تاثیر نانوذرات سلنیوم و سلنیت سدیم بر شاخص‌های ایمنی هومورال بلدرچین‌های تحت‌استفاده از غذاهای آلوده به آفلاتوکسین B_1

ابراهیم طالبی*[۱]، افسانه عابدی[۲]، احسان رحیمی[۳]، مریم خسروی‌نژاد[٤]

۱- استادیار گروه مهندسی علوم دامی، واحد داراب، دانشگاه آزاد اسلامی، داراب، ایران.
۲- کارشناسی ارشد میکروب شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
۳- کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی تهران، واحد بین الملل، کیش، ایران.
٤- کارشناسی ارشد مهندسی پلیمر، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: talebi226@iaudarab.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۱۹ پذیرش نهایی: ۹٦/۵/٤)

چکیده

سلنیوم یک ماده معدنی کمیاب و ضروری برای سلامت طیور و نیز یکی از بیوکاتالیزورها و اجزای پرشمار عملکرد آنزیم‌هاست که جهت بهبود عملکرد سیستم ایمنی، سلامتی و عملکرد تولیدی لازم است. مطالعه حاضر به منظور بررسی قابلیت مهار آفلاتوکسین B_1 توسط دو منبع مختلف سلنیومی و مقایسه اثر نانوسلنیوم و سلنیت سدیم بر ایمنی هومورال بلدرچین‌ها انجام گردید. تعداد ۲٤۰ قطعه جوجه بلدرچین در شش گروه آزمایشی شامل ۱- کنترل، بدون آفلاتوکسینB_1 و بدون نانوسلنیوم و سلنیت سدیم، ۲- با ppm ۱ آفلاتوکسینB_1 و بدون نانوسلنیوم و سلنیت سدیم، ۳- ppm ۱ آفلاتوکسین B_1 با ppm ۰/۳ نانوسلنیوم، ٤- ppm ۱ آفلاتوکسین B_1 با ppm ۰/۳ سلنیت سدیم، ۵- ppm ۱ آفلاتوکسین B_1 با ppm ۰/٦ نانوسلنیوم، ٦- ppm ۱ آفلاتوکسین B_1 با ppm ۰/٦ سلنیت سدیم، و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در ٤ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه اختصاص یافتند. به منظور بررسی پاسخ ایمنی هومورال ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند در ۳۵ روزگی به عضله سینه بلدرچین تزریق و یک هفته بعد از تزریق خون‌گیری انجام شد. واکسن نیوکاسل در ۲۸ روزگی تزریق و دو هفته بعد تیتر آنتی‌بادی تعیین شد. بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی علیه سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند (SRBC) مربوط به گروه دریافت کننده ppm ۰/٦ نانوسلنیوم بود (p<۰/۰۱). نتایج نشان داد که نانوسلنیوم در مقایسه با سلنیت سدیم منجر به بهبود سیستم ایمنی هومورال و پارامترهای بیوشیمیایی سرم می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آفلاتوکسین، بلدرچین، سلنیوم، ایمنی هومورال.

مقدمه

امروزه آلودگی محصولات کشاورزی به آفلاتوکسین‌ها یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت جامعه بوده و کشورهای مختلف با توجه به خطرات جدی مایکوتوکسین‌ها قوانین و مقررات ویژه‌ای برای تولید، مصرف و واردات مواد غذایی تنظیم نموده‌اند (Amir Allama and Razzaghi Abyan, 2002; Talebi *et al.*, 2011). در ایالات متحده مواد غذایی و دارویی که بیش از ppb ۲۰ آفلاتوکسین کل و ppb ۱۵ آفلاتوکسین B_1 داشته باشد، قابل خرید و فروش و یا صادرات و واردات نیستند (Gouram and Bullerman, 1995). از طرفی قارچ‌های تولیدکننده توکسین در همه جای محیط یافت شده و می‌توانند به مواد خوراکی هجوم بیاورند و متابولیت‌های ثانویه سمی تحت عنوان مایکوتوکسین‌ها را تولید کنند (Bagherzadeh Kasmani *et al.*, 2012). مایکوتوکسین‌های مختلفی چون تریکوتسن‌ها، اکراتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها، فومونیزین‌ها، اسید-سیکلوپیازونیک، اُاُسپورین، سیترینین، آلکالوئیدهای ارگوت، فوزاروکرومانون، اسیدفوزاریک، مونیلفورمین و زیرالنون وجود دارند (Leeson and Summers, 2001). این مواد با درجات سمیت متفاوتی انسان و دام‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند(Jelinek *et al.*, 1989). شیوع مایکوتوکسین‌ها جهانی است و اختلالات سلامتی ناشی از آنها یکی از دلایل پایین بودن طول عمر در کشورهای در حال توسعه است (Williams *et al.*, 2004; Krogh, 1987; Goldblatt, 1976).

آفلاتوکسیکوزیس در پرندگان با نشانه‌هایی همانند بی‌حالی، کم‌اشتهایی به همراه کاهش رشد، کاهش راندمان غذایی و افزایش حساسیت به استرس‌های میکروبی و محیطی و افزایش مرگ و میر همراه است (Huwing *et al.*, 2001). به‌طورکلی، در اثر بروز آفلاتوکسیکوزیس تغییراتی در برخی از شاخص‌های خون و بیوشیمیایی سرم پرندگان به وجود می‌آید که می‌توان به کاهش مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و درصد لمفوسیت‌ها، افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید و درصد هتروفیل‌ها اشاره نمود (Raju and Devegowda, 2000).

به منظور برطرف نمودن آلودگی از غذاها و منابع غذایی آلوده به آفلاتوکسین‌ها از روش‌های گوناگونی استفاده می‌گردد. در تمام این روش‌ها که شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشد، هدف اصلی عبارت از تجزیه، تخریب، غیرفعال نمودن یا جدا کردن سم است. اگر چه مایکوتوکسین‌ها و مسمومیت‌های حاصل از آن‌ها صدها سال است که شناخته مانده‌اند، ولی اطلاعات بشر در خصوص نحوه بیماری‌زایی و مسمومیت حاصل از آن‌ها به دنبال کشف آفلاتوکسین‌ها در سال ۱۹۶۰ (در انگلستان) توسعه چشمگیری پیدا کرد و از آن زمان به بعد تحقیق روی مایکوتوکسین‌ها و به خصوص آفلاتوکسین‌ها به‌طور عموم گسترش یافت (Zhang *et al.*, 2001).

