

# تأثیر سطوح مختلف سلنیوم بر فراسنجه‌های متابولیکی خون و ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی

رضا وکیلی<sup>۱\*</sup> مهدی بهرام<sup>۲</sup>

(۱) گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر، کاشمر - ایران.

(۲) فارغ التحصیل کارشناس ارشد علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر، کاشمر - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ بهمن ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۱۳ مهر ماه ۱۳۸۸)

## چکیده

سلنیوم یک ماده معدنی کمیاب ضروری است و اثرش دیدی بر ایمنی، سلامتی و عملکرد تولیدی دارد. این آزمایش به منظور تعیین اثرات سه سطح سلنیوم بر عملکرد تولیدی و ایمنولوژیکی جوجه‌های گوشتی انجام شد. ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سوپه تجاری راس در یک طرح کاملاً تصادفی، با ۳ تیمار (۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار) با یکی از جیره‌های دارای سه سطح سلنیوم شامل جیره فاقد سلنیوم، جیره دارای سلنیوم در سطح NRC (۱۵/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و ۲ برابر (۳/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تغذیه شدند. جوجه‌ها در ۲۱ و ۳۵ روزگی با ۲/۰ سی‌سی محلول ۵ درصد گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در عضله سینه تزریق شدند و در ۷ و ۱۴ روز بعد از هر تزریق نمونه‌گیری خونی انجام شد. افزودن سلنیوم به جیره موجب افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و نیز تغییر معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی نگردید ( $p > 0.05$ ). افزودن سلنیوم منجر به مشاهده تفاوت معنی‌داری بر فاکتورهای خونی (کلسترول، LDL-کلسترول و HDL-کلسترول) گردید ( $p < 0.05$ ). اما بر تری‌گیلسرید و VLDL-کلسترول تأثیر معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). اثر جیره حاوی سطح ۳/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم منجر به افزایش معنی‌داری در میزان گاما‌گلوبولین تولید شده و نیز تیتراژ IgY نام‌در ۷ روز بعد از تزریق دوم شد ( $p < 0.05$ ). وزن ارگان‌های لنفوئیدی (طحال و بورس فابریسیوس) به طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌ها قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). از این تحقیق استنتاج می‌شود که افزودن سطوح سلنیوم مورد استفاده (بیشتر از سطح توصیه شده توسط NRC) در این آزمایش منجر به بهبود عملکرد، و تغییر در اندام‌های لنفوئیدی نگردید، اما موجب بهبود عملکرد ایمنولوژیکی بدن پرنده و نیز فاکتورهای خونی مورد بررسی شد.

واژه‌های کلیدی: متابولیت‌های خونی، ایمنی هومورال، سلنیوم، جوجه گوشتی.

بخصوص سلول‌های ایمنی جهت کشتن عوامل بیماری‌زا، رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کنند (۱۴). سلنیوم از پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک جلوگیری نموده و از این طریق سلول‌ها و بافت‌های ایمنی را از صدمه رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند (۳). منابع سلنیومی در فرایند تولید گلوکوتیون پراکسیداز به منظور افزایش قدرت سیستم ایمنی نقش کلیدی دارند. منابع سلنیومی در افزایش ایمنیت و تحریک تولید گلبول‌های سفید و نیز فعالیت تیموس ضروری هستند (۲۹). از سوی دیگر سلنیوم عنصر کمیابی است که پتانسیل ضد سرطانی آن به خوبی شناخته شده است و می‌تواند سیستم ایمنی سلولی را به شدت تحت تأثیر قرار داده باعث تحریک آن شود (۴). استفاده از ۰/۲۵ قسمت در میلیون سلنیوم یا بیشتر موجب افزایش تعداد لوکوسیت‌های موجود در خون بعد از عفونت ناشی از کوکسیدیوز شد و این نشان دهنده تأثیر بر افزایش قدرت و به عبارتی تحریک بیشتر سیستم ایمنی بود (۹). همچنین تیمارهای آزمایشی حاوی ویتامین E یا سلنیوم به تنهایی توانستند تیتراژ آنتی‌بادی خون را افزایش دهند و افزایش قابل ملاحظه‌ای نیز در استفاده توام ویتامین E و سلنیوم دیده شد (۱۳). با توجه به این که مشخص شده که در هر مول ایمونوگلوبولین ۱/۴۷ گرم اتم سلنیوم در محل پیوند دی سولفید آن قرار گرفته و در صورت کافی بودن سلنیوم در بدن از

