

بررسی اثرات مکمل اسید اسکوربیک، ویتامین E و بتائین بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

سیدمحمد معتمدی

دانشجوی دکترای تخصصی تغذیه دام و طیور، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی - مدرس دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: m_motamedi90@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۴/۸/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۵/۸/۵)

چکیده

به منظور بررسی اثرات ویتامین‌های C، E و بتائین بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۵ تکرار و ۳۰ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون افزودنی)، اسید اسکوربیک، ویتامین E، بتائین، ویتامین E به همراه بتائین و اسید اسکوربیک به همراه ویتامین E و بتائین (افزودنی‌ها) به جیره پایه بودند. در طول آزمایش صفات وزن، خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و تلفات اندازه‌گیری شدند. در سن ۳۵ روزگی جهت بررسی هورمون‌های T₃ و T₄ از هر تکرار دو پرندۀ انتخاب و از هر پرندۀ ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد و پس از جداسازی سرم با استفاده کیت‌های مربوطه میزان هورمون‌های فوق اندازه‌گیری شد. در سن ۲۸ روزگی عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و همچنین ایمنوگلوبولین‌های G و M مورد بررسی قرار گرفت. وزن زنده، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در سنین مختلف تحت تأثیر استفاده از افزودنی‌ها قرار نگرفت. تیمار اسید اسکوربیک، ویتامین E و بتائین ماندگاری و شاخص تولید بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت. ولی اختلاف آن با گروه شاهد معنی‌دار نبود و با گروه‌های تغذیه شده با ویتامین E، بتائین و ویتامین E اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند و همچنین ایمنوگلوبولین‌های G و M، درصد هماتوکریت و هورمون‌های T₃ و T₄ نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در نتیجه مکمل‌های مصرفی هیچ تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای مربوط به رشد، فراسنجه‌های خونی و همچنین ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی نداشت.

کلید واژه‌ها: اسید اسکوربیک، ویتامین E، بتائین، عملکرد، ایمنی، فراسنجه‌های خونی، جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

یکی از اهداف مهم در پرورش طیور، پیشگیری از وقوع بیماری‌ها از طریق اجرای صحیح برنامه‌های امنیت زیستی است و اگر احتمالاً نقصان در اجرای برنامه‌های امنیت زیستی پیش آید و بیماری حادث شود، باید مطمئن بود که طیور از نظر عملکرد سیستم ایمنی در حد مطلوبی قرار دارند و قادر به دفاع از خود در مقابل بیماری‌ها می‌باشند. کارآیی مطلوب سیستم ایمنی در این مرحله باعث کاهش تلفات و خسارات می‌شود. همچنین در راستای تأمین نیاز پروتئین جمعیت رو به افزایش کشور، محققین همواره سعی و تلاش وافر در امر افزایش تولیدات در کوتاه‌ترین زمان ممکن و با صرف حداقل هزینه و کمترین عوارض جانبی نموده و در دهه‌های اخیر توجهات خود را به استفاده از افزودنی‌های غذایی در جیره طیور جهت افزایش تولیدات آنها معطوف داشته‌اند. ویتامین‌ها به عنوان گروهی از ترکیبات آلی پیچیده، به مقدار اندک جهت انجام متابولیسم طبیعی بدن، مورد نیاز هستند. این مواد در طبیعت توسط میکروارگانیسم‌ها و گیاهان ساخته می‌شوند و بعضی از آنها نیز توسط بعضی از جانداران تکامل یافته تولید می‌شوند (McCormiek and Green, 1994). در صنعت، ویتامین‌ها بدون استثنا توسط فرآیندهای شیمیایی و میکروبی تولید می‌شوند. علی‌رغم این‌که ویتامین‌ها به عنوان مواد مغذی مخصوص شناخته شده‌اند، این مولکول‌های آلی دارای ساختمان شیمیایی غیرمشترک، وظایف و نقش‌های فیزیولوژیکی متنوع و نحوه عمل متفاوت می‌باشند (Miller, 1991). در زمینه تأثیر سطوح مختلف ویتامین‌ها بر