سلنیوم یکی از عناصر کمیاب است که نقش اساسی در حیات جانداران به‌خصوص مهره‌داران را ایفا می‌کند. در سال‌های اخیر اهمیت سلنیوم در تغذیه دام و طیور مشخص گردیده است. یکی از مهم‌ترین نقش‌های این عنصر شرکت در ساختمان گلوتاتیون‌پراکسیداز است. سلنیوم دارای اثرات متعددی شامل خواص ضدسرطانی، مسمومیت‌زدایی، محافظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو یا پیرشدن، محافظت حیوانات در مقابل اختلال تغذیه عضلانی (Myodystrophy) و حتی ماده مغذی برای درمان ایدز می‌باشد. این عنصر همچنین خواص منحصر به فردی در بیوشیمی و زیست‌شناسی مولکولی دارد. لذا،

تحقیق در علم تغذیه را به هدفی هیجان‌انگیز تبدیل می‌کند (Tanaka *et al*., 2001). عنصر سلنیوم نقش بهبود دهنده در لیپوپروتئین‌های پلاسما و از آن جمله تأثیر بر کاهش میزان کلسترول پلاسمای خون، کاهش LDL-C، افزایش HDL-C و نیز کاهش میزان تری‌گلیسرید پلاسما دارد (Surai, 2002). این عنصر به عنوان بخشی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز درون سلولی، اولین و دومین سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسیدکننده را ایجاد می‌کند. آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز جهت کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی ضروری است (Jia *et al*., 2005). از طرف دیگر، گزارش شده است که نانوسلنیوم در تنظیم سلنوآنزیم‌ها کارآیی بالاتری دارد و سمیت کمتری از سلنیت نشان می‌دهد (Hatfied, 2001; Shotwell *et al*., 1996 Wang *et al*., 2007). بنابراین، زمانی‌که اندازه ذرات به مقیاس نانومتر کاهش می‌یابد، خواص جدیدی مانند اثر کوانتومی و واکنش‌پذیری بالا در محدوده‌ای وسیع‌تر آشکار می‌سازند.

هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر نانوذرات سلنیوم و سلنیت سدیم بر شاخص‌های ایمنی هومورال بلدرچین‌های تحت استفاده از غذاهای آلوده به آفلاتوکسین B_1 بود.

مواد و روش‌ها

- **آماده‌سازی سالن و مدیریت پرورش:** برنامه نوری اجرا شده در سالن، برنامه نوردهی مداوم در سه شبانه‌روز اول و۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در بقیه ایام دوره پرورش بود. روشنایی سالن توسط لامپ‌های ٤٠ واتی تأمین شد. تهویه سالن به وسیله یک عدد هواکش موجود در دیوار انتهایی سالن و دو عدد پنجره ورودی هوا که روی دیوار سر سالن تعبیه شده بود، تأمین گردید.

- **جیره‌ها و گروه‌های آزمایشی:** تعداد ٢٤٠ قطعه جوجه یک روزه به شش گروه آزمایشی شامل: ١- کنترل، بدون آفلاتوکسین B_1 و بدون نانوسلنیوم و سلنیت سدیم، ٢- ١ ppm آفلاتوکسین B_1 و بدون نانوسلنیوم و سلنیت سدیم، ٣- ١ ppm آفلاتوکسین B_1 با ٠/٣ ppm نانوسلنیوم، ٤- ١ ppm آفلاتوکسین B_1 با ٠/٣ ppm سلنیت سدیم، ٥- ١ ppm آفلاتوکسین B_1 با ٠/٦ ppm نانوسلنیوم، ٦- ١ ppm آفلاتوکسین B_1 با ٠/٦ ppm سلنیت سدیم، در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در ٤ تکرار و هر تکرار شامل ١٠ جوجه اختصاص یافتند. ترکیبات جیره پایه مورد استفاده در این آزمایش بر اساس احتیاجات توصیه NRC و بر پایه ذرت و سویا و با استفاده از مکمل‌های معدنی فاقد سلنیوم تنظیم شد (جدول ١).

جدول ۱- اجزای جیره‌های غذایی و ترکیبات شیمیایی آن‌ها

ترکیب جیره پایه	درصد جیره
ذرت	۵۰/۷۰
کنجاله سویا	۳۵/۰۰
گلوتن	٤/۷۰
برنج	۲/۱۸
روغن گیاهی	۳/۱٤
دی‌کلسیم فسفات	۱/٤۸
پودر صدف	۱/۳۸
لیزین	۰/۲۲
بی‌کربنات سدیم	۰/۳٤
*مکمل ویتامینه	۰/۲۵
*مکمل معدنی	۰/۲۵
نمک یددار	۰/۰۳
DL-متیونین	۰/۲۳
L-ترئونین	۰/۱
ترکیب شیمیایی محاسبه‌شده	-
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/٦۳
لیزین قابل هضم (درصد)	۱/۱۸
ترئونین قابل هضم (درصد)	۰/۸۳
تریپتوفان قابل هضم (درصد)	۰/۲۳
متیونین قابل هضم (درصد)	۰/۵۵
متیونین+سیستئین (درصد)	۰/۸٦
کلسیم (درصد)	۰/۹۵
فسفر غیرفسفاته (درصد)	۰/٤۵
تعادل کاتیون-آنیون (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	۲۵۰

هر ۲/۵ کیلوگرم مکمل معدنی حاوی: ۹۹۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۴۷۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۹۹۰ میلی‌گرم ید، ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ترکیبات مکمل ویتامین شامل A، D، E و K

- **تولید آفلاتوکسین** B1: جهت تولید آفلاتوکسین B_1 از نمونه استاندارد *Aspergillus parasiticus* PTCC-5286 استفاده شد. برای کشت اولیه قارچ از محیط سابرو دکستروز آگار استفاده شد و pH نهایی این محیط در حد ۵/٦ تنظیم گردید. سپس محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سیلسیوس و فشار PSI ۱۵در داخل اتوکلاو استریل شد. سویه قارچ فوق روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار کشت داده شد و به مدت ۵ روز در

دمای ۲۸ درجه سیلسیوس نگه‌داری گردید. اسپورهای قارچی در حجم معینی از آب مقطر استریل به حالت تعلیق درآورده شدند، به این صورت که به هر یک از لوله‌های محیط کشت حاوی اسپور قارچ، مقداری آب مقطر استریل به همراه چند قطره Tween-۲۰ اضافه شد و پس از تهیه سوسپانسیون یکنواخت اسپور قارچ، میزان اسپور موجود در هر میلی‌لیتر آب مقطر توسط لام هماسیتومتر شمارش شد.

به منظور تولید انبوه قارچ و افزایش میزان سم از فلاسک‌های یک لیتری استفاده گردید، به این ترتیب که در هر فلاسک مقدار ۱۵۰ گرم برنج به همراه ۷۵ میلی‌لیتر آب ریخته شد. این مواد به خوبی مخلوط شد و فلاسک‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵ PSI اتوکلاو و سپس خنک شدند. پس از آن در زیر دستگاه هود در شرایط کاملاً استریل مقدار $۶/۵\times۱۰^{۶}$ الی $۷/۵\times۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی به داخل فلاسک‌ها تلقیح گردید. فلاسک‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سیلسیوس در انکوباتور مجهز به مخلوط‌کن قرار داده شد و قبل از اندازه‌گیری آفلاتوکسین نمونه‌ها به روش TLC (Thin Layer Chromatography) مراحل زیر انجام گرفت. برای استخراج آفلاتوکسین از برنج، از حلال‌های آلی از قبیل متانول، کلروفرم و استون استفاده شد. در این آزمایش برای استخراج از روش BF (Best Foods) استفاده شد (Shotwell *et al.*, 1996) و برای جلوگیری از تولید آفلاتوکسین بیشتر، ابتدا برنج‌های آلوده در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ٤٨ ساعت در داخل آون خشک شدند و برای استخراج و حذف چربی موجود در برنج از هگزان نرمال استفاده گردید. پس از استخراج آفلاتوکسین موجود در برنج، برای تجزیه کمی و کیفی آفلاتوکسین B_1 موجود در این عصاره‌ها، از روش متداول کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) استفاده شد.

- **تهیه نانوسلنیوم**: مواد مورد استفاده برای تهیه نانو-سلنیوم، دی‌اکسید سلنیوم و اسید آسکوربیک محصول شرکت مرک آلمان بود (Zhang *et al.*, 2004). برای تهیه نانوذرات قرمزرنگ سلنیوم روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی متعددی وجود دارد که در این مطالعه از یک روش شیمیایی بر اساس فاز محلول، استفاده گردید. در این روش از وجود پلیمرهای قابل‌حل در آب به عنوان تثبیت‌کننده‌های مؤثر و امولسیفایر در سنتز کلوئیدی سلنیوم استفاده شد. از جمله پلی‌ساکاریدهای طبیعی یا اصلاح شده، کیتوزان، گلوکومانان، صمغ اقاقیا، کربوکسی-متیل‌سلولز است که به عنوان تثبیت‌کننده در سنتز نانو-ذرات‌سلنیوم مورد استفاده قرار گرفتند. استفاده از پلیمر-های مختلف در تولید نانوذرات با سایزهای متفاوت مؤثر است و شکل‌گیری و رشد ذرات نانوسلنیوم به حضور آن‌ها بستگی دارد. مواد اولیه مورد استفاده شامل دی-اکسیدسلنیوم (SeO_2)، اسید اسکوربیک و پلی‌ساکاریدها است.

- **ایمنی هومورال**: در سن ۳۵ روزگی به همه پرنده‌ها مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول‌قرمز گوسفند ۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق عضله سینه تزریق گردید. هفت روز پس از تزریق گلبول‌قرمز، از پرنده‌ها از طریق ورید بال حدود ۱ میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون یک شب در دمای آزمایشگاه نگه-داری شدند تا سرم از لخته‌خون جدا شود. سرم به دست آمده با سرعت ٤٠٠٠ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم‌ها بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی نگه‌داری شدند و برای تعیین تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه گلبول قرمز

گوسفند از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد (Qureshi and Havenstein, 1994; Peterson *et al.*, 1999).

– **تعیین تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل:** واکسن نیوکاسل (سویه لاسوتا) در ۲۸ روزگی از طریق قطره‌چشمی تجویز شد. دو هفته بعد از واکسیناسیون، از ۲ قطعه پرنده از هر گروه آزمایشی از طریق ورید بال خون گرفته شد. پس از جدا شدن سرم از لخته خون، به منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس واکسن نیوکاسل از روش HI (Haemagglutination Inhibition) استفاده شد.

– **نمونه‌برداری از اندام‌های داخلی بدن جوجه‌ها:** در سن ٤٢ روزگی از هر گروه آزمایشی ۲ پرنده جهت نمونه‌برداری از اندام‌های داخلی توزین و سپس کشتار شدند. طحال و بورس‌فابرسیوس هر پرنده جهت تعیین وزن‌نسبی این اندام‌ها نسبت به وزن‌زنده جدا شده و بلافاصله با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱± گرم توزین گردید.

– **مدل آماری طرح:** این آزمایش به‌صورت طرح بلوک-های کاملاً تصادفی انجام گردید و مدل آماری طرح عبارت بود از:

$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$ که در آن، Y_{ijk}: مقدار مشاهده شده، μ: میانگین، T_i: اثر تیمار، B_j: اثر بلوک و e_{ijk}: اثر خطا است.

کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SAS رویه GLM انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