## مقدمه

امروزه سلنیوم را به عنوان یکی از عناصر کم نیاز ضروری می‌شناسند که جایگاه ویژه‌ای در بین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در مواد غذایی داشته و جزء جدایی‌ناپذیر سلنو پروتئین‌های شرکت کننده در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک بدن جانداران می‌باشد (۱). به طور کلی سلنیوم نقش بهبود دهنده در زمینه لیپوپروتئین‌های پلاسما و از آن جمله تأثیر بر کاهش میزان کلسترول پلاسما، کاهش Cholesterol (LDL-C: Low density Lipoprotein)، افزایش cholesterol (HDL-C: high density Lipoprotein) و نیز کاهش میزان تری‌گیلسرید پلاسما دارد (۲۷). سلنیوم به عنوان بخشی از آنزیم گلوکوتیون پراکسیداز درون سلولی اولین و دومین سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسید کننده را ایجاد می‌کند. آنزیم گلوکوتیون پراکسیداز در جهت کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی ضروری است (۲۵). چرا که رادیکال‌های آزاد دائماً در فعالیت‌های فیزیولوژیک تولید می‌شوند و تولید آنها در شرایط استرس افزایش می‌یابد همچنین منابع اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در سلول شامل زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری‌ها، آنزیم‌های متابولیسم گزنوبیوتیک و سلول‌های ایمنی می‌باشد.



یعنی در (۵۶ روزگی) از هر تیمار ۵ جوجه به صورت تصادفی انتخاب شده سر بریده شدند و برای برداشتن اندام‌های بورس فابریسیوس و طحال جراحی و وزن شدند. اعداد بدست آمده ثبت و به صورت درصدی از وزن بدن نیز با استفاده از جدول  $\text{ARC sin}$  یادداشت شدند (۳۳).

الکتروفورز با استات سلولز (CAE)، تفکیک پروتئین‌های پلاسما (آلبومین، بتاگلوبولین و گاماگلوبولین) دانسیتومتری برای بررسی و تعیین میزان الگوهای الکتروفورزی و ترسیم الکتروفورتوگرام جهت مقایسه گاماگلوبولین‌ها که یکی از فاکتورهای بیانگر فعالیت سیستم ایمنی می‌باشد. در این تحقیق IgY جوجه‌ها به وسیله روش انتشار شعاعی یک طرفه (SRID) اندازه‌گیری شد. اساس این روش مبتنی بر تشکیل یک رسوب قابل رویت، حاصل از واکنش بین IgY و آنتی‌بادی ضد آن، با نسبت‌های مناسب می‌باشد. محیط مناسب جهت تشکیل این کمپلکس‌های ایمنی، محیط نیمه جامد ژل می‌باشد. در این تحقیق آنتی‌بادی ضد IgY که از شرکت سیگما تهیه شده بود، به صورت یک نواخت در ژل پراکنده شده و نمونه مورد آزمایش حاوی آنتی ژن (که در واقع IgY جوجه می‌باشد) داخل حفرات تعبیه شده در ژل قرار گرفت. با انتشار شعاعی آنتی ژن و برخورد با آنتی‌بادی در نقاطی که غلظت آنها به تعادل می‌رسد یک حلقه رسوبی پایدار قابل رویت تشکیل می‌شود که رابطه مستقیم با غلظت آنتی ژن دارد.

**آزمایشات بیوشیمیایی:** برای تعیین میزان کلسترول پلاسما اسیژن آزاد شده از کلسترول در مجاورت کلسترول اکسیداز با ۴- آمینوآنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین داد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتری قابل اندازه‌گیری بود و با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد در طول موج مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. اندازه‌گیری تری گلیسرید به روش آنزیماتیک بر طبق واکنش‌های زیر انجام گرفت. رنگ حاصل از کینون قرمز در پایان واکنش متناسب با غلظت تری گلیسرید منظور شد. برای تعیین کلسترول ژرچگال (HDL-C) از روش آنزیماتیک CHOD-PAP کلسترول کم چگال (LDL-C)، لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (VLDL-C) و شیلومیکرون‌ها توسط اسید فسفوتنگستیک و کلرید منیزیم از سرم جدا شده و پس از سانتریفوژ ته نشین شد. (HDL-C) در محلول فوقانی باقی مانده و به وسیله معرف کلسترول مقدار آن‌ها تعیین گشت. مقدار (LDL-C) نیز به روش آنزیماتیک، تغییر رنگ محلول و تعیین آن توسط روش فتومتری انجام پذیرفت (۷). مقدار لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (LDL-C) از طریق محاسبه به دست آمد.