عملکرد جوجه‌های گوشتی تحقیقات متعددی صورت گرفته که نتایج متفاوتی در برداشته است. مایورکا و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند، حذف مکمل‌های ویتامینی و معدنی در جیره‌های بر پایه ذرت و کنجاله سویا در سنین مختلف اثر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی نداشته، اما بازده تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر حذف مکمل ویتامینی قرار گرفت (Maiorka et al., 2002). محققین در مطالعه‌ای دیگر دریافتند که حذف مکمل ویتامینی و معدنی تأثیری بر عملکرد و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی ندارد (Khajali et al., 2006). ویتامین E، یک ویتامین محلول در چربی با منشأ گیاهی بوده و برای عملکردهای تولیدمثلی، عصبی، ماهیچه‌ای و ایمنی ضروری می‌باشد. این ویتامین با تأثیر بر پیشرفت سیستم ایمنی از طریق تأثیر مستقیم بر سلول‌های ایمنی و تأثیر غیرمستقیم بر پارامترهای آندوکرینی و متابولیکی و همچنین از طریق افزایش بیگانه‌خواری ماکروفاژها و افزایش تولید آنتی‌بادی سبب تقویت سیستم ایمنی می‌شود. ویتامین E در تعدیل واکنش‌های متابولیسمی اسید آراشیدونیک از طریق واکنش‌های سیکلوژناز و لیپوکسیژناز منجر به تولید پروستاگلندین‌ها و لوکوترین‌ها می‌شود. بنابراین، ویتامین E تولید پروستاگلاندین PGE2 را از طریق متابولیسم‌های ذکر شده کاهش می‌دهد که این پروستاگلاندین یک عامل کاهنده عملکرد سیستم ایمنی است (Karaca et al., 1999). تحقیقاتی برای مقدار مصرف ویتامین E در جیره طیور انجام شده که نشان می‌دهد به‌طور معمول مقادیری حدود ۲۰ درصد بیش از مقدار ویتامین E توصیه شده NRC، مورد استفاده قرار

گروه نداشته ولی میزان فشار اکسیژن و درصد اکسیژن اشباع خون تفاوت معنی‌داری در برخی از هفته‌ها دارند (Daneshyar *et al.*, 2007). تقاضای بالای اکسیژن برای دستگاه گوارش سبب افزایش فشار بر سیستم قلبی - عروقی می‌شود که محققان این امر را یکی از علل سندرم آسیت می‌دانند (Ivatury *et al.*, 1996). هرگونه تغییر در الگوی فلور میکروبی دستگاه گوارش منجر به افزایش هزینه‌های مربوط به انرژی و پروتئین مصرفی شده و در نهایت نیاز اکسیژنی پرنده را افزایش می‌دهد. لذا توجه به ایجاد الگوی مناسب فلور در دستگاه گوارش می‌تواند از طریق بهبود سیستم ایمنی و کاهش هزینه‌های مربوط به تأمین اکسیژن در کاهش عوارض مرتبط با آسیت مؤثر باشد. با توجه به موارد ذکر شده، این تحقیق با هدف بررسی اثرات انفرادی و توأم ویتامین C، ویتامین E و بتائین بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات افزودنی‌ها بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۵ تکرار و ۳۰ قطعه جوجه گوشتی (سویه راس ۳۰۸) در هر تکرار انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل ۶ جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف ویتامین به شرح زیر بود: (۱) جیره پایه بر اساس توصیه‌های NRC (۱۹۹۴)، (۲) جیره پایه + ۲۵۰ میلی‌گرم ویتامین C به‌ازای هر کیلوگرم جیره، (۳) جیره پایه + ۲۵۰ میلی‌گرم ویتامین E به‌ازای هر کیلوگرم جیره، (۴) جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم

می‌گیرد، اما با وجود تحقیقات انجام شده در مورد ویتامین E هنوز از نظر مقدار استفاده از این ویتامین در جیره‌های غذایی طیور جهت رسیدن به بهترین وضعیت پاسخ سیستم ایمنی ابهام وجود دارد (Tengerdy, 1990). ویتامین C (اسید آسکوربیک) می‌تواند در شرایط تنش گرمایی به ویژه هم‌زمان با تزریق واکسن بر اثرات منفی ناشی از تنش گرمایی غلبه کند و موجب تقویت سیستم ایمنی و دفاعی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی گردد (Mc Kee and Harrison, 1995). ویتامین C از جمله موادی است که استفاده از آن برای غلبه بر شرایط تنش گرمایی در طیور مورد توجه بوده و در این زمینه مورد مطالعه قرار است. همچنین ویتامین C از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در ریه توانایی کاهش آسیت را در پرندگان دارد (Ladmakhi *et al.*, 1997). بتائین ۳ یا تری‌متیل‌گلیسین، از فرآورده‌های فرعی صنعت قند می‌باشد که به علت داشتن گروه‌های متیل به عنوان یک اسمولیت آلی عمل می‌کند. این ماده در کبد ساخته می‌شود. بتائین خوراکی از طریق جیره یا آب آشامیدنی وارد تمام سلول‌های بدن شده و در تنظیم فشار اسمزی مؤثر است. این امر در شرایط تنش گرمایی و افزایش اسیدیته خون (آلکالوزیس) مهم می‌باشد (Farooqi *et al.*, 2005). محققان در طرحی دیگر با بررسی وراثت-پذیری و همبستگی گازهای خونی با صفات مرتبط با آسیت بیان داشتند گازهای خونی نمی‌توانند معیار مناسبی برای نشان دادن حساسیت به آسیت باشند (Closter *et al.*, 2009). طی مطالعه‌ای دیگر با بررسی گازهای خونی دو تیمار شاهد و آسیت مشاهده کردند که میزان فشار دی‌اکسیدکربن تفاوت معنی‌داری در دو

