نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۰، بهار ۱۳۹۰

تأثیر سطوح مختلف اسیدآمینه ی لیزین در جیره ی غذایی مرغ های مادر گوشتی آرین بر روی سیستم ایمنی و برخی صفات بیوشیمیایی سرم خون

• **جعفر فخرائی**
گروه علوم دامی،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک (نویسنده مسئول)
• **هوشنگ لطف الهیان**
عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور
• **محمود شیوازاد**
استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
• **محمد چمنی**
گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۹
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۳۶۰۷۱۵۷
Email: j_fakhraei86@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور تعیین اثرات سطوح مختلف اسیدآمینه ی لیزین بر روی سیستم ایمنی و برخی صفات بیوشیمیایی سرم خون مرغ های مادر گوشتی آرین انجام شد. برای این منظور تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ مادرگوشتی آرین و ۲۴ قطعه خروس در قالب طرح کاملا تصادفی با ۶ تیمار(جیره هایی با سطوح ۰/۵۰، ۰/۵۷، ۰/۶۴، ۰/۷۱، ۰/۷۸ و ۰/۸۵ درصد لیزین) در ۴ تکرار و ۸ پرنده در هر واحد آزمایشی مورد استفاده قرار گرفتند. مرغ ها به مدت ۱۲ هفته (از سن۵۲ الی ۶۴ هفتگی) با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. جیره ها از لحاظ همه ی مواد مغذی یکسان بودند بطوری که تنها عامل متغیر میزان لیزین موجود در آن ها بود. در این آزمایش تیتر(عیار) ایمونوگلوبولین های M و G ، ایمنی خونی و تست حساسیت پوستی مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین معرف های فیزیولوژیک شامل پروتئین تام ، آلبومین ، گلوبولین و اسید اوریک سرم خون در سنین ۵۶ و ۶۰ هفتگی اندازه گیری گردیدند. نتایج حاصله نشان داد که افزایش سطح لیزین جیره تا ۰/۶۴ درصد تیتر پادتن علیه گلبول های قرمز گوسفند، میزان پروتئین تام و آلبومین سرم را به طور معنی داری افزایش داد(P<۰/۰۵). اسیداوریک سرم تحت تأثیر معنی دار سطوح مختلف لیزین قرار نگرفت. سطوح مختلف لیزین جیره بر روی تعداد گلبول های سفید اثر معنی دار داشت، همچنین ایمونوگلوبولین های M و G روند افزایشی داشتند و در مورد IgM این افزایش معنی دار بود. نتایج تست حساسیت پوستی نیز حاکی از بهبود غیر معنی داری در سیستم ایمنی با افزایش میزان لیزین جیره ی غذایی بود. به طور کلی اسیدآمینه ی لیزین بر روی سیستم ایمنی ، پروتئین تام و آلبومین سرم خون مرغ مادر تأثیرگذار می باشد به طوری که در برآورد و تأمین نیاز پرنده به این اسیدآمینه علاوه بر صفات تولیدی بایستی فراسنجه های ایمنی و فیزیولوژیکی را نیز برای دستیابی به سطح مطلوب عملکرد در نظرگرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که نیاز لیزین مرغ های مادر گوشتی به خصوص در مورد پاسخ به فراسنجه های ایمنی و فیزیولوژیکی بیشتر از پیشنهادات NRC(۱۹۹۴) می باشد.

کلمات کلیدی: سیستم ایمنی، لیزین، مرغ مادرگوشتی، معرف های فیزیولوژیک

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 90 pp: 48-57

Effects of different levels of lysine amino acid in Arian broiler breeders diets on immunity and some blood biochemical traits

By: J. Fakhraei, Department of Animal Science, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran (Corresponding Author; Tel: +989183607157) H. Lotfollahian, Research Institute of Animal Science, Karaj, Iran M. Shivazad, Animal Science Department, Tehran University, Tehran, Iran, M. Chamani, Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

The aim of the present study was to determine the effects of different levels of lysine amino acid on immunity and some blood biochemical parameters of broiler breeder hens. The treatments were consisted of 6 levels of lysine (0.50, 0.57, 0.64, 0.71, 0.78 and 0.85%) and were used in a completely randomized design with 4 replicates and 8 hens in each pen from 52 to 64 weeks of their rearing period. The hens were selected according to the very nearly the same body weight (3600 ±15 g) for maximum uniformity in treatments groups. Amino acids profile and composition of all diets were similar except of lysine levels. The results of physiological indicators showed that the different levels of dietary lysine had a significant effect on the blood serum albumin and total protein concentration (P<0.05). Increasing lysine levels of diets to 0.64% was resulted in significant increase in antibody titer against sheep red blood cell(SRBC), IgM, serum albumin and total protein (P<0.05). An increased IgG and blood serum globulin level were evident but were not significant. Blood serum uric acid level not significantly affected by lysine. The results of cutaneous sensitivity to PHA-P showed a not significant improvement in immune system. It is concluded that lysine had significant effects on immunity system, total protein and albumin so in estimating of requirement of lysine in broiler breeders in addition to production responses be immunity and physiological parameters must considered for optimal performance. In conclusion results of this study indicate that lysine needs may be higher than suggested by NRC (1994), especially in support of improved immunity and physiological characteristics.

Key words: Broiler breeder, Immunity, Lysine, Physiological indicators

مقدمه

تأمین مواد مغذی مهم در جیره ی غذایی مرغ های مادر گوشتی برای دستیابی به تولید بالا با بازدهی مطلوب لازم و ضروری است (Harms و Ivey، ۱۹۹۲). مکمل کردن جیره های بر پایه ی ذرت – کنجاله ی سویا با اسیدهای آمینه ی مهم مثل لیزین، متیونین و ترئونین یک روش رایج در زمان پایین بودن سطح پروتئین جیره است. Bateman و همکاران (۲۰۰۸) پیشنهاد کرده اند که فرموله کردن جیره ی غذایی بر اساس اسیدهای آمینه باعث تأمین نیاز واقعی پرنده شده و در نتیجه صرفه جویی اقتصادی را نیز در پی خواهد داشت. اسیدآمینه ی لیزین پایه و اساس ارزیابی دیگر اسیدهای آمینه ی جیره برای ایجاد تعادل ایده آل اسیدهای آمینه شناخته شده است (Samadi و Liebert، ۲۰۰۷). Lesson و Summers (۲۰۰۱) گزارش کردند که لیزین به عنوان اسیدآمینه ی مرجع در الگوی پروتئین ایده آل می باشد و نیاز سایر اسیدهای آمینه با در دست داشتن نیاز لیزین برآورد می شود. در جیره های کاربردی طیور علاوه بر اینکه لیزین به عنوان دومین اسیدآمینه ی محدودکننده در نظر گرفته می شود، افزودن آن به جیره ی غذایی از جنبه های اقتصادی و تغذیه ای به دلیل بالا بردن میزان کارایی پروتئین جیره منطقی و مقرون به صرفه می باشد، چرا که لیزین جیره به طور عمده به منظور ابقای پروتئین و نگهداری استفاده می شود و به عنوان پیش ساز در بدن مورد استفاده قرار نمی گیرد (Baker، ۱۹۹۷). جیره نویسی در طیور عمدتا بر اساس شاخص های تولیدی مانند رشد، تولید تخم مرغ و بازده مصرف خوراک انجام می شود بنابراین از توجه به معیارهای لازم برای پاسخ های ایمنی و فیزیولوژیکی چشم پوشی می شود در صورتی که مواد مغذی بر روی سیستم ایمنی و فراسنجه های فیزیولوژیکی بدن تأثیرگذار می باشند. در شرایط مزرعه باید علاوه بر نیازهای تولیدی پرنده به اسیدهای آمینه، احتیاجات آن به اسیدهای آمینه لازم برای توسعه و تقویت سیستم ایمنی و فیزیولوژیکی بدن نیز در نظرگرفته شود. تحقیقات مختلف نشان داده است که کمبود اسیدهای آمینه از جمله لیزین در جیره غذایی، پروتئین سازی و سیستم ایمنی بدن را به مخاطره انداخته و در نتیجه تولید و عملکرد پرنده را تحت تأثیر قرار خواهد داد (Hiramoto و همکاران، ۱۹۹۰، و Dasgupta و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر انتخاب ژنتیکی بعضی از عوامل غیر ژنتیکی مانند غلظت اسیدهای آمینه در جیره ی غذایی می توانند ظهور ژن های مسئول پاسخ های ایمنی را از طریق ایجاد تغییر در میزان بلوغ سیستم ایمنی و همچنین میزان آنتی بادی تولید شده در برابر عفونت ها را تغییر دهند (Klasing، ۲۰۰۷). نقش تغذیه در میزان ترکیبات تشکیل دهنده بدن بسیار مهم است. میزان پروتئین پلاسما در

طیور، ارتباط مستقیمی با پروتئین جیره دارد. غلظت اسیدهای آمینه آزاد در پلاسما، منعکس کننده میزان اسیدهای آمینه جیره است و می تواند در تخمین اسیدهای آمینه مورد نیاز استفاده شود. هنگامیکه میزان لیزین برای رشد در حد پایینی باشد، میزان آن در پلاسما در حد پایینی قرار می گیرد ، اما هنگامی که میزان آن بیشتر از حد نیاز در جیره غذایی باشد، میزان لیزین پلاسما افزایش خواهد یافت (Sturkie، ۱۹۸۶). سطح مناسب میتونین جیره باعث افزایش رشد شده و برای ایجاد حداکثر پاسخ ایمنی ضروری است. کمبود میتونین باعث کاهش فعالیت لنفوسیت ها وتحلیل غده بورس و همچنین افزایش حساسیت به بیماری های نیوکاسل و کوکسیدیوز می شود. افزودن سیستئین باعث تحریک ایمنی هورمونی و سلولی می گردد. در جیره های حاوی نسبت بالای لوسین/ والین+ ایزولوسین، به علت ایجاد اثرات آنتاگونیست بین ساختارهای این سه اسید آمینه عملکرد سیستم ایمنی کاهش می یابد. سطوح بیش از حد لوسین در جیره غذایی از جذب والین و ایزولوسین ممانعت می کند. افزایش غلظت اسید آمینه ی لیزین جیره باعث بهبود هماگلوتیناسیون و تیترآگلوتینین و همچنین افزایش ایمونوگلوبولین های G وM می شود (Humphrey و همکاران، ۲۰۰۶). از آنجایی که نتایج بدست آمده در آزمایشهای مختلف بستگی به پاسخی دارد که مورد ارزیابی قرار می گیرد و در اکثر تحقیقاتی که در مورد مرغ مادر صورت گرفته اند عمدتاً اثرات لیزین بر روی پاسخ های عملکردی و تولیدی بررسی شده است، لذا در این تحقیق پارامترهای فیزیولوژیکی مهم و حیاتی و همچنین سیستم ایمنی پرنده (ایمنی سلولی و هومورال) در برابر سطوح مختلف لیزین مصرفی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ مادر گوشتی آرین با وزن یکسان با میانگین وزنی برابر ۳۶۳۰ گرم و ۲۴ قطعه خروس انتخاب و در ۲۴ واحد آزمایشی با تعداد ۸ قطعه مرغ و یک خروس در هر واحد توزیع گردیدند به طوری که هر ۸ مرغ یک تکرار را تشکیل می دادند و برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. مدت ۱۰ روز عادت پذیری به تیمارهای آزمایشی قبل از شروع آزمایش برای مرغ ها منظور گردید. طول مدت آزمایش ۱۲هفته (ازسن۵۲ الی۶۴ هفتگی) بود. برنامه ی نوردهی ۱۶ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دوره ی آزمایش اجرا شد. دامنه ی تغییرات دمای سالن از ۱۸ تا ۲۴ درجه ی سانتی گراد متغیر و تحت نظر قرار داشت.

جیره های آزمایشی

قبل از تنظیم جیره های آزمایشی ابتداء مواد خوراکی مصرفی طبق روش های AOAC (۱۹۹۵) از نظر ماده ی خشک، پروتئین خام، چربی خام، کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، کلر، فیبر خام و پروفیل اسیدهای آمینه به جز تریپتوفان مورد تجزیه قرار گرفت. ۶ تیمار آزمایشی شامل جیره هایی با سطوح مختلف لیزین (۰/۵۰، ۰/۵۷، ۰/۶۴، ۰/۷۱، ۰/۷۸ و ۰/۸۵ درصد) در این تحقیق استفاده شد. جیره ها از لحاظ میزان انرژی قابل سوخت و ساز، پروتئین خام، تعادل الکترولیت ها ($Na^+K^+Cl^-$) و سایر مواد مغذی یکسان بودند. جیره های آزمایشی از لحاظ سایر اسیدهای آمینه براساس نسبت ایده آل اسیدهای آمینه به اسید آمینه ی مرجع (لیزین) که توسط فیشر در سال ۱۹۹۸ برای سنین مختلف مرغ های مادر پیشنهاد شده است با استفاده از برنامه ی UFFDA تنظیم شدند (جدول۱). به منظور افزایش دقت آزمایش، اجزای جیره با دقت ۰/۱ گرم توزین و با استفاده از میکسر افقی مخلوط شده و برای جلوگیری از عمل انتخاب به صورت پلت تهیه شدند.

اندازه گیری فراسنجه های خونی

در طی دو مرحله (اواسط و اواخر دوره ی آزمایش) از هر تکرار دو پرنده انتخاب و از طریق ورید بال از آنها خون گیری شد. خون گیری از این محل احتمال ایجاد هماتوم را کاهش می دهد. برای جدا سازی سرم، سرنگ های حاوی خون کامل با زاویه ۳۰ درجه در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند و پس از لخته شدن خون به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه ی سانتی گراد قرار داده شدند. سرم مربوط به هر نمونه در درون میکروتیوپ های مخصوص به فریزر با دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد منتقل شد و در زمان مناسب جهت بررسی پارامترهای بیوشیمیایی مورد آزمایش قرار گرفت. پس از خارج نمودن نمونه های سرم از فریزر و رفع انجماد آنها در دمای محیط، مقدار پروتئین تام به روش بیورت[1]، آلبومین هر نمونه سرم با روش برم کرزول گرین[2] و اسید اوریک با روش پاپ[3] اندازه گیری شد. اصول تمام اندازه گیری های فوق روش رنگ سنجی بوده و با کیت های پارس آزمون مربوطه صورت گرفت (Tomas، ۱۹۷۷). با توجه به اینکه پروتئین‌های سرم خون از مجموع آلبومین‌ها و گلوبولین‌ها تشکیل شده است (فیبرینوژن در لخته باقی مانده و وارد سرم نمی‌شود)، لذا غلظت کل گلوبولین در هر کدام از نمونه‌های سرم خون، از تفاضل غلظت پروتئین تام و آلبومین همان نمونه به دست آمد (Koneko، ۱۹۸۹).

اندازه گیری پاسخ های ایمنی

ایمنی خونی

در بررسی سیستم ایمنی، گلبول های سفید، هتروفیل ها، لنفوسیت ها و نسبت هتروفیل به لنفوسیت(H/L) مورد بررسی قرار گرفت. پس از تهیه ی گسترش مناسب نمونه ها، عمل رنگ آمیزی انجام گرفت که برای این منظور ۲ روش رنگ آمیزی رایت و گیمسا از همه متداول تر است. در این تحقیق از رنگ آمیزی گیمسا جهت رنگ آمیزی گسترش خونی استفاده شد. با توجه به اینکه ماده ی ضد انعقاد اثر مهمی بر کیفیت نتایج رنگ آمیزی دارد و استفاده از EDTA [4] در تحقیقات مختلف نتایج خوبی داشته است در این تحقیق از این ماده استفاده شد.

تیتر پادتن بر علیه پادگن گلبول قرمز گوسفند (SRBC)[5]

در هفته های ۵۶ و ۶۰ آزمایش از هر واحد آزمایشی ۲ پرنده انتخاب و به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۱ سی سی محلول سوسپانسیون SRBC (تهیه شده از مؤسسه ی رازی، کرج) که سه بار با سرم فیزیولوژیک شستشو داده شده بود از طریق ورید بال به پرندگان تزریق گردید. ۷ روز بعد از تزریق، از پرندگان مزبور نمونه های خون تهیه شد. نمونه های خون به مدت ۱ روز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند و سرم خون جدا شد (سرم خون با دور ۱۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید.). ابتداء نمونه های سرم جهت خنثی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل

آن بـا پادتـن ضد گلبول قرمز گوسـفند به مدت ۳۰ دقیقـه در دمای ۵۵ درجه ی سانتی گراد در گرم خانه گذاشته شد. برای تعیین تیتر پاسخ کل (IgG + IgM) از روش هماگلوتیناسـیون (Isakov و همـکاران، ۲۰۰۵) میکروتیتر اسـتفاده شـد. در هنگام قرائت نمونه ها لگاریتـم در مبنای ۲ عکس آخر رقتی که در آن هماگلوتیناسـیون دیده می شود به عنوان عیار پادتنـی ثبت گردید. بـرای اندازه گیری IgG و IgM که اجزاء پاسـخ به SRBC هستند با جداسـازی پادتن مقاوم به مرکاپتااتانول که در حقیقت IgG هسـت و کسـر این مقدار از پاسـخ کل می توان پادتتن حسـاس به مرکاپتااتانـول را بدسـت آورد که معرف IgM می باشـد (Delhanty و Saloman، ۱۹۶۶).

پاسخ به فیتاهماگلوتنین (Phytohemagglutinin)

از آزمون حساسیت پوستی نسبت به تزریق فیتاهماگلوتنین (Corrier و Deloach ۱۹۹۰) برای ارزیابی ایمنی سـلولی پرندگان اسـتفاده شـد. اثرات تیمارهای آزمایشـی بر پاسخ های التهابی در سنین ۵۶ و ۶۰ هفتگی بررسـی شد. در این سنین بعد از سنجش ضخامت ریش چپ و راست مرغ محلول PHA-P به میزان ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر پرنده به ریش راست و سـرم فیزیولوژیک به ریش چپ با استفاده از سرنگ انسولین تزریق شد. پس از ۲۴ سـاعت با سـنجش تغییرات ضخامت ریش مرغ با اسـتفاده از کولیس، پاسخ پرنده مورد سنجش قرار گرفت.

جدول۱- ترکیب جیره های آزمایشی و مواد مغذی آنها

سطح لیزین (٪) اقلام خوراکی (٪)	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۷۱	۰/۷۸	۰/۸۵
ذرت	۵۸/۷۱	۵۸/۸۱	۵۸/۹۶	۵۹/۱۶	۵۹/۳۶	۵۹/۵۵
کنجاله ی سویا	۳/۷۲	۳/۹۴	۴/۴۰	۵/۱۵	۵/۹۰	۶/۶۶
سبوس گندم	۱۶/۸۳	۱۶/۶۶	۱۶/۳۴	۱۵/۸۵	۱۵/۳۵	۱۴/۸۶
گلوتن ذرت	۱۱/۵۴	۱۱/۲۷	۱۰/۸۹	۱۰/۳۶	۹/۸۲	۹/۲۹
دی کلسیم فسفات	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰
پودر صدف	۶/۸۸	۶/۸۸	۶/۸۸	۶/۸۷	۶/۸۶	۶/۸۵
نمک طعام	۰/۲۱	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۱۳
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
کولین	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴
کوکسیدیواستات	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷
بیکربنات سدیم	۰/۱۴	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۶
DL- متیونین	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۵
L- لیزین هیدروکلراید	۰/۰۳	۰/۱۳	۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۴۴
مواد مغذی جیره های آزمایشی						

ادامه جدول۱- ترکیب جیره های آزمایشی و مواد مغذی آنها

سطح لیزین (٪) اقلام خوراکی (٪)	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۷۱	۰/۷۸	۰/۸۵
MEn(kcal/kg)	۲۷۰۰	۲۷۰۰	۲۷۰۰	۲۷۰۰	۲۷۰۰	۲۷۰۰
پروتئین خام(٪)	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
کلسیم(٪)	۳	۳	۳	۳	۳	۳
فسفرقابل دسترس(٪)	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
سدیم(٪)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
پتاسیم(٪)	۰/۵۳	۰/۵۲	۰/۵۱	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۴۹
کلر(٪)	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۷	۰/۱۷
DCAD	۱۵۵	۱۵۵	۱۵۵	۱۵۵	۱۵۵	۱۵۵
لیزین(٪)	۰/۸۵	۰/۷۸	۰/۷۱	۰/۶۴	۰/۵۷	۰/۵۰
متیونین(٪)	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
آرژینین(٪)	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶
هیستیدین(٪)	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲
ایزولوسین(٪)	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۵۹
فنیل آلانین(٪)	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۶
تیروزین(٪)	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴
ترئونین(٪)	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶
تریپتوفان(٪)	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷
گلیسین+سرین(٪)	۱/۳۴	۱/۳۴	۱/۳۴	۱/۳۴	۱/۳۴	۱/۳۵
متیونین+سیستین(٪)	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹
والین(٪)	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵

× هـر کیلوگرم جیره حاوی ویتامین A (۶۶۰۰واحدبین المللی)، ویتامین D۳ (۲۲۰۰واحد بین المللی)، ویتامین K (۲/۲ میلی گرم)، ریبوفلاوین (۴/۱۴ میلی گرم)، اسید پانتوتنیک (۱۳/۲میلی گرم)، نیاسین (۳۹/۶ میلی گرم)، ویتاوین B۱۲ (۰/۲۲۰ میلی گرم)، اتوکسی کوئین (۱۲۵ میلی گرم) و منگنز (۶۰ میلی گرم) می باشد.

× همه جیره ها ایزوکالریک و ایزونیتروژنوس هستند.

طرح آزمایشی و آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) به صورت متوازن با ۶ تیمار، شامل ۶ سطح لیزین، در ۴ تکرار و ۸ مشاهده در هر تکرار انجام شد. در این آزمایش داده ها با نرم افزار Excel (۲۰۰۳) مرتب شده و با استفاده از نـرم افزار آماری SAS (۲۰۰۲) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و برای مقایسـه ی میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن اسـتفاده شد. مدل آماری طرح به شرح زیر بود:

$$X_{ij} = \mu + \sigma_j + E_{ij}$$

مقدار هر مشـاهده (Xij)، میانگین جامعه (μ)، اثرات اصلی سـطح لیزین (σ_j) و اثر خطای آزمایش (E_{ij}) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

با افزایش سـطح لیزین جیره تا ۰/۶۴ درصد (۹۶۰ میلی گرم در روز) میزان آلبومین سـرم افزایش معنی داری داشـت جـدول۲ و این می تواند مؤیـد فرضیه ی Smith (۱۹۷۸) باشـد کـه آلبومین سـرم را به عنوان پروتئیـن اصلی ذخیره ای در خون مرغ تخم گذار پیشـنهاد کرده اسـت. آلبومین خون در مواقعی که نیاز برای اسیدهای آمینه بالاست (نظیر ساخت پروتئین های سـفیده ی تخم مرغ در اویدوکت) تجزیه شـده و لذا غلظت آن در سـرم کاهش می یابد. افزایش آلبومین سـرم با افزودن لیزین جیره در ایـن آزمایش می تواند بـه دلیل جلوگیری از تجزیـه ی آلبومین برای تأمین کمبود لیزین باشد. Dibner و Ivey (۱۹۹۰) گزارش کردند که در شـرایط تنش نظیر کمبود یک اسیدآمینه، ساخت آلبومین در کبد کاهش می یابد، لذا میزان آلبومین سـرم در صورت کمبود یک اسـید آمینه مثل لیزیـن در جیره کاهش می یابد. با افزایش سـطوح لیزین جیره، گلوبولین سـرم نیز به طور غیـر معنی داری افزایش یافت. به دلیـل اینکه گلوبولین تام سـرم متشـکل از پروتئین های مختلفی اسـت و فقط تعـدادی از این پروتئین ها ممکن اسـت در اثر افزودن لیزین به جبره افزایش نشان دهند، لذا به نظر می رسد اثرات سطوح مختلف لیزین جیره باید بر روی تک تک این پروتئین ها مورد مطالعه قرار گیرد.

غلظت پروتئین تام سـرم خون پرنده ها کمتر از پسـتانداران اسـت و میزان آن در بسـیاری از پرنده های سـالم ۳ الی ۶ گرم در دسی لیتر است (Campbell و Coles، ۱۹۸۶). با افزایش سـطح لیزین مصرفی افزایش معنی داری در پروتئین تام سرم مشاهده شد. با توجه به افزایش معنی دار آلبومیـن سـرم افزایش در میزان پروتئین تام نیـز در اثر افزودن لیزین به جیره بدیهی به نظر می رسـد. با افزایش لیزین در جیره ی غذایی پروتئین سـازی در کبد بهبود مـی یابد چرا که کبد فعال تریـن عضو بدن در مرغ تخم گذار در زمینه ی پروتئین سـازی می باشـد و اسـید آمینه ی لیزین نیز به طور عمده در سـاخت پروتئین شـرکت می کنـد (Hiramoto و همـکاران، ۱۹۹۰). یک پرنده در حالت توازن اسـید و بـاز و وضعیت ازت طبیعی بدن تقریباً ۸۰ درصد ازت تام را به صورت اسید اوریک، ۱۵ درصد را بـه صـورت آمونیاک و ۱ تـا ۱۰ درصد را به صـورت اوره دفع می کند. مقدار طبیعی اسـید اوریک خون بسیاری از پرندگان ۲ تا ۱۵ میلی گرم در دسـی لیتر است (Dein، ۱۹۸۶). سطوح لیزین جیره تأثیر معنی داری بر روی اسـیداوریک سرم نداشت که با مشـاهدات Chi و Speers (۱۹۷۶) مطابقت دارد. سطوح اسـیداوریک سرم ابتداء دارای یک روند افزایشی بود و سـپس یک روند کاهشـی و نسـبتا ثابت را نشـان داد. Chi و Speers (۱۹۷۶) گزارش کردند که افزایش دادن لیزین جیره به مقدار زیاد منجر به کاهش غلظت اسـید اوریک سرم خون خواهد شد. با افزایش بیشتر سطوح لیزین جیره و به دلیل مرتفع شـدن نیاز حیوان بهره وری از پروتئین جیره بـه خوبی صـورت گرفته و موجب ثابت ماندن غلظت اسـید اوریک سـرم می شـود. با توجه به اینکه میزان اسـید اوریک سرم با میزان اسید اوریک دفعی در ارتباط اسـت لذا به نظر می رسـد یکی از روش های کاهش دفع نیتروژن به محیط افزودن اسـیدهای آمینه مصنوعی به جیره طیور باشـد (Fernandez و همکاران، ۱۹۹۶).