**فرمول محاسبه جهت انجام کلیه آزمایشات بیوشیمیایی به این ترتیب است:**

غلظت استاندارد × جذب نوری استاندارد / جذب نوری ماده مورد

بررسی = غلظت ماده مورد بررسی

طریق واکنش با ایمونوگلوبولین Y ممکن است منجر به افزایش عملکرد ایمنوگلوبولین Y گردد (۸) و از طرف دیگر اثر جیره‌های فاقد سلنیوم و سلنیوم بیشتر از مقدار توصیه شده انجمن ملی تحقیقات، که ۰/۱۵ میلیگرم در کیلوگرم می‌باشد بر رشد، فراسنجه‌های لیپیدی خون، وزن اندام لنفوئیدی و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی مشخص نیست، این تحقیق به انجام رسید.

## مواد و روش کار

در این آزمایش از ۲۲۵ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه تجاری راس (Ross) در ۳ تیمار ۵ تکرار و هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه در داخل پن با سیستم بستر استفاده شد. تیمار اول فاقد سلنیوم، تیمار دوم حاوی ۰/۱۵ میلیگرم در کیلوگرم سلنیوم و تیمار سوم حاوی ۰/۳ میلیگرم در کیلوگرم سلنیوم بود. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود جیره‌های آزمایشی با توجه به ترکیبات مواد خوراکی، با انرژی یکسان برای دوره‌های مختلف بر پایه ذرت - سویا تهیه و تنظیم گردید. برای تنظیم جیره‌ها از نرم افزار UFFDA استفاده شد. دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد در نظر گرفته و وزن‌گیری جوجه‌ها و تعیین خوراک مصرفی به صورت هفته‌ای انجام شد.

**تهیه SRBC:** پس از خونگیری از ورید و داج گوسفندان به منظور تهیه SRBC خون، در ارلن حاوی EDTA ریخته شد و به آرامی حرکت داده شد. مقدار EDTA برای هر میلی لیتر خون حدود ۰/۱ تا ۰/۲ میلیگرم می‌باشد. پس از خونگیری سرم فیزولوژی ۹ در هزار به خون اضافه و مخلوط گردید، سپس با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده و پلاسما آن دور ریخته شد. دوباره با ریختن محلول استریل PBS سانتریفوژ در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

**ایمن‌سازی:** به منظور ایجاد تحریک در سیستم ایمنی یا به عبارتی چلنج نمودن سیستم ایمنی در سن ۲۱ روزگی مقدار ۰/۲ میلی لیتر از محلول SRBC ۵ درصد از طریق تزریق I.M در عضله سینه جوجه‌ها انجام و جوجه‌ها چلنج شدند. مرحله دوم ایمنی‌سازی در جوجه‌ها ۱۴ روز پس از چلنج اولیه یعنی در سن ۳۵ روزگی صورت گرفت.

**نمونه‌گیری خون:** تزریق اولیه SRBC در ۲۱ روزگی و اولین نمونه‌گیری ۷ روز پس از انجام اولین چلنج یعنی در سن ۲۸ روزگی و نیز ۷ روز بعد از آن یعنی در سن ۳۵ روزگی از هر تیمار ۵ جوجه انتخاب و خونگیری از طریق سیاهرگ زیر بال انجام شد. بعد از این مرحله چلنج دوم در همان روز صورت گرفت و نمونه‌های خونی مورد نیاز پس از این چلنج در روزهای ۷ و ۱۴ پس از چلنج یعنی در سن ۴۲ و ۴۹ روزگی جوجه‌ها از طریق سیاهرگ زیر بال به منظور بدست آوردن میزان تیترا آنتی‌بادی تولید شده بر علیه SRBC گرفته شد مراحل فوق در جدول آورده شده است.

**تجزیه لاشه و جدا نمودن اندام‌های لنفوئیدی:** به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن و رشد اجزای لاشه، در پایان آزمایش



جدول ۱- ترکیب جیره های آزمایشی.

Vit A, 7700 IU ; Vit D3 2194.5 IU Vit E 9.9 IU; Vit B12, 11 μg; riboflavin 4.95mg; niacin 33mg; d-pantothenic acid 8.75mg; thiamin 0.99mg; folic acid 544.5 μg biotin 55 μg; pyridoxine 0.88mg; iron 30mg; zinc 55mg; manganese 60.5mg ; copper 7.7mg; iodine 1.1mg; selenium 0-0.15-0.3 mg

جدول ۲- میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه در تیمارهای مختلف در دوره های مختلف پرورش (گرم).