بتائین به‌ازای هر کیلوگرم جیره ۵) مخلوط جیره‌های سوم و چهارم، ۶) مخلوط جیره‌های دوم، سوم و چهارم. مکمل‌های ویتامینی فوق‌الذکر از سن ۳۵ روزگی

به جیره غذایی اضافه شدند. اجزاء جیره‌ها و ترکیب شیمیایی آنها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- ترکیب و اجزاء متشکله جیره‌های آغازین، رشد و پایانی (همه اجزاء به درصد)

اجزاء متشکله	جیره آغازین ۰-۱۴	جیره رشد ۱۵-۲۸	جیره پایانی ۲۹-۴۲
ذرت	۵۴/۵۰	۵۴/۵۰	۵۴/۵۰
کنجاله سویا (۴۴ درصد)	۲۴/۵۰	۲۳/۰۸	۱۸/۴۷
گندم	۱۲/۸۵	۹/۰۲	۳/۱۰
جو	۰/۰۰	۸/۰۰	۸/۰۰
پودر چربی گیاهی	۰/۳۷	۰/۸۱	۳/۰۰
پودر ماهی	۳/۰۰	۰/۹۱	۰/۸۲
سبوس گندم	۰/۰۰	۰/۰۰	۷/۰۰
پودر یونجه	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰
پودر استخوان	۱/۱	۰/۰۰	۰/۰۰
پودر صدف	۰/۵۵	۱/۹	۱/۶۳
دی کلسیم فسفات	۰/۷۴	۱/۲۹	۲/۲۶
نمک طعام	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی-ال-متیونین	۰/۲۳	۰/۰۶	۰/۰۷
لیزین	۱/۰۱	۰/۰۰	۰/۰۰
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ترکیبات محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم***	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۰۱	۱۸/۸۵	۱۷/۲۱
کلسیم (درصد)	۰/۸۹	۰/۷۹	۱/۱۹
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۷	۰/۴۵	۰/۶۹
فیبر خام (درصد)	۳/۵۱	۳/۷۰	۳/۹۸
لیزین (درصد)	۱/۸۲	۰/۹۴	۰/۸۰
دی-ال-متیونین (درصد)	۰/۴۹	۰/۳۵	۰/۳۴
سیستین + متیونین (درصد)	۰/۸۳	۰/۶۵	۰/۵۴

*** هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی دارای ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱/۸ میلی‌گرم ویتامین B1، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B2، ۳۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۳ میلی‌گرم ویتامین B6، ۱ میلی‌گرم ویتامین B9، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12، بیوتین ۰/۱ میلی‌گرم، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید می‌باشد.
** هر کیلوگرم از مکمل مواد معدنی دارای ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز (اکسید منگنز)، ۵۰ میلی‌گرم آهن (سولفات آهن 7H2O)، ۵۰ میلی‌گرم روی (اکسید روی)، ۱۰۰ میلی‌گرم مس (سولفات مس 5H2O)، ۱ میلی‌گرم ید (یدات کلسیم) و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم (سدیم سلنیت) می‌باشد.
*** (کیلوکالری به ازای کیلوگرم)

هماتوکریت تعیین گردید. برای تعیین تیترا پاسخ کل (IgM + IgG) از روش هم‌گلوتیناسیون (Isakov *et al.*, 2005) میکروتیترا (HI) استفاده شد. در هنگام قرائت نمونه‌ها لگاریتم در مبنای ۲ عکس آخر رقتی که در آن هم‌گلوتیناسیون دیده می‌شود، به‌عنوان عیار پادتنی ثبت گردید. برای اندازه‌گیری IgM و IgG که اجزاء پاسخ ایمنی به SRBC هستند، آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (2-Mercaptoethanol) که در حقیقت IgG هست، جداسازی شد و با کسر این مقدار از پاسخ کل، آنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول (MES) که معرف IgM می‌باشد، به‌دست آمد (Delhanty *et al.*, 1966). پس از اتمام دوره آزمایش، داده‌های صفات تولیدی مربوط به هر تیمار به صورت هفتگی با استفاده از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۳- سال ۲۰۰۵) داده‌پردازی و توسط مدل آماری زیر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میانگین‌های حاصل از روش حداقل مربعات با استفاده از نرم‌افزار SAS (۱۹۹۰) و روش GLM مورد مقایسه قرار گرفتند. برای کاهش اثر تفاوت در وزن جوجه‌ها، وزن شروع آزمایش به عنوان عامل کواریت در نظر گرفته شد.

$$x_{ij} = \mu + \delta_j + E_{ij} + B(X_{ijk} - X_{...})$$

$$x_{ij} = \text{مقدار مشاهده شده}$$

$$\mu = \text{میانگین جامعه}$$

$$E_{ij} = \text{اثر خطای آزمایش}$$

$$\delta_j = \text{اثر هر تیمار}$$

$$B(X_{ijk} - X_{...}) = \text{اثر کواریت وزن شروع آزمایش}$$

در طول آزمایش صفات وزن، خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و تلفات به صورت هفتگی مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره، درصد ماندگاری و شاخص تولید محاسبه شد. در سن ۳۵ روزگی جهت بررسی هورمون‌های T₃ و T₄ از هر تکرار دو پرنده انتخاب گردیده و از هر کدام به میزان ۲ میلی‌لیتر خون‌گیری انجام شد که پس از جداسازی سرم با استفاده از کیت‌های الایزا (محصول پیش‌تاز طب) و طبق دستوالعمل‌های پیشنهادی و به کمک دستگاه الایزا ریدر (stat fax 303 USA)، هورمون‌های یدو تیروزین T₃ و T₄ اندازه‌گیری شد. در سن ۲۸ روزگی از هر تکرار (واحد آزمایش) ۲ پرنده انتخاب و ۰/۶ میلی‌لیتر محلول سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی (SRBC، تهیه شده از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج) که سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده شده بود، از طریق ورید بال به پرندگان تزریق گردید. ۷ روز بعد از تزریق از پرندگان مزبور نمونه‌های خون جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون به مدت ۱ روز در شرایط آزمایشگاهی نگه‌داری شد و سرم خون جدا گردید (خون به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم جدا گردید). ابتدا نمونه‌های سرم جهت ختنی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل آن با پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه گذاشته شد. همچنین برای اندازه‌گیری هماتوکریت خون، تا دو سوم لوله مویینه از خون پر گردیده و در خمیر هماتوکریت قرار داده شد تا قسمت انتهایی آن پر و مسدود گردد. سپس در دور ۱۰۰۰۰ تا ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه میکروسانتریفیوژ نموده و با استفاده از خط‌کش مخصوص، درصد

یافته‌ها

نیز معنی‌دار نبود. بررسی اثرات استفاده از افزودنی‌ها نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر درصد ماندگاری و شاخص تولید در کل دوره (جدول ۲) معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).

نتایج اثرات مصرف مکمل‌ها بر فراسنجه‌های عملکردی در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود وزن بدن در سنین مختلف تحت تأثیر استفاده از افزودنی‌ها قرار نگرفت. همچنین اثر افزودنی‌ها بر خوراک مصرفی و ضریب تبدیلی غذایی

جدول ۲- اثرات تیمارها بر فراسنجه‌های عملکردی، شاخص تولید و درصد ماندگاری در سنین مختلف

P-value	SEM	ویتامین C + ویتامین E + بتائین	ویتامین E + بتائین	بتائین	ویتامین E	ویتامین C	شاهد	
وزن زنده (گرم)								
NS	۰/۳۹	۱۸۱	۱۷۹	۱۸۰	۱۸۱	۱۸۱	۱۸۰	۷ روزگی
NS	۲/۴۵	۲۹۲	۲۹۱	۲۹۴	۲۹۸	۲۹۴	۲۹۱	۱۴ روزگی
NS	۵/۰۱	۷۸۲	۷۹۱	۷۹۴	۷۸۷	۷۸۴	۷۹۹	۲۱ روزگی
NS	۸/۹۹	۱۲۷۸	۱۲۶۸	۱۲۳۵	۱۲۶۴	۱۲۴۵	۱۲۶۳	۲۸ روزگی
NS	۱۴/۸۹	۱۸۶۱	۱۸۶۷	۱۸۹۴	۱۸۳۱	۱۸۴۷	۱۸۲۷	۳۵ روزگی
NS	۱۹/۰۵	۲۳۹۴	۲۳۷۵	۲۴۰۱	۲۳۷۵	۲۳۶۸	۲۳۴۵	۴۲ روزگی
خوراک مصرفی (گرم)								
NS	۲/۳۱	۳۵۷	۳۵۴	۳۳۳	۳۲۴	۳۴۲	۳۳۴	۱۴-۰ روزگی
NS	۹/۶۰	۱۰۶۵	۱۰۹۷	۱۱۲۵	۱۰۲۱	۱۰۶۰	۱۰۵۴	۲۱-۰ روزگی
NS	۱۱/۲۶	۱۸۶۳	۱۸۷۱	۱۸۲۱	۱۸۵۶	۱۸۷۵	۱۸۹۶	۲۸-۰ روزگی
NS	۲۷/۲۱	۳۰۴۵	۳۰۵۸	۳۰۱۴	۳۰۲۴	۳۰۲۵	۳۰۹۵	۳۵-۰ روزگی
NS	۴۵/۲۱	۴۴۰۱	۴۳۹۶	۴۳۵۶	۴۳۵۱	۴۳۲۵	۴۳۲۵	۴۲-۰ روزگی
ضریب تبدیلی غذایی								
NS	۰/۰۰۷	۱/۱۷۶	۱/۱۶۴	۱/۱۳۱	۱/۱۸۷	۱/۱۲۴	۱/۱۴۵	۱۴-۰ روزگی
NS	۰/۰۴۸	۱/۳۶۹	۱/۹۴۱	۱/۳۶۵	۱/۲۷۸	۱/۳۴۴	۱/۲۵۴	۲۱-۰ روزگی
NS	۰/۰۸۹	۱/۵۱۸	۱/۱۹۴	۱/۴۵۲	۱/۵۹۸	۱/۳۴۵	۱/۴۷۸	۲۸-۰ روزگی
NS	۰/۰۰۸	۱/۶۲۵	۱/۶۶۶	۱/۷۱۶	۱/۶۸۱	۱/۶۲۳	۱/۶۵۴	۳۵-۰ روزگی
NS	۰/۰۱۳	۱/۸۲۹	۱/۸۴۶	۱/۷۹۹	۱/۷۸۱	۱/۸۱۱	۱/۸۲۱	۴۲-۰ روزگی
درصد ماندگاری								
*	۱/۴۵	۹۹/۱۵ ^a	۸۷/۲۱ ^c	۹۰/۳۹ ^{abc}	۸۸/۳۲ ^{bc}	۹۴/۶۵ ^{ab}	۹۸/۷۵ ^{ab}	کل دوره
شاخص تولید								
*	۳/۹۹	۳۰۹/۰۴ ^a	۲۶۳/۴۳ ^b	۲۷۵/۸۹ ^b	۲۹۲/۲۹ ^b	۳۱۰/۱۲ ^a	۲۸۱/۲۲ ^a	کل دوره