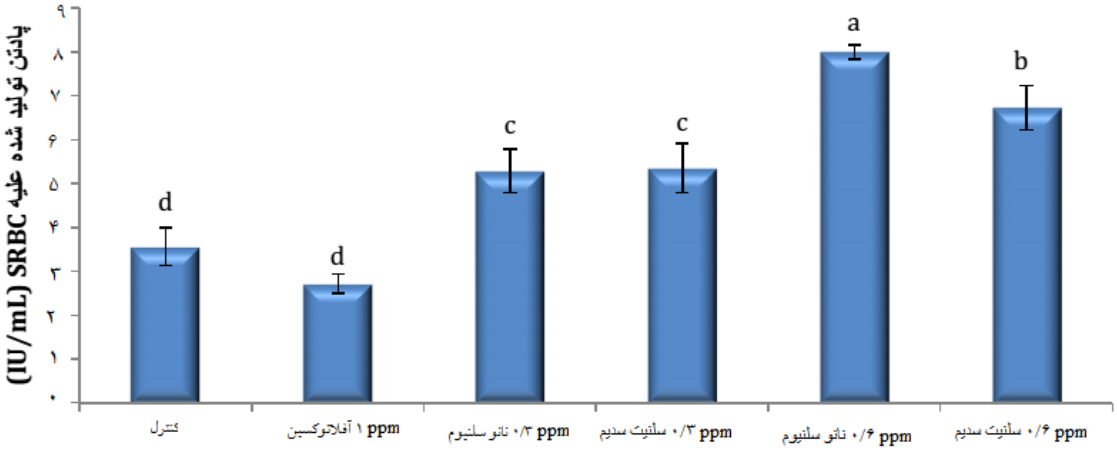
یافته‌ها

جدول ۲ و نمودار ۱ مربوط به تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه محلول گلبول قرمز گوسفند می‌باشد که نشان می‌دهد تولید آنتی‌بادی علیه محلول SRBC به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی اعمال‌شده قرار گرفت (p<۰/۰۱). گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ppm ۰/٦ نانوسلنیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشترین میزان آنتی‌بادی علیه محلول SRBC را تولید کردند و کمترین میزان آنتی‌بادی تولیدشده مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ppm ۱ آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی بود. تیتر آنتی‌بادی با افزایش سطح منابع سلنیومی افزایش نشان داد و بین تیمارها تفاوت معنی‌داری (p<۰/۰۱) مشاهده گردید.

جدول ۲ – تجزیه واریانس داده‌ها مربوط به تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه محلول گلبول قرمز شسته‌شده گوسفند (SRBC) در بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین B_1

منابع متغیر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	p
تیمار	۵	۷۵/۷٦	۱۵/۱۵	۷۰/۰۸**	۰/۰۰۰۱
بلوک	۳	۰/۰٤	۰/۰۱۵	۰/۰۷ ns	۰/۹۷۵
خطا	۱۵	۳/۲٤	۰/۲۱		

**: در سطح ۱٪ معنی‌دار است، *: در سطح ۵٪ معنی‌دار است، ns: معنی‌دار نیست.



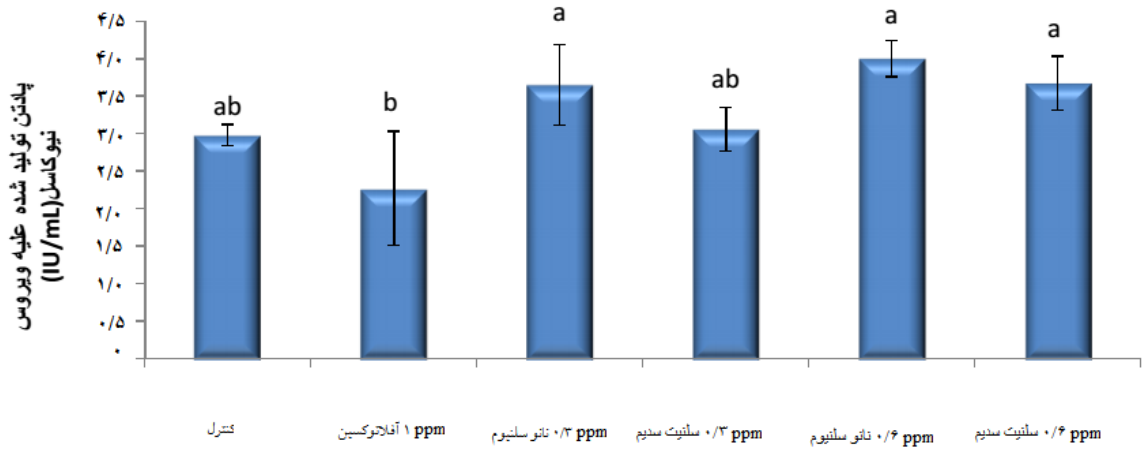
نمودار ۱- مقایسه میانگین تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه گلبول‌های قرمز گوسفند در بلدرچین‌ها با استفاده از تیمارهای مختلف

جدول ۳ و نمودار ۲ مربوط به تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل می‌باشد که نشان می‌دهد تولید آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی اعمال شده قرار گرفت (p<۰/۰۱). گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/٦ ppm نانوسلنیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشترین میزان آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل را تولید کردند. کمترین میزان آنتی‌بادی تولیدشده مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱ ppm آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی می‌باشد. تیتر آنتی‌بادی با افزایش سطح منابع سلنیومی افزایش و تنها در گروه استفاده‌کننده از ۰/۳ ppm سلنیت سدیم نسبت به گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۱ ppm آفلاتوکسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۳ – تجزیه واریانس داده‌ها مربوط به تیترآنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین B_1

منابع متغیر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	p
تیمار	۵	۷/۸۵	۱/۵۷	۷/۹۰**	۰/۰۰۱
بلوک	۳	۰/۵۵	۰/۱۸	۰/۹۳ ns	۰/٤٥۲
خطا	۱۵	۲/۹۸	۰/۱۹		

**: در سطح ۱٪ معنی‌دار است، *: در سطح ۵٪ معنی‌دار است، ns: معنی‌دار نیست.



نمودار ۲ – مقایسه میانگین تیترآنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل در بلدرچین‌ها با استفاده از تیمارهای مختلف

جدول ٤ مربوط به تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه محلول گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، واکسن نیوکاسل (ND)، وزن نسبی طحال و بورس‌فابرسیوس می‌باشد که نشان می‌دهد تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه محلول گلبول قرمز گوسفند به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی اعمال شده قرار گرفت (p<۰/۰۱). گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/٦ ppm نانوسلنیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشترین میزان آنتی‌بادی علیه محلول SRBC را تولید کردند و کمترین میزان آنتی‌بادی تولیدشده مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱ ppm آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی بود. تیتر آنتی‌بادی با افزایش سطح منابع سلنیومی افزایش نشان داد و بین تیمارها تفاوت معنی-داری مشاهده شد (p<۰/۰۱). تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (p<۰/۰۱) که گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۰/٦ ppm نانوسلنیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشترین میزان آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل را تولید کردند. کمترین میزان آنتی‌بادی تولیدشده مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱ ppm آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی بود. تیتر آنتی‌بادی با افزایش سطح منابع سلنیومی افزایش نشان داد. تنها در گروه استفاده‌کننده از ۰/۳ ppm سلنیت سدیم نسبت به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱ ppm آفلاتوکسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. وزن نسبی طحال بطور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (p<۰/۰۱). وزن نسبی طحال در گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/٦ ppm نانوسلنیوم نسبت به گروه کنترل و گروه استفاده‌کننده از ۱ ppm آفلاتوکسین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های استفاده کننده از نانوسلنیوم و گروه استفاده‌کننده از سلنیت سدیم مشاهده نشد. بیشترین وزن نسبی طحال در گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ۰/٦ ppm نانوسلنیوم نسبت به

گروه کنترل و کمترین وزن آن مربوط به گروه استفاده‌کننده از ppm ۱ آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی بود. همچنین، وزن نسبی بورس‌فابرسیوس به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی اعمال شده قرار گرفت ($p<۰/۰۱$). وزن نسبی بورس‌فابرسیوس در گروه‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ppm ۰/٦ نانوسلنیوم نسبت به گروه تغذیه‌شده با جیره آلوده به ppm ۱ آفلاتوکسین افزایش یافت. بیشترین وزن نسبی بورس‌فابرسیوس مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره حاوی ppm ۰/٦ نانوسلنیوم و کمترین وزن آن مربوط به گروه تغذیه‌شده با جیره آلوده به ppm ۱ آفلاتوکسین بدون منابع سلنیومی بود.

جدول ٤ - اثر آفلاتوکسین B_1، نانوسلنیوم و سلنیت سدیم بر میانگین تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه محلول گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، واکسن نیوکاسل (ND) و وزن‌نسبی اندام‌های لنفاوی بلدرچین

تیمارهای آزمایشی	SRBC	ND	وزن طحال	وزن بورس‌فابریسیوس
کنترل	۳/۵۷±۰/٤۳^{d}	۲/۹۸±۰/۱٤^{ab}	۰/۰۵۹±۰/۰۰٤^{b}	۰/۰۷۵±۰/۰۰٤^{ab}
آفلاتوکسین	۲/۷۲±۰/۲۲^{d}	۲/۲۷±۰/۷٦^{b}	۰/۰٤٦±۰/۰۰۳^{c}	۰/۰٦٦±۰/۰۰۲^{b}
۰/۳ نانوسلنیوم	۵/۲۹±۰/۵۰^{c}	۳/٦۵±۰/۵٤^{a}	۰/۰٦۸±۰/۰۰۳^{ab}	۰/۰۷۷±۰/۰۰٦^{ab}
۰/۳ سلنیت سدیم	۵/۳۵±۰/۵٦^{c}	۳/۰٦±۰/۲۹^{ab}	۰/۰٦۵±۰/۰۰٦^{ab}	۰/۰۷۳±۰/۰۰۵^{b}
۰/٦ نانوسلنیوم	۷/۹۹±۰/۱٦^{a}	٤/۰۰±۰/۲٤^{a}	۰/۰۷۵±۰/۰۰۵۲^{a}	۰/۰۸۵±۰/۰۰٤^{a}
۰/٦ سلنیت سدیم	٦/۷۳±۰/۵۰^{b}	۳/٦۷±۰/۳٦^{a}	۰/۰٦۹±۰/۰۰۵^{a}	۰/۰۷۷±۰/۰۰۳^{ab}
p-value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲
SEM	۰/۱۸۳	۰/۱۹٦	۰/۰۰۰۱۹	۰/۰۰۰۲۱

حروف متفاوت بین میانگین‌های هر تیمار مشخص‌کننده اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد است.

بحث و نتیجه‌گیری

آفلاتوکسین‌ها در طیف وسیعی از مواد خوراکی دام و طیور وجود دارند و یکی از اصول مهم جهت کنترل بیماری‌ها و بهداشت، کنترل آلودگی‌های خوراک دام و طیور می‌باشد. آفلاتوکسین‌ها به‌عنوان موثرترین مایکوتوکسین‌ها می‌توانند باعث آتروفی بورس‌فابریسیوس، تیموس و طحال شوند. معمولاً حیوانات جوان، بیشتر در مقابل آسیب‌های ناشی از این‌گونه ترکیبات قرار دارند که با علائمی همچون اختلالات گوارشی، کم‌خونی، زردی، کاهش غذای‌مصرفی و بهره‌وری، تأثیرات خود را نشان می‌دهند. اثرات آفلاتوکسین‌ها بر حیوانات بسته به غلظت و طول مدت تماس، گونه، نژاد و جیره، متفاوت خواهد بود. آفلاتوکسین‌ها علاوه بر کاهش راندمان تولید گوشت و تخم‌مرغ و افزایش آسیب‌پذیری در برابر بیماری‌ها، تضعیف سیستم ایمنی با افزایش احتمال بروز کوکسیدوز، عفونت خون حاصل از کلی‌باسیل‌ها و بیماری سالمونلا، کاهش تیتر آنتی‌بادی خون و عدم پاسخ مناسب به واکسیناسیون، افزایش بروز مشکلات پا، سندرم افتادگی‌بال و افزایش مرگ و میر را به‌همراه دارند.

پژوهشگران، اثر مکمل‌های سلنیوم بر عملکرد رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پاسخ ایمنی در بره‌های نر را بررسی کردند. مقایسه منابع آلی و غیر آلی حاکی از آن بود که مکمل سلنیوم از طریق منبع آلی و غیرآلی باعث بهبود عملکرد و میزان رشد بره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پاسخ ایمنی‌هومورال گردید، ولی سلنیوم آلی نسبت به منبع غیرآلی مؤثرتر بود و پاسخ ایمنی با واسطه آنتی‌بادی بره‌ها از طریق استفاده از ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل به صورت معنی‌دار افزایش یافت (Kumara *et al.*, 2009). همچنین محققین گزارش نمودند که استفاده از جیره‌های حاوی ۰/۱۵ ppm از منابع مختلف سلنیوم منجر به افزایش وزن جوجه‌های گوشتی می‌شود (Bunk and Combs, 1980).

تأثیر نانوسلنیوم بر عملکرد، کیفیت گوشت، ایمنی، سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و محتوای سلنیوم بافت در جوجه-های گوشتی بررسی شد و نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در عملکرد، رنگ گوشت، شاخص اندام‌های ایمنی بدن (تیموس، بورس و طحال) وجود نداشت. بهترین اثر با دوز ۰/۳ ppm نانوسلنیوم و بدترین اثر با دوز ۲ ppm نانوسلنیوم بر پارامترها مشاهده گردید (Cai *et al.*, 2012). بر این اساس سطح ۰/۳ تا ۰/۵ ppm مناسب‌ترین سطح و حداکثر مکمل نانوسلنیوم می‌تواند حدود ۱ ppm باشد.

اثرات آنتی‌اکسیدانی، پراکسیدانی، زیست‌فراهمی و سمیت سلنیوم به فرم شیمیایی آن بستگی دارد. تحقیقات نشان داد که عنصر سلنیوم در اندازه نانو دارای سمیت کمتری است. در مقایسه با سلنومتیونین عنصر نانوسلنیوم دارای اثربخشی یکسانی در افزایش فعالیت گلوتاتیون - پراکسیداز و تیرودوکسین ردوکتاز است. اما دارای سمیت پایین‌تری و دوز کشنده و آسیب کبدی متوسط و مسمومیت کوتاه‌مدت است. نتایج نشان می‌دهد که نانو-سلنیوم می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با کاهش خطر سمیت عمل کند (Wang *et al.*, 2007).

اثر آفلاتوکسین B_1 بر کبد موجب تضعیف سیستم ایمنی‌ذاتی می‌شود که مهم‌ترین علامت سمیت آفلاتوکسین B_1 است (Yunus *et al.*, 2011). داده‌های اپیدمیولوژیکی اخیر نیز همبستگی بالا بین شیوع بیماری نیوکاسل و آلودگی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به آفلاتوکسین را نشان می‌دهد (Yunus *et al.*, 2008; Yunus *et al.*, 2009). به‌طورکلی، دوز ایمونوتوکسیک آفلاتوکسین B_1 را کمتر از دوز مورد نیاز برای کاهش عملکرد پرنده در نظر می‌گیرند. دوز آستانه آفلاتوکسین B_1 به ترتیب ۰/٤ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای اثرات منفی روی ایمنی با واسطه سلولی و ایمنی هومورال گزارش شده است. پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی می‌تواند بسته به سطح و مدت زمان قرار گرفتن در معرض سم افزایش یا کاهش یابد. بنابراین، یک توضیح ایمونوتوکسیسیتی از آفلاتوکسین B_1 (Azzam and Gabal, 1998)، می‌تواند مهار تولید آنتی‌بادی از طریق اثرات سم روی لنفوسیت‌ها باشد که منجر به افزایش انتقال آنتی‌بادی سرم و در نتیجه کاهش نیمه عمر آنتی‌بادی می‌شود. پژوهشگران گزارش کردند آفلاتوکسین B_1 موجب انحطاط فولیکول اپیتلیوم در بورس‌فابرسیوس و ساختار قشر تیموس جوجه‌ها می‌شود (Klich *et al.*, 2000). بر اساس گزارش محققین هر اختلال عملکرد در این فولیکول‌ها ممکن است به نقایص جدی در پاسخ‌های ایمنی سلولی و آنتی‌بادی‌های ایمنی هومورال بدن جوجه-ها منجر شود (Tung *et al.*, 1970). فولیکول‌های مرتبط به اپیتلیوم بورس‌فابرسیوس نقش بسیار مهمی در ارائه آنتی‌ژن به سلول‌های لنفاوی بازی می‌کنند. علاوه بر اثرات

آفلاتوکسین بر لنفوسیت‌ها، اثرات سم روی سنتز پروتئین از طریق مهار RNA پلی‌مراز، پراکسیداسیون لیپید و آسیب کبدی نیز منجر به کاهش تولید ایمونوگلوبین می‌شود (Yunus *et al*., 2011). از طرفی عوامل بیماری‌زا باعث می‌شوند سیستم ایمنی پرنده تحریک و در نتیجه به جای این‌که مواد مغذی جهت ساختن پروتیئن و عضلات به‌کار روند در سیستم ایمنی حیوان استفاده شوند (Chaturvedi *et al*., 2004).

کمبود سلنیوم منجر به کاهش پاسخ ایمنی از طریق اختلال در فعالیت نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لوکوسیت‌ها می‌گردد. مکانیسم این عمل به گونه‌ای است که در اثر کاهش میزان سلنیوم، گلوتاتیون پراکسیداز کاهش یافته و تولید هیدروپراکسیدهای لیپیدی و پراکسیدها افزایش یابد. این عمل منجر به متراکم شدن و افزایش مواد سمی در نوتروفیل‌ها و در نتیجه کاهش عملکرد نوتروفیل‌های سیستم ایمنی می‌گردد (Wen *et al*., 1998).

سلنیوم با تأثیر بر اینترفرون‌ها و آدنوزین‌مونوفسفات حلقوی سلولی منجر به کاهش رشد سلولی شده و در نتیجه مقاومت نسبت به پاتوژن را افزایش و رشد پاتوژن را کند می‌کند. استفاده از سلنیوم پاسخ ایمنی را از طریق افزایش ترشح سایتوکین‌ها و افزایش تولید سلول‌های کمک‌کننده ارتقاء می‌بخشد. این افزایش ترشح سایتوکین‌ها از طریق تأثیر بر تحریکات میتوژنیک انجام می‌گیرد که آزادشدن سایتوکین‌ها سبب افزایش ورود مواد غذایی به درون جریان خون شده و بدین وسیله رشد سلول‌ها، سریع و ساخته‌شدن ترکیبات ایمنی‌ساز افزایش می‌یابد. از طرفی ماکروفاژها مبادرت به ترشح عامل نکروز سلول‌های توموری و ۲- IL کرده که منجر به افزایش کاتابولیسم ماهیچه‌ای و ورود موادغذایی به خون شده تا قدرت سیستم ایمنی افزایش یابد (Burton *et al*., 1977).

از سوی دیگر سلنیوم در بدن به فرم فعال‌زیستی خود یعنی سلنومتیونین تبدیل‌شده، در نتیجه می‌توان استنباط کرد که ایمنوگلبولین‌ها از منابع اسید آمینه ساخته می‌شوند و سنتر آن‌ها ممکن است توسط اسیدهای آمینه مختلفی تحت تأثیر قرار گیرد که در این راستا وجود سلنومیتونین نیز مؤثر خواهد بود. سلنومتیونین جانشین اسید آمینه متیونین بوده که دارای ساختاری مشابه هستند، اما به‌جای سولفور از سلنیوم استفاده شده است. علت استفاده از آن هم این است که tRNA متیونین توانایی تفکیک و تشخیص این دو را از هم ندارد (Yang *et al*., 2000).

نتایج این مطالعه نشان داد تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC در تیمارهای مختلف استفاده‌کننده از منابع سلنیومی روند افزایشی دارد.

پژوهشگران اثرات سطوح مختلف سلنیوم (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم برکیلوگرم) بر سیستم ایمنی بلدرچین‌های ژاپنی را مورد بررسی قرار دادند (Biswas *et al*., 2006). نتایج آن‌ها نشان داد که جوجه‌های دریافت‌کننده جیره‌ی حاوی ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بالاترین تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC را دارا بودند. محققین دیگری طی آزمایشی تأثیر سطوح مختلف ویتامین E و سلنیوم بر پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که در سه هفته ابتدایی دوره پرورش، هر دو ماده مغذی برای عملکرد بهینه ایمنی مورد نیاز هستند، اما از آن پس ویتامین E و سلنیوم یا سلنیوم به تنهایی کافی است. اما، نشان داده شده است که تداوم شرایط تنش‌گرمایی موجب افزایش نیاز به سلنیوم در سنین بالاتر شده است (Marsh *et al*., 1981).

بر اساس جدول ٤ تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه واکسن ویروس نیوکاسل در بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین نشان می‌دهد که آفلاتوکسین B_1 در سطح ۱ ppm باعث کاهش معنی‌دار در تیتر آنتی‌بادی در جوجه‌ها شد. این یافته با نتایج حاصل از دیگر آزمایشات در سطح ۱ و ۲/۵ ppm آفلاتوکسین B_1 مطابقت دارد (Ibrahim *et al*., 2011; Shivachandra *et al*., 2003).

در بررسی حاضر وزن اندام‌های لنفوئیدی به طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تیمارها قرار گرفت به‌طوری که، وزن نسبی بورس‌فابرسیوس بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین B_1 به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این یافته با نتایج به دست آمده توسط سایر محققین در جوجه‌هایی که با مقادیر ۲/۵ و ۵ ppm آفلاوکسین B_1 در جیره غذایی تغذیه شده بودند، مطابقت دارد (Verma *et al*., 2004; Klich *et al*., 2000).

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین B_1 باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی هومورال بلدرچین‌ها شد که افزودن نانوسلنیوم در مقایسه با سلنیت‌سدیم به علت سمیت کمتر، اندازه کوچک‌تر ذرات، جذب سریع‌تر و بهتر منجر به افزایش وزن و بهبود عملکرد ایمنی هومورال و پارامترهای بیوشیمیایی سرم بلدرچین‌ها شد. در پایان می‌توان نتیجه گرفت که با وجود شیوع انواع اختلالات غیرعفونی ناشی از وجود آفلاتوکسین در زنجیره غذایی انسان و حیوانات اهلی(از قبیل ناراحتی‌های کبدی، گوارشی، کلیوی و غیره) جمع‌آوری اطلاعات در زمینه مایکوتوکسین‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در بعضی موارد می‌توان روش‌های درمانی یا پیشگیری را توصیه کرد، هر چند در دیگر موارد هنوز از علت واقعی یا چگونگی عملکرد آنها اطلاعات کافی در دست نیست. خوشبختانه پژوهش‌هایی که در حال حاضر دراین خصوص انجام می‌گیرد در کنترل اختلالات متابولیک و اثرات زیان‌بار مایکوتوکسین‌ها کمک به‌سزایی می‌کند.

سپاسگزاری

از کلیه افراد، سازمان‌ها و ارگان‌هایی که در انجام این کار پژوهشی همکاری داشته‌اند، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

منابع

- Amir Allama, A. and Razzaghi Abyane, M. (2002). Mycotoxins. Tehran: University of Imam Hussein, pp: 443-476. [In Persian]
- Azzam, A.H. and Gabal, M.A. (1998). Aflatoxin and immunity in layer hens. Avian Pathology, 27: 570-577.
- Bagherzadeh Kasmani, F., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A.A. and Shariatmadari, F. (2012). A novel aflatoxin-binding Bacillus probiotic: performance, serum biochemistry and immunological parameters in Japanese quail. Poultry Science, 91: 1846-1853.
- Biswas, A., Mohan, J. and Sastry, K.V.H. (2006). Effect of higher levels of dietary selenium on production performance and immune responses in growing Japanese quail. British Poultry Science, 47: 511-515.
- Bunk, M.J. and Combs, G.F.Jr. (1980). Effect of selenium on appetite in the selenium-deficient chick. Journal of Nutrition, 110: 743-749.
- Burton, R.M., Higgins, P.J. and Connell, K.P. (1977). Reaction of selenium with immunoglobulin molecules. Biochemistry and Biophysics Acta, 493: 323-331.
- Cai, S.J., Wu, C.X., Gong, L.M., Song, T., Wu, H. and Zhang, L.Y. (2012). Effects of nano-selenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers. Poultry Science, 91: 2532-2539.
- Chaturvedi, U.C., Richa, S. and Upreti, R.K. (2004). Viral infections and trace elements: A complex interaction. Current Science, 87: 1536-1554.
- Goldblatt, L.A. (1976). A Series of monographs. Food Science and Technology, 12: 16-19, 261-275, 358-415.
- Gourama, H. and Bullerman, L. (1995). Aspergillus flavus and Aspergillus parasitic us: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: A review. Journal of Food Protection, 58: 1395-1404.
- Hatfied, D.L. (2001). Selenium: Its Molecular biology and Role in Human Health. Norwood, MA: Kluwer Academic Publisher, pp: 352.
- Hoseinyan Bilondi, S.H., Hoseini, S.M., Dabagh Kakhki, J. and Naghus, M. (2012). The effects of selenium, vitamin E and garlic powder on performance, immune system and carcass fat of broilers. Journal of Livestock and Poultry, 1(4): 39-46. [In Persian]
- Huwing, A., Fremund, S., Kappeli, O. and Dutler, H. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicology Letters, 122: 179-188.
- Ibrahim, M.T., Eljack, B.H. and Fadlalla, I.M.T. (2011). Selenium supplementation to broiler diets. Animal Science Journal, 2: 12-17
- Jelinek, C.F., Pohland, A.E. and Wood, G.E. (1989). Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. Journal-Association of Official Analytical Chemists, 72: 223.
- Jia, X., Li, N. and Chen, J. (2005). A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats. Life Science, 76: 1989-2003.
- Klich, M.A., Mullaney, E.J., Daly, C.B., and Cary, J.W. (2000). Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by Aspergillustamarii and Ochraceoroseus. Applied Microbiology and Biotechnology, 53: 605-609.
- Krogh, P. (1987). Mycototoxin in Food. 1st ed., London: Harcourt Brace, pp: 86-96, 121-134 and 180-196.
- Kumara, N., Garga, A.K., Dassa, R.S., Chaturvedi, V.K., Mudgal, V.V.P. and Varshney, V.P. (2009). Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. Animal Feed Science and Technology, 153: 77-87.
- Leeson, S. and Summers, J.D. (2001). Nutrition of the Chicken. 4th ed., Canada: Guelph, Ontario, University Books, pp: 24-41.

- Marsh, A., Dietert, R.R. and Combs, G.F. (1981). Influence of dietary selenium and vitamin E on the humoral immune response of the chick. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 166: 228-236.
- Peterson, A.L., Qureshi, M.A., Ferket, P.R. and Fuller, J.C. (1999). Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β-hydroxy-β-methylbutyrate. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 21: 307-330.
- Qureshi, M.A. and Havenstein, G.B. (1994). A comparison of the immune performance of a 1991 commercial broiler with a 1957 random bred strain when fed typical 1957 and 1991 broiler diets. Poultry Science, 73: 1805-1812.
- Raju, M.V.L.N. and Devegowda, G. (2000). Influence of esterified – glucomannan of performance and organ morphology, serum biochemistry and hematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicotoxicosis aflatoxin, ochratocin and T2 toxin. British Poultry Science, 41: 640-650.
- Shivachandra, S.B., Sah, R.L., Singh, S.D., Kataria, J.M. and Manimaran, K. (2003). Immunosuppression in broiler chicks fed aflatoxin and inoculated with fowl adenovirus serotype-4 (FAV-4) associated with hydropericardium syndrome. Veterinary Research Communications, 27: 39-51.
- Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Stubblefied, R.D. and Sorenson, W.G. (1996). Production of aflatoxin on rice. American Society of Microbiology, 14(3): 425-428.
- Surai, P.F. (2002). Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. World's Poultry Science Journal, 58: 333-346.
- Talebi, E., Khademi, M. and Rastad, A. (2011). An over review on effect of aflatoxin in animal husbandry. The Bioscan, 6(4): 529-531.
- Tanaka, Y., Sakurai, E. and Lizuka, Y. (2001). Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high cholesterol diet. Journal of Yakugaku Zasshi, 121: 93-96.
- Tung, H.T., Donaldson, W.E. and Hamilton, P.B. (1970). Effects of aflatoxin on some marker enzymes of lysosomes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 222: 665-667.
- Verma, J., Johri, T.S., Swain, B.K. and 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.
- Wang, H.L., Zhang, J.S. and Yu, H.Q. (2007). Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes:comparison with selenomethionine in mice. Free Radical Biology & Medicine, 42: 1524-1533.
- Wen, W., Weiss, S.L.L. and Sunde, R.A. (1998). UGA codon position affects the efficiency of selenocysteine incorporation into glutathione peroxidase- 1. Journal of Biological Chemistry, 273: 2853-2854.
- Williams, I.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M. and Aggarwal, D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. The American Journal of Clinical Nutrition, 80:1106-1122.
- Yang, N., Larsen, C.T., Dunnington, E.A., Geraert, P.A., Picard, M. and Siegel, P.B. (2000). Immune competence of chicks from two lines divergently selected for antibody response to sheep red blood cells as affected by supplemental vitamin E. Journal of Poultry Science, 79: 799-803.
- Yunus, A.W., Ghareeb, K., Abd-El-Fattah, A.A.M., Twaruzek, M. and Böhm, J. (2011). Gross intestinal adaptations In relation to broiler performance during chronic aflatoxin exposure. Poultry Science, 90: 1683-1689.
- Yunus, A.W., Nasir, M.K., Aziz, T. and Böhm, J. (2009). Prevalence of poultry diseases in district Chakwal and their interaction with mycotoxicosis: 2. Effects of season and feed. Journal of Animal and Plant Science, 19: 1-5.

- Yunus, A.W., Nasir, M.K., Farooq, U. and Böhm, J. (2008). Prevalence of poultry diseases in district Chakwal and their interaction with mycotoxicosis: 1. Effects of age and flock size. Journal of Animal and Plant Science, 18: 107-113.
- Zhang, J.S., Gao, X.Y., Zhang, L.D. and Bao, Y.P. (2001). Biological effects of a nano red elemental selenium. Biofactors, 15: 27-38.
- Zhang, J.S., Wang, H.L., Bao, Y.P. and Zhang, L. (2004). Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice. Life Science, 75: 237- 244.

Veterinary Clinical Pathology, Vol.11, No 42, Summer 2017

The effect of nano-selenium particles and sodium selenite on humoral immunity indices of quails using foods contaminated with aflatoxin B_1

Talebi, E.[1*], Abedi, A.[2], Rahimi, E.[3], Khosravinezhad, M.[4]

1- Assistant Professor, Darab Branch, Islamic Azad University, Darab, Iran.
2- M.Sc., Graduate in Microbiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
3- M.Sc., Graduate in Genetic, Tehran University of Medical Science, International Campus, Kish, Iran.
4- M.Sc., Graduate in Polymer Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
*Corresponding author's email: talebi226@iaudarab.ac.ir
(Received: 2017/2/7Accepted: 2017/7/26)

Abstract
This experiment was conducted to evaluate the ability of inhibition of aflatoxin B_1 by various sources of selenium and to compare the effect of nano selenium and sodium selenite on humoral immunity of quails. The experiment was performed in a completely randomized design (CRD) using six treatments and four replicates of ten quail chicks per replicate. Two hundred forty quails were divided in six groups vis. control: without aflatoxin B_1 and without selenium. Group2: 1ppm aflatoxin B_1 and without selenium. Group3: 1 ppm aflatoxin B_1 and 0.3 ppm nano selenium. Group4: 1 ppm aflatoxin B_1 and 0.3 ppm sodium selenite. Group5: 1 ppm aflatoxin B_1 and 0.6 ppm nano selenium. Group6: 1ppm aflatoxin B_1 and 0.6 ppm sodium selenite. To evaluate the humoral immunity response 0.2ml of sheep red blood cell (SRBC) solution was injected into breast muscle of quails at day 35 and blood sampling was conducted after a week. Newcastle vaccine was injected at day 28 and the antibody titer was determined after two weeks. The highest level of titer of antibody against the SRBC solution was related to the group which received 0.06 ppm nano selenium ($p<0.01$). These results indicated that nano selenium in comparison with selenium selenite can improve humoral immunity and blood biochemical parameters.
Conflict of interest: None declared.

Keywords: Aflatoxin, Quail, Selenium, Humoral immunity.