سلیوم	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی
مصرف خوراک	۴۸/۴	۱۴۹/۴	۲۵۷/۱
فاقد سلنیوم			
۱۵/۰ میلیگرم/کیلوگرم	۴۸/۹	۱۵۰/۹	۲۵۴/۳
۳/۰ میلیگرم/کیلوگرم	۴۹/۵	۱۵۱/۴	۲۶۱/۷
خطای معیار (SE)	۱/۸۲	۱/۴۲	۱/۹۶
درصد احتمال	۰/۹۶	۰/۸۰	۰/۲۵
افزایش وزن روزانه			
۱۰/۰ میلیگرم/کیلوگرم	۲۸/۱	۶۸/۱	۹۴/۴
۱۵/۰ میلیگرم/کیلوگرم	۲۸/۷	۶۹/۲	۹۱/۸
۳/۰ میلیگرم/کیلوگرم	۲۹/۹	۷۰/۶	۹۷/۰
خطای معیار (SE)	۰/۶۴	۱/۰۴	۱/۷۴
درصد احتمال	۰/۴۶	۰/۵۸	۰/۴۲

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم)	پیش دان	رشد	پایانی
ذرت	۳۵۴/۵	۳۱۷	۷۰۸/۶
سویا	۱۲۷/۵	۱۵۶	۲۵۵
سوس گندم	۱	۱	۲
روغن	۳/۷	۱۱/۱	۷/۴
دی کلسیم فسفات	۴	۵/۱	۸
پودر صدف	۵/۸	۶/۲	۱۱/۶
نمک	۱/۲	۱/۵۵	۲/۴
مکمل ویتامینه	۱/۵	۱/۲۵	۲/۵
مکمل مینراله	۰/۸	۰/۷	۲/۵
ترکیب مواد مغذی			
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۰/۸۴	۱۸/۱۲	۱۶/۳۱
کلسیم (درصد)	۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۷۲
فسفر فراهم (درصد)	۰/۴۱	۰/۳۲	۰/۲۷
سدیم (درصد)	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۱۱
آرژنین (درصد)	۱/۴۰	۱/۲۲	۱/۰۷
لیزین (درصد)	۱/۲۶	۱/۰۱	۰/۸۷
متیونین (درصد)	۰/۸۲	۰/۶۶	۰/۸۵
تریپتوفان (درصد)	۰/۳۰	۰/۲۷	۰/۲۳

حاوی سطوح مختلف سلنیوم با هم تفاوت معنی دار نداشتند ( $p > 0.05$ ). همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که اثر سلنیوم در دوره های مختلف پرورش تأثیر معنی داری ( $p > 0.05$ ) بر افزایش وزن روزانه جوجه ها نداشت (جدول ۲).

ضریب تبدیل غذایی: همان طور که در جدول ۳ آمده است، افزودن سلنیوم به جیره پایه تأثیر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشته است ( $p > 0.05$ ).

وزن اندام های لنفوئیدی: آتروفی اندام های لنفوئیدی در محرومیت های تغذیه ای، یک اتفاق بدیهی است. ارتباط بین آتروفی تیموس و سوء تغذیه به اثبات رسیده است (۳۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن سلنیوم درصد وزن طحال و بورس فابریسیوس را به طور معنی دار تحت تأثیر قرار نداد ( $p > 0.05$ ).

فراسنجه های خونی: همان طور که در جدول ۴ آمده است، تفاوت بین تیمار های آزمایشی حاوی سطوح مختلف سلنیوم از نظر مقدار تری گلیسرید و VLDL-C به دست آمده تحت این آزمایش از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $p > 0.05$ ), با این حال افزایش سلنیوم منجر به کاهش میانگین غلظت آن ها گردید. اما تفاوت HDL-C, LDL-C و کلسترول پلاسمای خون آنها از لحاظ آماری معنی دار شد و سطوح بالاتر سلنیوم در گروه های دریافت کننده ۰/۱۵ و ۰/۳ میلیگرم در کیلوگرم منجر به کاهش میانگین غلظت کلسترول و LDL-C و افزایش HDL-C شد ( $p < 0.05$ ).

طرح آزمایشی مورد استفاده و آنالیز آماری داده ها: در این آزمایش از یک طرح ساده به صورت کاملاً تصادفی (CRD) استفاده شد. نتایج حاصل از آزمایشات پس از وارد شدن به نرم افزار اکسل و مرتب سازی به نرم افزار آماری SAS (Institute, 1996) نسخه ