰/٤ mg سلنیم.

داده های حاصل از کل آزمایشات با استفاده از رویه مدل های خطی نرم افزار آماری SAS (۲۰۰٥) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند(۱٦). برای بررسی اثرات متقابل بین فاکتورهای اصلی از روش ls means استفاده گردید. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال ٥ ٪ صورت پذیرفت. برای بررسی روندهای خطی(linear) و درجه دو (quadratic) سطوح روی و مس از مقایسات اورتوگنال پلی نومیال استفاده شد.

نتایج و بحث:

تیتر آنتی بادی علیه بیماریهای نیوکاسل، برونشیت و گامبورو:

تیتر آنتی بادی علیه ویروس گامبورو، ۱۲ روز پس از تزریق واکسن (جدول ۲) تحت تاثیر سطح مس جیره قرار گرفت (**P**<۰/۰۱). تیتر آنتی بادی علیه ویروس برونشیت نیز، ۱۲ روز پس از تزریق واکسن تحت تاثیر سطح مس جیره قرار گرفت (**P**=۰/۰۷). حیوانات دچار کمبود مس به طرق مختلف نارسایی هایی را در سیستم ایمنی نشان می‌دهند. مثلا این حیوانات دچار کاهش شدیدی در تعداد سلولهای **T** و به طور اختصاصی سلولهای **T** کمک کننده، می‌باشند (۸). همچنین حیوانات مبتلا به کمبود مس کاهشی را در واکنش سلولهای تولید کننده آنتی بادی، نشان می‌دهند که این عمل با افزایش حساسیت به عفونت بروز می‌کند(۱۸). با افزایش سطح مس، تیتر آنتی بادی علیه ویروس برونشیت در روز ۱۲ پس از تزریق واکسن به صورت درجه دو (**P**<۰/۰٥) افزایش پیدا کرد**.** افزایش مس جیره سبب افزایش مصرف خوراک (داده ها نشان داده نشدند) و در نتیجه افزایش قابلیت دسترسی کلیه سوبستراهای ساختمانی مورد نیاز برای سنتز اجزای سامانه ایمنی شده و

می‌تواند پاسخ های ایمنولوژیک بدن را بطرز گسترده ای تشدید کند. تیتر آنتی بادی علیه ویروسهای نیوکاسل، برونشیت و گامبورو تحت تاثیر سطح روی جیره قرار نگرفتند. همانند نتایج ما، نصیری مقدم و جهانیان (۲۰۰۹) گزارش کردند(۱۱)، هیچکدام از تیترهای آنتی بادی علیه سه بیماری مذکور به طور معنی داری تحت تاثیر سولفات روی در مقابل اکسید روی قرار نگرفتند. اما بر خلاف نتایج ما، بعضی تحقیقات گزارش کردند که افزودن ppm ٤٠ روی به جیره جوجه های گوشتی سبب افزایش تولید آنتی بادی می‌شود (٦). سایر محققین این اثر را مشاهده نکردند (١٤). همچنین هیچ اثر متقابلی بین روی و مس مشاهده نشد.
معنی دار شدن تیتر آنتی بادی علیه گامبورو پس از گذشت ۱۲ روز از تزریق واکسن، نشان دهنده تاثیر مثبت مکمل مس به پاسخهای دراز مدت است.

درصد جمعیت های مختلف سلولهای سفید خون:

بررسی اثرات اصلی نشان داد. افزایش سطح مس جیره، سبب افزایش جمعیت هتروفیل ها و همچنین افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت به صورت خطی ($P<۰/۰۱$) شد(جدول۲). در مقابل، جمعیت لنفوسیت ها با افزایش سطح مس به طور خطی ($P<۰/۰۱$) کاهش یافت. مشخص شده است که کمبود مس، اثر شگرفی بر جمعیت نوتروفیل ها و ماکروفاژها دارد (۱۳). تغییر نسبت هتروفیل به لنفوسیت، به عنوان یک شاخص در ارزیابیهای ایمونولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

جدول ۲. تاثیر سطوح مختلف روی و مس بر روی برخی پارامترهای ایمنی جوجه های گوشتی نر (اثرات اصلی)

	مس (mg/kg)			روی (mg/kg)			P- value							
پارامترها	۳۵	۷۰	۱۰۵	٤٠	۸۰	۱۲۰	مس	روی	مس روی	L^1_{Cu}	Q^2_{Cu}	L_{Zn}	Q_{Zn}	SE
هتروفیل	۱۸/۹۱^{b}	۲۰/۸^{b}	۲۷/۲۰^{a}	۲۵/٦٦	۲۰/۲۵	۲۱/۱٦	۰/۰۳	۰/۲۱	۰/۳۸	۰/۰۱	۰/٤۲	۰/۱٦	۰/۲٤	۲/۳۳
لنفوسیت	۷۸/٦٦^{a}	۷٦/۹^{ab}	٦۹/۸^{b}	۷۱/۸۸	۷۷/۵۸	۷۵/۸۳	۰/۰٤	۰/۱۱	۰/۳۸	۰/۰۲	۰/۵۵	۰/۰۸	۰/۱٦	۲/٤۸
$^{2}H / L$	۰/۲۵^{b}	۰/۲۸^{ab}	۰/٤۲^{a}	۰/۳۷	۰/۲٤	۰/۳۱	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۳٦	۰/۰۰۷	۰/۵٤	۰/۰٤	۰/۲۲	۰/۰٤
نیوکاسل	۲/۵۸	۲/۸۱	۳/۱۸	۳/۰٤	۲/۷۵	۲/۷۷	۰/۵۷	۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۳۱	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۳۸
برونشیت	۲/۱۱	۱/۷۱	۲/۱٤	۲/۱٦	۱/۸۱	۱/۹۹	۰/۰۷	۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۸٦	۰/۰۲	۰/٤۱	۰/۱٤	۰/۱٤
گامبورو	۰/۹۷^{b}	۱/۷۱^{a}	۱/٦۹^{a}	۱/۵۰	۱/۳۲	۱/۵٤	۰/۰۱	۰/٦۷	۰/۷۷	۰/۹٤	۰/۰۳	۰/۱۸	۰/٦٦	۰/۱۸

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر ردیف، از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند ($P<۰/۰۵$).

[۱ و ۲] اثر خطی (L) و درجه دو (Q) با استفاده از مقایسات ارتوگونال پلی نومیال

[۲] منظور نسبت هتروفیل به لنفوسیت است

هر عاملی که باعث تحریک سیستم ایمنی شود، می‌تواند بر شمار لنفوسیت های خون تاثیر افزاینده داشته باشد. همچنین سطوح بالای مس می‌تواند بر این زیر مجموعه از سلولهای سفید خون تاثیر منفی داشته باشد. مکمل روی جیره نسبت هتروفیل به لنفوسیت (H/L) را به صورت خطی ($P<۰/۰۵$) کاهش داد. ویردرن و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که جمعیت سلولهای تک هسته ای به کل لکوسیت ها، در نتاج مادرانی که کمپلکس آمینو اسیدی روی در یافت کرده بودند، افزایش یافت(۱۹). در بعضی مطالعات نشان داده شده است که، سطح ناکافی بین سلولی روی، سبب آسیب رساندن به تکثیر نفوسیت ها می شود و دلیل آن را اینطور ذکر کرده که سنتز DNA وابسته به روی می باشد (۲).

Viral Antibody Titer And Luekocyte subset Responses to Graded Copper and Zinc In Broiler chicks

S.hosseini and J.Arshamy
Ferdowsy university of Mashad

Abstract:
The aim of this study was to evaluate the effects of graded Cu and Zn on immune system of broiler chickens. A total of 400 day-old broilers were distributed into 10 treatments with 4 replicates using CRD design (3×3 factorial) with control diet. Chickens for 42 days received Cu (35, 70, 105 mg/kg diet) and Zn (40, 80, 120 mg/kg diet). On days 8, 12 and 15, chicks were vaccinated against Newcastle Disease Virus (NDV), Infectious Bronchitis Virus (IBV) and Infectious Bursal Disease (IBD), respectively. On day 42, one bird from each pen was bled for counting leukocytes. Data analysis showed no significant interaction between graded levels of Cu and Zn. The main effect means of titers increased by Cu at 105 ppm for NDV (day 12), IBV (day 12) and IBD (day 12). Graded levels of Cu significantly enhanced number of heterophils and ratio of heterophil to lymphocyte (H:L), but reduced number of lymphocytes ($P<0.05$). Conversely, graded Zn significantly decreased H:L ($P<0.05$), but increased lymphocytes and monocytes and decreased heterophils. In conclusion, supplementations of Cu and Zn promoted immune system in broilers.
Key Words: Copper, zinc, disease resistance, leukocyte subset, broiler

منابع:

Abdukalykova, S. T. and C. A. Ruiz-Feria. 2006. Arginine and vitamin E improve the cellular and humoral immune response of broiler chickens. Int. J. Poult. Sci. 5:121-127.
Cunningham-Rundles, S. and W. F. Cunningham-Rundles. 1988. Zinc modulation of immune response. In: Nutrition and immunology (Ed. R. K. Chandra). Alan, R. Liss Inc. New York, NY, pp. 197-214.
Fletcher, M. P., M. E. Gershwin, C. L. Keen and L. S. Hurley. 1988. Trace element deficiencies and immune responsiveness in human and animal models. In: Nutrition and Immunology (Ed. R. K. Chandra). Alan, R. Liss Inc. New York, NY, pp. 215-239.
Fordyce, E. J., R. M. Forbs, K. R. Robbins and J. W. Erdman, Jr. 1987. Phytate×calcium / zinc molar ratios. Are they predictive of zinc bioavailability? J. Food Sci. 52: 421-428.
Kidd, M. T., E. D. Peebles, S. K. Whitmarsh, J. B. Teatman and R. F. Wideman, Jr. 2001. Growth and immunity of broiler chicks as affected by dietary arginine. Poult. Sci., 80: 1535-1542.
Kidd, M. T., N. B. Anthony and S. R. Lee. 1992a. Progeny performance when dams and chicks are fed supplemental zinc. Poult. Sci. 71: 1201-1206.
Lucas, A. M. and C. Jamroz. 1961. Atlas of avian hematology agriculture monograph 25. USDA, Washington, DC.
Lukasewycz, O. A., J. R. Prohaska, G. S. Meyer, J. R.Schmidt, S. M. Hatfield and P. Marder. 1985. Alterations in lymphocyte subpopulations in copper-deficient mice. Infect. Immun. 48: 644-653.
Marquardt, W. W., D. D. Synder, p. k. Savage, S. K. Kadavil and F. S. Yancey. 1984. Antibody response to Newcastle disease virus given by two different routes as measured by ELISA and hemaglutination-inhibition test and associated tracheal immunity. Avian Dis. 29: 71-79.
Nassiri-Moghadam, H. and R. Jahanian. 2009. Immunological responses of broiler chicks can be modulated by dietary supplementation of zinc-methionin in place of inorganic zinc sources. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22: 396-403.
National Research Council. 1994. Nutrient Requiremants of Poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
Percival, S. 1998. Copper and immunity. Am. J. Clin. Nutr. 67: 1064S-1068S.

Pimentel, J. L., M. E. Cook and J. L. Greger. 1991. Immune response of chicks fed various levels of zinc. Poult. Sci. 70: 947-954.
Prohaska, J. R. and M. L. Failla. 1993. Copper and Immunity. In: (Klurfield D.M., Ed.) Human Nutrition: a comprehensive treatise. Vol. 8. Nutrition and Immunology. New York: Plenum Press, 1993: 309-332.
SAS Institute Inc. 2005. SAS/STAT User's Guide: Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
Stahl, J. L., J. L. Greger and M. E. Cook. 1989. Zinc, copper and iron utilization by chicks fed various concentrations of zinc. Br. Poult. Sci. 30: 123-134.
Suttle, N. F. and D. G. Jones. 1986. Copper and disease resistance in sheep: A rare natural confirmation of interaction between a specific nutrient and infection. Proc. Nutr. Soc. 45: 317-321.
Virden, W. S., J. B. Yeatman, S. J. Barber, K. O. Willeford, T. L. Ward, T. M. Fakler, R. F. Wideman, Jr. and M. T. Kidd . 2004. Immune system and cardiac functions of progeny chicks from dams fed diets differing in zinc and manganese level and source. Poult. Sci. 83: 344-351.
Waldroup, P. W. 2004. Dietary nutrient allowances in chickens and turkeys. Feedstuffs.76:42-47.