



اثر تریپتوفان سنتتیک بر ایمنی و فراسنجه‌های ایمنولوژی خونی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

محمد علی چراغی آفرانی^{۱*}، محمود شیوازاد^۲، سید ناصر موسوی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه علوم دامی، کرج، ایران ۲- دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی، کرج، ایران ۳- دانشگاه آزاد

اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، گروه علوم دامی، ورامین- پیشوا، ایران

* نویسنده مسئول: (cheraghimohamad@alumni.ut.ac.ir)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر افزودن تریپتوفان سنتتیک بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی بود. تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی ۱۱ روزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و یک جیره شاهد و هر تیمار در چهار تکرار و شامل شش قطعه جوجه اختصاص یافتند. در این آزمایش از یک جیره بر پایه ذرت - کنجاله سویا و افزودن تریپتوفان سنتتیک در چهار سطح (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ بالاتر از سطح توصیه شده در راهنمای پرورشی) استفاده شد. در روزهای ۱۹، ۳۲ به پرنده‌گان واکسن نیوکاسل بصورت آشامیدنی داده شد و سپس در روزهای ۱۹، ۳۲ و ۴۲ روزگی از هر قفس دو پرنده خون گیری بعمل آمد و مقدار پادتن علیه آنتی ژن ویروس بیماری نیوکاسل اندازه گیری شد، همچنین در ۴۲ روزگی، از هر قفس ۲ پرنده کشتار و کبد و طحال توزین گردید. نتایج نشان داد که افزودن ۲۰٪ تریپتوفان سنتتیک به طور معناداری ($p < 0.05$) سبب بروز کمترین درصد وزن طحال نسبت به سایر تیمارها گردید از سوی دیگر افزودن تریپتوفان اثری بر درصد وزن کبد تحت تنش گرمایی نداشت. افزودن تریپتوفان بترتیب به مقدار ۱۰٪، ۱۵٪ و ۲۰٪ بالاتر از توصیه دارای اثر معناداری ($p < 0.01$) نسبت به دیگر سطوح مورد آزمایش در غلظت تیتر پادتن ویروس واکسن نیوکاسل در مقابله با تنش گرمایی می‌باشد.

واژگان کلیدی: جوجه گوشتی، تریپتوفان، سیستم ایمنی، تیتر پادتن علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل، تنش گرمایی.

مقدمه

ایران جزء مناطق گرم و خشک دنیا محسوب می‌گردد و دارای فصول گرم در طی تابستان می‌باشد، این شرایط اقلیمی باعث گردیده تا پرورش دهندگان طیور با چالش تنش گرمایی در فصول گرم مواجه باشند. تغذیه، بیش از ۷۰ درصد هزینه‌های جاری یک واحد پرورش طیور را تشکیل می‌دهد و مهمترین هدف علم تغذیه طیور، کسب حداکثر تولید با کمترین هزینه است که این خود با بیشترین بهره‌وری از مواد مغذی موجود در خوراک و تعیین دقیق نیاز پرنده در شرایط مختلف پرورشی بدست می‌آید. از مواد مغذی در مواد خوراکی اسیدهای آمینه می‌باشد که بیست عدد در ساختمان پروتئین‌ها نقش دارند. اسیدهای آمینه آزاد نقش مهمی در نگهداری بافت‌ها، هموستاز پروتئین و همچنین به عنوان سوسترای گلوکوژنیک، فعالیت آنزیمی و نوروترانسمیتورها باشند (۱۵).

استرس گرمایی باعث کاهش چشمگیر عملکرد جوجه‌های گوشتی و بازدهی لاشه (۱)، مصرف خوراک، افزایش وزن (۵، ۷، ۸)، افزایش میزان ضریب تبدیل غذایی (۱۵)، افزایش تلفات (۱۴). از مواردی که از آثار زیانبار تنش گرمایی پیشگیری می‌کند اسید آمینه تریپتوفان می‌باشد که باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در جوجه‌های تحت تنش گرمایی می‌گردد (۱۵). هسیا و همکاران (۶) با افزایش مقدار تریپتوفان تا مقدار ۰/۱۹۸٪ در جیره جوجه‌های گوشتی دریافتند عملکرد صفات لاشه به طور معناداری ($p < 0.05$) بهتر از زمانی بود که مقدار تریپتوفان ۰/۱۶۷٪ (جیره شاهد) در جیره بود. مکمل تریپتوفان، باعث کاهش وزن نسبی طحال و کبد ($p < 0.05$) در جوجه‌های قرار داده شده در معرض ۱۷ ساعت تنش در روز گردید (۱۱). ملاتونین از محصولات متابولیسمی حاصل از تریپتوفان از غده پینه آل است



که سبب ساخت سیتوکینین (۴) و ایجاد ایمنی اکتسابی می‌گردد. یافته‌ها حاکی از اثر ملاتونین بر بیماری‌های عفونی، ویروسی همچون ایدز در انسان (۱۰) و باکتریایی (۹) و به طور بالقوه در درمان بعضی از سرطان‌ها می‌باشد؛ نیز ملاتونین با منشأ داخلی در لوکوسیت‌های انسان باعث تولید اینترلوکین-۲ و بیان گیرنده‌های اینترلوکین-۲ می‌شود (۳). همچنین لنفوسیت‌های T برای فعالیت خود نیاز به اسید آمینه تریپتوفان دارند (۱۶).

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی ۱۱ روزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تیمار و چهار تکرار و شش قطعه جوجه مخلوط نر و ماده به طور مساوی (بمنظور از بین بردن اثر جنس) در هر تکرار استفاده شد و آب و خوراک به طور آزاد در اختیار پرندوها قرار گرفت. پنج جیره آزمایشی شامل جیره پایه بر اساس توصیه راهنمای پرورشی و چهار جیره که دارای بترتیب ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد تریپتوفان بالاتر از توصیه راهنمای پرورشی (جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفت و سطح دیگر اسیدهای آمینه بصورت ثابت و مطابق کاتالوگ و با استفاده از نرم افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم گردید. بمنظور اعمال تنش گرمایی پرندوها، دمای سالن پرورش جوجه‌ها در سطح ۳۰ درجه سلسیوس تنظیم و تا پایان ۴۲ روزگی ثابت ماند.

در سن ۱۹ روزگی دو قطعه جوجه همجنس از هر قفس انتخاب و علامت گذاری و پس از خونگیری در همین سن و ۳۲ روزگی واکسن نیوکاسل (شرکت سرم سازی رازی- ایران) به صورت آشامیدنی جوجه‌ها داده شد و در روزهای ۳۲ و ۴۲ دوباره از جوجه‌های علامت‌گذاری شده خونگیری صورت پذیرفت و پس از جدا سازی سرم، در دمای ۴۰- درجه سلسیوس منجمد گردید. در سن ۴۲ روزگی پرندوها، از هر قفس ۲ پرندۀ انتخاب، توزین و کشتار گردید و درصد وزن اندام‌های کبد و طحال به عنوان نماینده‌ای از بافت‌هایی که در سیستم ایمنی نقش اساسی دارند محاسبه گردید. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS ۹.۲ و رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن بهره‌گیری شد.

جدول ۱) اقلام خوراکی مورد استفاده در دوره‌های مختلف پرورش

مقدار (%)		ماده غذایی
دوره پایانی (۲۳-)	دوره رشد (۱۱-۲۲ روزگی)	
۵۹/۹۷	۵۸/۵۸	دانه ذرت
۳۰/۸۴	۳۳/۰۹	کنجاله سویا
۵	۳/۸۷	روغن سویا
۱/۸۱	۱/۹۵	دی کلسیم فسفات
۱/۱۱	۱/۱۷	پودر صدف
۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی جوجه گوشتی ^۱
۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینه جوجه گوشتی ^۲
۰/۴	۰/۴	نمک طعام
۰/۲	۰/۲۲	دی ال- متیونین
۰/۱۳	۰/۱۱	ال- ترئونین
۰/۰۳	۰/۱۰	ال- لیزین

۱. ترکیبات مکمل ویتامینه در هر کیلوگرم حاوی: ویتامین A ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۷۲۰۰ واحد بین المللی، ویتامین K ۰/۸ گرم، ویتامین B1

۰/۷۲ گرم، ویتامین B2 ۰/۳ گرم، ویتامین B3 ۴ گرم، ویتامین B5 ۱۲ گرم، ویتامین B6 ۱/۲ گرم، ویتامین B9 ۰/۴ گرم، ویتامین B12 ۰/۶ گرم، کولین کلراید ۲۰۰ گرم.

۲. ترکیبات مکمل معدنی در هر کیلوگرم حاوی: منگنز ۴۰ گرم، آهن ۲۰ گرم، روی ۴۰ گرم، مس ۴ گرم، ید ۰/۴ گرم، سلنیوم ۰/۰۸ گرم، کبالت ۰/۰۲ گرم.



نتایج و بحث

نتایج حاصل از افزودن سطوح مختلف تریپتوفان سنتتیک به جیره بر عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی (جدول ۲) بیانگر روند کاهشی غیر معنادار درصد وزن کبد با افزایش غلظت تریپتوفان جیره بود ($p > 0.05$). احتمالاً با افزایش سطح این اسید آمینه در جیره متابولیسم کبد بمنظور واکنش‌های دآمیناسیون افزایش می‌یابد و از آنجایی که واکنش‌های دآمیناسیون نیازمند انرژی هستند، لیپولیز افزایش یافته که به دنبال آن مقدار چربی ذخیره شده در کبد کاهش می‌یابد و وزن کبد کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، در شرایط تنش، ترشح هورمون ACTH (آدرنوکورتیکوتروپیک) از غده هیپوفیز افزایش می‌یابد، این هورمون غده‌ی فوق کلیه را تحریک کرده و باعث ترشح هورمون‌های استروئیدی همچون اپی نفرین، نور اپی نفرین و کورتیزول می‌شود که کورتیزول سنتز آنزیم‌های موثر در متابولیسم چربی‌ها را تسریع می‌کند و به دنبال آن ذخیره چربی در کبد افزایش می‌یابد. داده‌های بدست آمده با گزارش‌های برینس و جنسن (۲)، هسیا و همکاران (۶) و مونوا و همکاران (۱۱) تطابق داشت.

استفاده از تریپتوفان در سطح ۱۵ و ۲۰ درصد بالاتر از توصیه راهنمای پرورشی نسبت به سطوح ۵ و ۱۰ درصد و گروه شاهد سبب کاهش معنی دار ($p < 0.05$) درصد وزن طحال گردید. طحال از مهمترین اعضای بدن در سیستم ایمنی و ساخت گلبول‌های خون می‌باشد. در شرایط تنش، ترشح هورمون ACTH از غده هیپوفیز افزایش یافته که سبب تحریک غده‌ی فوق کلیه و افزایش ترشح کورتیکواستروئیدها و آدرنوکورتیکوتروپین‌ها می‌گردد که این دو سبب تخلیه لنفوسیت‌ها از مرکز زاینده‌ی طحال و کمبود همزمان لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌ها و تحلیل بافت طحال می‌شود (۱۳) از این رو با کاهش تعداد سلول‌های ایمنی خون، طحال مجبور به ساخت بیشتر این سلول‌ها و در نتیجه اعمال فشار مضاعف بر آن خواهد شد که باعث افزایش حجم و وزن نسبی این بافت خواهد شد که نتایج بدست آمده در این صفت با یافته‌های موفت و همکاران (۱۲) همسو بود.

تجزیه واریانس داده‌های تیترا پادتن علیه ویروس نیوکاسل در ۱۹ روزگی در سطح احتمال ۵ درصد بالاترین تیترا پادتن علیه ویروس بیماری نیوکاسل مربوط به تیمار ۱۵٪ بالاتر از توصیه راهنمای پرورش بود که با تیمارهای ۱۰٪ و ۲۰٪ بالاتر از توصیه تفاوت معناداری نداشت اما با تیمارهای ۵٪ بالاتر از توصیه و شاهد در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنادار داشت و کمترین مقدار تیترا نیز مربوط به تیمار بود که با تیمار ۵٪ بالاتر از توصیه تفاوت معناداری ($p > 0.05$) نشان نداد (جدول ۲). در سن ۲۸ روزگی بالاترین غلظت تیترا پادتن علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل مربوط به تیمار ۱۵٪ بالاتر از توصیه بود که با تیمارهای ۱۰٪ و ۲۰٪ تفاوت معناداری ($p > 0.05$) نداشت و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار ۵٪ بالاتر از توصیه بود که با تیمار شاهد تفاوت معناداری ($p > 0.05$) نداشت. به همین ترتیب در سن ۴۲ روزگی بیشترین غلظت پادتن در تیمار ۱۵٪ بیشتر از سطح توصیه بود، که تیترا این تیمار با تیمارهای دیگر جز تیمار شاهد که دارای کمترین مقدار تیترا پادتن بود تفاوت معناداری ($p > 0.05$) را نشان نداد. بروز تنش در جوجه‌های گوشتی سبب افزایش غلظت هورمون کورتیزول در خون می‌گردد که سبب تضعیف و سرکوب سیستم ایمنی می‌گردد که شاید پایین بودن غلظت پادتن در تیمار شاهد به این دلیل بوده است از سوی دیگر لنفوسیت‌های T که سلول‌های ایجاد کننده ایمنی همورال هستند برای انجام وظایف خود و زنده مانی به اسید آمینه تریپتوفان نیازمند هستند (۱۶). با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان نمود که تریپتوفان اثر مثبتی را بر ایجاد و ثبات ایمنی همورال در جوجه‌های گوشتی در معرض تنش گرمایی داشته است.



جدول ۲) مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف تریپتوفان در شرایط تنش گرمایی

تیمار	درصد وزن کبد	درصد وزن طحال	تیترا پادتن علیه آنتی ژن ویروس بیماری نیوکاسل ($\log_2$ HI)	سن ۴۲ روزگی	سن ۳۲ روزگی	سن ۱۹ روزگی
شاهد	۲/۶۷۳۶	۰/۱۱۳۳ ^a	۱/۶۲۵ ^c	۱/۸۷۵ ^b	۱/۲۵ ^b	
5 % TRP	۲/۶۵۰۵	۰/۱۱۱۸ ^a	۲/۱۲۵ ^b	۱/۷۵ ^b	۲/۱۲۵ ^a	
10% TRP	۲/۶۰۴۷	۰/۱۱۱۷ ^a	۲/۳۷۵ ^{ab}	۲/۲۵ ^a	۲/۳۷۵ ^a	
15% TRP	۲/۵۱۲۲	۰/۱۰۸۰ ^b	۲/۵ ^a	۲/۲۵ ^a	۲/۳۷۵ ^a	
20% TRP	۲/۵۰۴۷	۰/۱۰۵۷ ^b	۲/۲۵ ^{ab}	۲/۲۵ ^a	۲/۳۷۵ ^a	
SEM	۰/۰۶۷	۹/۱۵۵×E ⁻⁴	۰/۲۲۴	۰/۰۶۴	۰/۱۳۶	
P- value	۰/۳۵۰۶	۰/۰۰۰۸	۰/۰۱۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۳	

منابع

1. Ain Baziz, H., P.A. Geraert, J.C.F. Padilha and S. Guillaumin, 1996. Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. Poult. Sci., 75: 505-513.
2. Brenes, A. and L. S. Jensen. 1982. Effect of acetylsalicylic acid on deposition of abdominal fat in broilers. Nutrition reports international. 26: 501-508.
3. Carrillo-Vico, A. 2004. Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the interleukin-2/interleukin-2 receptor system. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90 (2): 992-1000.
4. Carrillo-Vico, A., R. J. Reiter, P. J. Lardone, J. L. Herrera, R. Fernández-Montesinos, J. M. Guerrero, D. Pozo. 2006. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. Curr Opin Investig Drugs 7 (5): 423-31.
5. Geraert, P. A., J. C. F. Padilha and S. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. Br.J.Nutr. 75, 195-204.
6. Hsia, L.C., J. H. Hsu, C. T. Liao. 2005. The Effect of Varying Levels of Tryptophan on Growth Performance and Carcass Characteristics of Growing and Finishing Broilers. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol 18, No. 2: 230-234.
7. Howlader, M. A. R. and S. P. Rose. 1987. Temperature and the growth of broilers. World's Poult. Sci. J. 43:228-237.
8. MacLeod, M. G. and P. M. Hocking. 1993. Thermoregulation of high temperature of genetically fat and lean broiler hens fed ad libitum or on a controlled-feeding regime. Br. Poult. Sci. 34: 589-596.
9. Maestroni, G. J. 1999. Therapeutic potential of melatonin in immune-deficiency states, viral diseases, and cancer. Adv. Exp. Med. Biol. 467: 217-226.



10. Maestroni G. J. 2001. The immunotherapeutic potential of melatonin. *Expert Opin Investig Drugs*. 10 (3): 467-76.
11. Moneva, P., S. Popova-Ralcheva, D. Gudev, V. Sredkova, I. Yanchev. 2008. Study on the Metabolic Implication of Supplemental Tryptophan in Exposed to Stress Chickens. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 14: 424-431.
12. Moffett, J. R., K. L. Blinder, C. N. Venkateshan and M. A. Namboodiri. 1998. Differential effects of kynurenine and tryptophan treatment on quinolinate immunoreactivity in rat lymphoid and non-lymphoid organs. *Cell. Tissue Res.*, 293: 525-534.
13. Siegel, H. S. 1995. Stress, strain and resistance. *British Poultry Sci.* vol (36): 3-22.
14. Smith, M. O. 1993. Parts yield of broilers reared under cycling high temperature. *Poult. Sci.* 72:1146-1150.
15. Tabiri, H. Y., Sato, K., Takahashi, T., Toyomizu, M., Akiba, Y. 2002. Effects of Heat Stress and Dietary Tryptophan on Performance and Plasma Amino Acid Concentrations of Broiler Chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 15, 2: 247-253.
16. Terness P, T. M. Bauer, L. Rose, C. Dufter, A. Watzlik, H. Simon. 2002. Inhibition of allogeneic T cell proliferation by indole amine 2, 3-dioxygenase-expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites. *Journal of Exp. Med.* 196(4): 447-57.

Effect of dietary synthetic Tryptophan supplementation on immunity and blood immunological parameters of broiler under heat stress conditions

Mohammad Ali Cheraghi Afarani^{1*}, Mahmoud Shivazad², Seyed Naser Mousavi³

1. Department of Animal Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. 2. Department of Animal Science, Tehran University, Karaj, Iran. 3. Department of Animal Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran.

* Corresponding E-mail address: (cheraghimohamad@alumni.ut.ac.ir)

Abstract:

The goal of this study was to investigate the effect of tryptophan (Trp) on immune system of broiler chickens under heat stress condition. One hundred twenty 11-d-olds Cobb500 broiler chickens randomly assigned to five treatments with four replicates and six chickens per replicate by using a completely randomized design. In this study, corn – soybean meal diets with five graded levels of tryptophan (0, 5, 10, 15 and 20%) above Cobb nutrition recommendation were used.

At 19 and 32 the Newcastle virus vaccine was given in the drinking water and then at 19, 32 and 42 days of age, two birds from each replicate were selected and antibody titer against Newcastle virus were measured in their blood samples. Also at 42 days of age, two birds per replicate killed and the liver and the spleen were weighed. The results concluded that supplementation of 20% Trp above the recommendation levels resulted in the significantly lowest percentage of spleen weight ($p < 0.05$) and supplementation of Trp have no significantly effects on liver weight ($p > 0.05$) under heat stress condition in broiler chicks. 10%, 15% and 20% Trp above the recommended levels resulted significantly ($p < 0.01$) highest antibody titers, against Newcastle viruses respectively.

Keywords: broiler, tryptophan, immunological system, antibody titers against Newcastle virus, heat stress condition.