نتایج بررسـی گلبول های سـفید خون و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جـدول ۳ آورده شـده اسـت. تعـداد گلبـول هـای سـفید در گـروه دریافت کننده ی ۱۰۶۵ میلی گرم لیزین در روز(۰/۷۱ درصد جیره) نسبت به سایر سـطوح لیزین به طور معنی داری بالاتر بود (P<۰/۰۵). همچنین بـا سـطح لیزین ۰/۸۵درصـد (۱۲۷۵ میلـی گـرم درروز) کمترین تعداد گلبول های سـفید بدسـت آمد. با وجـود بالاتر بودن نسـبت هتروفیل به لنفوسـیت در گروه دریافت کننده ی ۰/۶۴ درصـد لیزین(۹۶۰ میلی گرم درروز) تفاوت ها به لحاظ آماری معنی دار نبود.

لنفوسـیت ها تنها سـلول هایی در بدن هستند که قادر به شناسایی و تفکیک شاخص های آنتی ژنیک مختلف می باشند و با گیرنده های خاصی که بر سـطح خود دارند، بـه طور اختصاصی عمل می کننـد. هتروفیل ها تمایل به بیگانه خواری داشته و اولین مرحله از پاسخ های التهابی را شروع می کنند و در دفاع بدن علیه بیماری های عفونی نقش مهمی دارند. گزارش شـده است که تعداد هتروفیل ها و لنفوسـیت ها بیشتر در شرایطی مانند تنش، بیماری و برخی داروها تغییر می کند (Maxwell و Robertson، ۱۹۹۸). Siegel و Gross (۱۹۸۳) نشـان دادند که نسبت H/L شاخص کارآمدی برای نشان دادن تنش و بررسی فیزیولوژیک تنش در طیور است. سطوح مختلف لیزین در جیره اثر معنی داری برSRBC و IgM داشت به طـوری که گروه دریافت کننده ی ۹۶۰ میلی گرم در روز دارای بیشـترین پاسـخ به SRBC و بیشـترین تیتـر IgG بود و گـروه دریافت کننده ی ۸۵۵ میلـی گرم لیزین بیشـترین تیتر IgM را نشـان داد (جدول۴). در حقیقت در زمان تزریق گلبول قرمز گوسفند لیزین به عنوان محرک، تکثیر بهتر سـلول های ایمنی تولید کننده ی پادتن بـر علیه SRBC را موجب شده اسـت. Chin و همکاران(۲۰۰۳) گزارش کرده اند که مصرف ناکافی لیزین در جیره ی غذایی، پاسـخ های پادتن و واسـطه های سیستم ایمنی را در جوجـه هـا کاهش می دهد. کمبود لیزین سـنتز پروتئین هایی مثل سـیتوکین ها و فراوانی لنفوسیت ها را محدود کرده و پاسخ های ایمنی را کاهش می دهد، در نتیجه بیماری ها وتلفات در اثر عفونت های مختلف در آنها افزایش پیدا می کند (Kidd و همکاران، ۱۹۹۷ و Konashi و همکاران، ۲۰۰۰). طبـق نتایج آزمایش های مختلف افزایش لیزین در جیره ی طیور موجب بهبود تکثیر سلول های ایمنی و تولید پادتن (IgG+IgM) در مقابل گلبول قرمز گوسفند در ۷ روز پس از تزریق داخل رگی سوسپانسیون SRBC می شـود (Nelson و همـکاران، ۱۹۹۵). در این آزمایش اثرات سـطوح مختلـف لیزیـن بر روی پاسـخ بـه فیتاهماگلوتنین کـه در دو مرحله در

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف لیزین جیره بر روی برخی فراسنجه های خونی در طول دوره ی آزمایش

سطح لیزین جیره (٪)	لیزین مصرفی (mg/day)	آلبومین (g/dl)	پروتئین تام (g/dl)	گلوبولین (g/dl)	اسید اوریک (mg/dl)
۰/۵	۷۵۰	۲/b۳۰	۴/b۹۷	۲/۶۷	۱۰/۳۵
۰/۵۷	۸۵۵	۲/b۴۳	۵/b۱۰	۲/۶۷	۱۳/۰۵
۰/۶۴	۹۶۰	۳/a۲۵	۶/a۱۳	۲/۸۸	۱۰/۳۲
۰/۷۱	۱۰۶۵	۲/b۵۵	۴/b۸۲	۲/۲۷	۹/۷۵
۰/۷۸	۱۱۷۰	۲/a۹۷	۶/a۰۷	۳/۱۱	۹/۲۲
۰/۸۵	۱۲۷۵	۲/b۳۰	۴/b۸۷	۲/۵۷	۸/۲۵
SEM	-	۰/۱۰	۰/۲۳	۰/۲۲	۱/۱۳

•تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است(P<۰/۰۵).

جدول۳- تأثیر سطوح مختلف لیزین جیره بر روی فراسنجه های ایمنی (گلبول های سفید)

سطح لیزین جیره (٪)	لیزین مصرفی (mg/day)	گلبول های سفید (/lμ)	هتروفیل ها (٪)	لنفوسیت ها (٪)	هتروفیل به لنفوسیت
۰/۵	۷۵۰	۲۳۰۷۵ a	۳۳/۲۵	۶۲/۱۲	۰/۵۴
۰/۵۷	۸۵۵	۱۹۸۲۵ ab	۳۰/۳۷	۶۲/۷۵	۰/۵۱
۰/۶۴	۹۶۰	۲۰۶۶۳ ab	۳۵/۸۷	۵۸/۱۲	۰/۶۳
۰/۷۱	۱۰۶۵	۲۴۳۶۳ a	۳۲/۷۵	۶۰/۷۵	۰/۵۶
۰/۷۸	۱۱۷۰	۱۶۸۰۰ b	۳۰/۸۷	۶۵/۱۲	۰/۴۹
۰/۸۵	۱۲۷۵	۱۶۶۶۳ b	۳۰/۰۰	۶۵/۷۵	۰/۴۸
SEM	-	۱۸۲۲/۵۱	۴/۲۹	۴/۰۱	۰/۱۰

•تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است(P<۰/۰۵).

جدول۴- اثرات سطوح مختلف لیزین جیره بر روی پاسخ به SRBC و تیتر ایمونوگلوبین ها (سن ۵۶ هفتگی)

سطح لیزین جیره (٪)	لیزین مصرفی (mg/day)	SRBC (mg/ml)	ایمونوگلوبین G (mg/ml)	ایمونوگلوبین M (mg/ml)
۰/۵	۷۵۰	۸/۱۷ b	۶/۳۲	۱/۸۵ ab
۰/۵۷	۸۵۵	۹/۶۳ ab	۶/۸۷	۲/۴۵ a
۰/۶۴	۹۶۰	۹/۷۵ a	۸/۰۰	۱/۷۵ abc
۰/۷۱	۱۰۶۵	۹/۳۲ ab	۷/۷۷	۱/۵۵ abc
۰/۷۸	۱۱۷۰	۸/۰۰ b	۷/۱۲	۰/۸۷ c
۰/۸۵	۱۲۷۵	۸/۰۰ b	۶/۶۲	۱/۳۷ bc
SEM	-	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۲۹

× تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است(P<۰/۰۵).

جدول۵ - اثرات سطوح مختلف لیزین مصرفی بر روی پاسخ به PHA

سطح لیزین جیره (٪)	میزان لیزین مصرفی(mg/day)	PHA (۵۶هفتگی)	PHA (۶۰هفتگی)
۰/۵	۷۵۰	۱/۹۲	۲/۱۸
۰/۵۷	۸۵۵	۲/۳۰	۲/۵۷
۰/۶۴	۹۶۰	۲/۰۹	۱/۵۵
۰/۷۱	۱۰۶۵	۲/۷۶	۲/۷۹
۰/۷۸	۱۱۷۰	۲/۸۶	۱/۶۷
۰/۸۵	۱۲۷۵	۲/۴۳	۲/۴۵
SEM	-	۰/۳۷	۰/۶۹

× تفاوت ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی دار است(P<۰/۰۵).

طـول دوره ی پرورش انجام گردید معنـی دار نبود، هر چند که گروه های دریافت کننده ی ۰/۷۱ و ۰/۷۸ درصد لیزین بالاترین پاسخ به PHA-P را نشان دادند (جدول۵). با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان گفت که سطوح مختلف لیزین در مرغ های مادر بر روی سیستم ایمنی و فیزیولوژیکی تأثیر گذار اسـت، به طوری که با افزایش لیزین مصرفی تا سـطح ۰/۶۴ درصد (۹۶۰ میلی گرم در روز) پارامترهای بیوشـیمیایی مهم بدن و همچنین سیسـتم ایمنـی بهبود حاصل می کنـد، با توجه به اینکـه در NRC (۱۹۹۴) نیاز مرغ مادر گوشـتی به لیزین ۷۶۵ میلی گرم در روز پیشـنهاد شـده است فلذا به نظر می رسـد نیاز پرنده به لیزین برای بهبود عمل سیسـتم ایمنی و فیزیولوژیک بدن بیشـتر از نیاز برای صفات تولیدی اسـت. بنابراین عدم تأمیـن نیـاز برای کارکرد مطلوب این سیسـتم ها در بـدن بالطبع صفات تولیـدی و عملکردی پرنده از جمله درصد تولید، کیفیت تخم مرغ و درصد جوجه درآوری را نیز تحت تأثیر قرار خواهد داد.

پاورقی ها

1- Biuret
2- Bromocresol Green
3- PAP
4- Ethylene Diumine Telva Aceticacid
5- Sheep Red Blood Cell

منابع مورد استفاده

1- AOAC. (1995) *Official Methods of Analysis* (16th edition). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

2- Baker, DH. (1997) Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. *Biokyowa Technical Review*. 9:1-24.

3- Bateman, A., Roland, D. A. and Bryant. M. (2008) Optimal methionine + cysteine / lysine ratio for first cycle of egg production in commercial leghorns. In. *J. Poult. Sci*. 7: 932-939.

4- Campbell, T. W., and Coles. E. H. (1986) *Avian clinical pathology*.In: Veterinary Clinical Pathology. Edited by E.H. Coles. 4 th ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia.

5- Chen, C., Sander, J. E. and Dale. N. M. (2003) The effect of dietary lysine deficiency on the immune response to Newcastle disease vaccination in chickens. *Avian Disease.* 47: 1346-1351.

6- Chi, M. S.و and Speers. G. M. (1976) Effects of force feeding diet containing varing amount of lysine on plasma free amino acids in laying hens. *Poult. Sci*. 56: 521-528.

7- Corrier, D. E., and Deloach. J. R. (1990) Evaluation of cell mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens with an interdigital skin test. *Poult. Sci.* 69: 403-408.

8- Dasgupta, M., Shaekey J. R. and Wu. G. (2005) Inadequate intakes of indispensable amino acids among homebound older adults. *J. Nut. Elderly*. 24: 85-99.

9- Dein, F. J. (1986) *Hematology*. In: Clinical Avian Medicine and Surgery. Edited by Harrison, G.J. and Harrison, L.R., 1st ed. W.B. Saanders Co. Philadelphia. PP: 174-191.

10- Delhanty, J. J., and Salomon. J. B. (1966) The nature of antibodies to goat erythrocytes in the developing chicken. *J. of Immunology,* 11: 103-113.

11- Dibner, J. J., and Ivey. F. J. (1990) Hepatic protein and amino acid metabolism in Poultry. *Poult. Sci*. 69: 1188-1194.

12- Fernandez, F. I., Nieto, R. Augilera J. F., and Prieto. C. (1996) The use of the excretion of nitrogen containing compound as an indirect index of the adequacy of dietary protein in chicks. *Anim. Sci*. 63: 307-314.

13- Fisher, C. (1998) Amino acid requirements of broiler breeders. *Poult. Sci*. 77: 124-133.

14- Harms, R. H., and Ivey. F. J. (1992) An evalution of the protein and lysine requirement for broiler breeder hens. *J. Appl. Poult. Res.* 1: 308-314.

15- Hiramoto, K., Muramatsu, T. and Okumura. J. (1990) Effect of methionine and lysine deficiencies on protein synthesis in the liver and oviduct and in the whole body of laying hens. *Poult. Sci.* 69: 84-89.

16- Humphrey, B. D., Stephensen, C. B. Calvert, C.C. and Klasing. K.C. (2006) Lysine deficiency and feed restrition independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens. Comparative *Biochemistry and Physiology.* Part A. 143: 218-227.

17- Isakov, N., Feldmann, M. and Segel. S. (2005) The mechanism of modulation of humoral immune responses after injection of mice with SRBC. *J. Immunology*. 128: 969-975.

18- Kaneko, J. J. (1989) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 4 th ed. Academic Press. Inc. New york.

19- Kidd, M.T., Kerr, B. J. and Anthony. N. B. (1997) Dietary interaction between lysine and threonine in broilers. *Poult. Sci.* 76: 608-614.

20- Klasing, K. C. (2007) Nutrition and the immune system. Gordon Memorial Lecture. *British Poultry Sci.* 48: 525-537.

21- Konashi, S., Takahashi, K. and Akiba. Y. (2000) Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens. *Br. J. Nut.* 83: 449-456.

22- Leeson, S. and Summers. J. D. (2001) *Nutrition of the chicken*, 4 th ed. University books, Gueiph, Ontario, Canada.

23- Maxwell, M. H. and Robertson. G. W. (1998) The avian heterophilic leukocyte: A review. *Worlds Poult. Sci. J.* 54: 155-178.

24- National Research Council. (1994) *Nutrient Requirements of*

Poultry. 9th rev. ed.Washington, DC, USA, National Academy Press.

25- Nelson, N. A., Lakshmanan, N. and Lamont. S. J. (1995) Sheep and blood cell and brucella abortus antibody response selected for multitrait immuno competence. *Poult. Sci.* 74: 1603-1609.

26- Samadi, G. and Liebert. F. (2007) Lysine requirement of fast growing chickens-Effects of age, sex, level of protein deposition and dietary lysine efficiency. *J. Poult. Sci.* 44: 63-72.

27- SAS. (2002) *SAS Users Guide: Statistics*, version 7.0 (Cary, NC, USA, Statistical Analysis Institute, Inc.).

28- Siegel, H. S. and Gross. W.G. (1983) Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chicken. *Avian Diseases*, 27: 972-979.

29- Smith, W. K. (1978) The amino acid requirement of laying hen: models for calculation. 1.Physiological Background. *Wourld Poult. Sci. J.* 34: 81-96.

30- Sturkie, P. D. (1986) *Physiology*. 4 th ed. Springer verlag. New york.

31- Thomas, O. P., Twining, P.V. and Bossard. E. H. (1977) The available lysine requirement of 7-9 week old sexed broiler chicks. *Poult. Sci.* 56: 57-60.