* - نشانه معنی‌داری در سطح ($p < 0.05$). عدم درج حروف و یا وجود حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم وجود تفاوت آماری بین تیمارها است ($p < 0.05$).

ایمنوگلوبولین‌های M و G اثر معنی‌دار ندارد. اثرات تیمارها بر فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ آمده است. بررسی درصد هماتوکریت و هورمون‌های T₄ و T₃ نشان داد که این افزودنی‌ها بر فراسنجه‌های ذکر شده اثر معنی‌داری ندارند.

اثرات تیمارهای مختلف بر عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) و ایمنوگلوبولین‌های M و G در جدول ۳ ارائه شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که استفاده از افزودنی‌های مختلف به‌طور انفرادی و توأم بر پاسخ‌های ایمنی عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی و

جدول ۳- اثرات تیمارها بر فراسنجه‌های مربوط به ایمنی و فراسنجه‌های خونی

تیمارها	SRBC	ایمنوگلوبولین G	ایمنوگلوبولین M	هماتوکریت (درصد)	T ₃ نانوگرم در دسی لیتر	T ₄ نانوگرم در دسی لیتر
شاهد	۸/۴۰	۳/۵۵	۴/۴۵	۲۶/۴۱	۳/۶۵۴	۳/۱۲۴
شاهد+ ویتامین C	۷/۷۰	۳/۲۹	۳/۸۰	۳۲/۰۸	۴/۰۲۱	۴/۸۷۱
شاهد+ ویتامین E	۷/۶۵	۳/۱۴	۲/۷۴	۳۱/۱۷	۴/۴۵۶	۴/۱۹۴
شاهد+ بتائین	۶/۴۵	۲/۹۹	۳/۹۲	۲۶/۸۵	۵/۱۰۱	۳/۲۵۸
شاهد+ ویتامین E + بتائین	۷/۲۷	۳/۶۷	۳/۶۴	۲۷/۴۰	۳/۱۹۸	۳/۴۷۵
شاهد+ ویتامین C + ویتامین E + بتائین	۷/۹۸	۲/۹۶	۴/۰۴	۳۲/۷۵	۴/۴۸۱	۴/۳۷۳
SEM	۰/۲۱	۰/۱۷	۰/۲۲۴	۰/۸۳	۰/۲۸۷	۰/۲۰۱
سطح معنی‌داری	NS	NS	NS	NS	NS	NS

== نشانه معنی‌داری در سطح ($p < 0.05$). عدم درج حروف یا وجود حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم وجود تفاوت آماری بین تیمارها است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از جیره حاوی مخلوط مکمل‌های ویتامین C + ویتامین E + بتائین دارای بالاترین درصد ماندگاری (۹۹/۱۵) بوده و تیمار حاوی ویتامین E + بتائین کمترین درصد ماندگاری (۸۷/۲۱) را داشت. بالاترین شاخص تولید ۳۱۰/۱۲، ۳۰۹/۰۴ و ۲۹۲/۲۹ به ترتیب مربوط به گروه‌های ویتامین C، ویتامین C + ویتامین E + بتائین و ویتامین E بود. در مطالعه پورون و همکاران در سال ۱۹۹۴، استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C در جیره تأثیر مثبتی بر وزن زنده، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی نداشت. همچنین، استفاده از بتائین نیز بر صفات عملکردی تأثیر معنی‌داری نگذاشت (Puron et al., 1994). از آنجایی که مکمل‌های معدنی و ویتامینی حاوی مقادیر مورد نیاز

بتائین برای رشد هستند، استفاده از سطوح بالاتر این ماده مغذی تأثیری بر صفات عملکردی ندارد. نتایج استفاده از این ترکیبات بر عملکرد جوجه‌های گوشتی ضد و نقیض بوده و به شرایط محیطی بستگی دارد. این افزودنی‌ها عموماً در شرایط استرس عملکرد بهتری نشان می‌دهند (Meimandipour et al., 2010). در این تحقیق استفاده از ویتامین E اثر معنی‌داری بر فراسنجه‌های عملکردی نداشت. استفاده توأم از ویتامین C، ویتامین E و بتائین سبب بهبود درصد زنده‌مانی شده و با تیمارهای حاوی بتائین و همچنین ویتامین E + بتائین تفاوت معنی‌داری داشت که این نتایج در شاخص تولید نیز مشاهده می‌شود. دلیل این امر، آن است که ویتامین C از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود عملکرد و پاسخ‌های

آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ داخلی نظیر توکوفرول‌ها، گلوتاتیون، اسید اوریک و اسید اسکوربیک، اولین خط دفاعی در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌باشند. مشاهده شده است که در میتوکندری سلول‌های جوجه‌های گوشتی دچار سندرم آسیت سطوح گلوتاتیون، α توکوفرول و γ توکوفرول کاهش می‌یابد (Cawthorn *et al.*, 2001). همچنین غلظت‌های اسید اسکوربیک و گلوتاتیون کبد و ریه جوجه‌های پرورش‌یافته در شرایط القاءکننده آسیت کاهش می‌یابد، که این به معنی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد در بافت‌های کبد و ریه است (Enkvetchakul *et al.*, 1993). بنابراین تغییر وضعیت‌های آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی در طول پیشرفت آسیت که از طریق افزایش در نشانگرهای رادیکال‌های آزاد در بافت آسیب دیده تشخیص داده می‌شود، استرس اکسیداتیو را در طول آسیت نشان می‌دهد. به‌طور کلی بعد از شناخت اثرات پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از ال‌کارنیتین، از این ماده برای مقابله با آسیت بهره گرفته شده است. طی گزارشی اعلام شد که ویتامین C نقش اساسی در سنتز لوکوسیت‌ها به ویژه فاگوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها که قسمت اعظمی از سیستم ایمنی و دفاعی بدن طیور محسوب می‌شوند، داشته و به این ترتیب موجب کاهش چشمگیری در درصد تلفات گله می‌گردد (Null, 2001). در آزمایشی دیگر گزارش شده است که استفاده از مکمل حاوی ویتامین E به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم همراه با ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A در کیلوگرم جیره، سبب تغییرات متابولیکی ناشی از تنش گرمایی شده است که دلیل احتمالی آن نقش مثبت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E در ارتباط با رادیکال‌های آزاد

ایمنولوژیک همورال و وابسته به سلول می‌شود. بتائین نیز به عنوان یک عامل متیل‌دهنده سبب بهبود سلامت کبد و انجام فرآیندهای بیوشیمیایی می‌گردد. گزارش شده است که استفاده از بتائین از طریق آب آشامیدنی در پرندگانی که به مدت ۶ ساعت تحت تاثیر تنش حرارتی (۳۷ درجه سلسیوس) قرار داشتند، موجب بهبود صفات تولیدی و میزان ماندگاری در سن ۴۸ روزگی می‌شود (Gross, 1988). اتیولوژی آسیت را در سه مقوله: الف) افزایش فشار خون ریوی، ب) آسیب‌های گوناگون قلبی و ج) آسیب‌های سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد تقسیم‌بندی کرده‌اند که نقص در استفاده از اکسیژن برای تمامی موارد بالا مشترک می‌باشد (Currie, 1999). میتوکندری‌ها به عنوان نیروگاه‌های سلولی، مصرف‌کننده اصلی اکسیژن می‌باشند و حدود ۲ درصد از کل اکسیژن مصرفی در فعالیت‌های اکسیداسیونی آنها، تبدیل به رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود. علاوه بر این، در بعضی از شرایط خاص از جمله هنگام کمبود اکسیژن، افزایش فعالیت هورمون‌های تیروئیدی و متابولیکی و کاهش میزان آنتی‌اکسیدان‌های سلولی، میزان تولید رادیکال‌ها به شدت افزایش می‌یابد (Hassanzadeh *et al.*, 2002). نهایتاً رادیکال‌های آزاد و دیگر ذرات فعال اکسیژن بر اثر پراکسیداسیون مولکول‌های چربی موجود در غشاهای سلول و اندامک‌های مهم داخل سلول بافت‌های حیاتی بدن مانند قلب، ریه، کبد و سلول‌های اندوتلیال عروق، سبب تخریب غشاهای آنها و نشت مایعات به خارج سلول می‌شوند، که این روند در فرآیند ایجاد آسیت از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. در پرندگان،

بررسی هماتوکریت خون بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد وجود نداشت.

هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر افزودنی‌های مختلف بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بود که از دو طریق کاهش رادیکال‌های آزاد و حفظ سلامتی بافت‌های قلب و کبد عمل می‌کنند، بود. ولی، با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش اخیر، استفاده از این افزودنی‌ها بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری نداشت که این امر احتمالاً می‌تواند به سطح مورد استفاده از افزودنی‌های مذکور مربوط باشد. بر این اساس پیشنهاد می‌گردد که در تحقیقات بعدی سطوح استفاده از این مکمل‌ها افزایش یابد.

سپاسگزاری

در پایان ضمن اعلام عدم وجود هیچ‌گونه تضاد منافعی، بر خود فرض می‌دانم از تمامی همکاران عزیز که در اجرای این آزمایش ما را یاری نمودند، خصوصاً اساتید موسسه تحقیقات علوم دامی کشور تقدیر و قدردانی نمایم.

ایجاد شده ناشی از تنش گرمایی است (Sahin et al., 2002). نتایج به دست آمده از تیتراژ آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، ایمونوگلوبین G (IgG) و ایمونوگلوبین M (IgM)، نشان داد بین پرندگان تغذیه شده با جیره فاقد مکمل ویتامینی و پرندگان تغذیه شده با جیره‌های دارای سطوح مختلف مکمل ویتامینی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نتایج حاصل از پاسخ سیستم ایمنی، با یافته‌های حاصل از تحقیقات برخی محققین مطابقت و با نتایج به دست آمده از دیگر تحقیقات در تضاد است (Coelho and Mcnaughton, 1995; Deyhim and Teeter, 1993). همچنین در بررسی هورمون‌های تیروئیدی اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد. افزایش هماتوکریت یک فعالیت جبرانی است که به دنبال هیپوکسی و به علت افزایش فعالیت اریتروپوئیتین اتفاق می‌افتد. نتایج تحقیقات مختلف حاکی از آن است که در جوجه‌های مبتلا به آسیت میزان هماتوکریت خون افزایش پیدا می‌کند (Cueva et al., 1974). در این مطالعه هیچ اثر معنی‌داری در

منابع

- Cawthorn, D., Beers, K and Bottje, W.G. (2001). Electron transport chain defect and inefficient respiration may underlie pulmonary hypertension syndrome (ascites)-associated mitochondrial dysfunction in broilers. Poultry Science, 80: 474-484.
- Closter, A.M., Van As, P., Groenen, M.A.M., Vereijken, A.L.J., Van Arendonk, J.A.M. and Bovenhuis, H. (2009). Genetic and phenotypic relationships between blood gas parameters and ascites-related traits in broilers. Poultry Science, 88: 483- 490.

- Currie, R.J.W. (1999). Ascites in poultry: recent investigations. *Avian Pathology*, 28: 313-326.
- Cueva, S., Sillau, H., Valenzuela, A. and Ploog, H. (1974). High altitude induced pulmonary hypertension and right heart failure in broiler chickens. *Research Veterinary Science*, 16: 370-374.
- Coelho, M.B. and Mcnaughton, J.L. (1995). Effect of composite vitamin supplementation on broilers. *Applied Poultry Research*, 4 (3): 219-299.
- Daneshyar, M., Kermanshahi, H. and Golian, A. (2007). Changes of blood gases, internal organ weights and performance of broiler chickens with cold induced ascites. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2: 729-735.
- Decuypere, E., Buyse, J. and Buys, N. (2000). Ascites in broiler chickens: exogenous and endogenous structural and functional causal factors. *World's Poultry Science Journal*, 56: 367-376.
- Delhanty, J. and Solomon, J.B. (1966). The nature of antibodies to goat erythrocytes in the developing chicken. *Immunology*, 11: 103-113.
- Deyhim, F. and Teeter, R.G. (1993). Dietary vitamin and/or trace mineral premix effects on performance, humeral mediated immunity and carcass composition of broilers during thermo neutral and high ambient temperature distress. *Applied Poultry Research*, 2: 347-355.
- Enkvetchakul, B., Bottje, W., Anthony, N., Moore, R. and Huff, W. (1993). Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. *Poultry Science*, 72: 2272-2280.
- Farooqi, A.G. Khan, M.A. Rabbani, M., Perviz, K. and Khan, J.A. (2005). Evaluation of Betaine and Vitamin C in Alleviation of Heat Stress in broilers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 5: 744-746.
- Gross, W. (1988). Effect of ascorbic acid on antibody response of stressed and unstressed chickens. *Avian Diseases*, 32: 483-485.
- Hassanzadeh, M., Buyse, J. and Decuypere, E. (2002). Further evidence for the involvement of cardiac- adrenergic receptors in right ventricle hypertrophy and ascites in broiler chickens. *Avian Pathology*, 31: 177-181.
- Ivatury, R.R., Simon, R.J., Islam, S., Fueg, A., Rohman, M. and Stahl, W.M. (1996). A prospective randomized study of end points of resuscitation after major trauma: Global oxygen transport indices versus organ- specific gastric mucosal pH. *Journal of the American College of Surgeons*, 183:145-154.
- Isakov, N., Feldmann, M and segel, S. (2005). The mechanism of modulation of humoral immuno responses after injection of mice with SRBC. *Journal of Immunology*, 128: 969-975.
- Khajali, F., Asadi, K.E. and Zamani, M.A.K. (2006). Effect of vitamin and trace mineral withdrawal from finisher diets on growth performance and immune competence of broiler chickens. *British Poultry Science*, 47: 159-162.
- Karaca, M., Johnson, E. and Lamont, S.J. (1999). genetic line and major histocompatibility complex effects on primary and secondary antibody responses to T-dependent and T-independent antigens. *Poultry Science*, 78: 1518-1525.
- Ladmakhi, M.H., Buys, N., Dewil, E., Rahimi, G. and Decuypere, E. (1997). The prophylactic effect of vitamin C supplementation on broiler ascites incidence and plasma thyroid hormone concentration. *Avian Pathology*, 26: 33- 44.

- Luger, D., Shinder, D., Rzepakovsky, V., Rusal, M. and Yahav, S. (2001). Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrome in broiler chickens. *Poultry Science*, 80: 965-971.
- Maiorka, A., Laurentiz, A.C., Santin, E., Araujo, L.F. and Macari, M. (2002). Dietary vitamin or mineral mix removal during the finisher period on broiler chicken performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 11: 121-126.
- McCormiek, D. B. (1994). Vitamins. In: Tietz textbook of clinical chemistry. McCormiek, D.B. and Green, H.L. editors. 2nd ed., Philadelphia: Saunders Company, pp: 1251-1295.
- Mc Kee, J.S. and Harrison, P.C. (1995). Effect of supplemental ascorbic acid on the performance of the broiler chicken exposed to multiple concurrent stressors. *Poultry Science*, 74: 1772-1785.
- Meimandipour, A., Hair-Bejo, M., Shuhaimi, M., Azhar, K., Soleimani, A.F., Rasti, B., *et al.* (2010). Gastrointestinal tract morphological alteration by unpleasure physical contact and modulating role of *Lactobacillus* in broiler. *British Poultry Science*, 51: 52-59.
- Miller, S.M. (1991). Clinical chemistry, principles, procedures, correlations. 2nd ed., New York: Lippicott, pp: 215-235.
- MINITAB. (2005). Teaching Statistics. MINITAB® French Release 14.
- National Research Council (NRC). (1994). Nutrient requirements of poultry. National Academe Press. Washington. D.C.
- Null, G. (2001). The antioxidant vitamin- vitamin c. WWW.Vitamin c foundaion.org.DOCREP/ARTICLE.
- Pakdel, A. (2004). Genetic analysis of ascites-related traits in broilers. PhD thesis, Wageningen University. Wageningen, The Netherlands, pp: 133.
- Puron, D., Santamaria, P. and Segura, J.C. (1994). Effect of Sodium Bicarbonate, Acetylsalicylic and Ascorbic acid on broiler performance in a tropical environment. *Journal of Applied Poultry Research*, 3: 141-145.
- Sahin, K., Sahin, N., Onderci, M., Gursu, M.F. and Cikim, G. (2002). Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. *Biological Trace Element Research*, 89: 53- 64.
- SAS: Institute. (1990). SAS user: s Guide: Statistics, Version 6, 4th ed., SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- Tengerdy, R.P. (1990). The role of vitamin E in immune response and disease resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 587: 24-33.

Effect of supplementing ascorbic acid, vitamin E and betaine on the performance, immune response and blood parameters in broiler chickens

Motamedi, S.M.

Ph.D. Student of Animal and Poultry Nutrition, Department of Animal Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Lecturer of Payam-e-Noor University, Tehran, Iran.

*Corresponding author's email: m_motamedi90@yahoo.com

(Received: 2015/11/2 Accepted: 2016/10/26)

Abstract

In order to investigate the effects of vitamins C and E and betaine on performance, immune response and blood parameters of broiler chickens, an experiment was conducted with completely randomized block design consisting of 6 treatments and 5 replicates with 30 chicks in each replicate. The groups were assigned to receive the treatment diets as follows: diet with no feed additive (control); diet supplemented with vitamin C; diet supplemented with vitamin E; diet supplemented with betaine; diet supplemented with vitamin E and betaine; diet supplemented with vitamin E, vitamin C and betaine. Body weight, feed intake, body weight gain, feed conversion ratio and mortality were determined over the course of the experiment. At 35 days of age, two birds per replicate were randomly selected and 2 ml blood sample was collected to measure plasma concentration of T3 and T4 hormones. IgM and IgG antibody response to SRBC were also determined at 28 days of age. Body weight, FI and FCR were not affected by different treatments over the course of the study. Broilers fed diet supplemented with vitamin C, vitamin E and betaine showed the highest survival percentage and production index as compared with the other treatments. But it was not significantly different with the control group. IgM and IgG antibody response to SRBC, hematocrit percentage and plasma concentration of T3 and T4 also were not affected by different dietary treatments. The results of this experiment showed that there were no significant differences among the treatments in the performance, immune response and blood parameters of broiler chicken.

Conflict of interest: None declared.

Key words: Ascorbic acid, Vitamin E, Betaine, Performance, Immunity, Blood parameters, Broiler chicken.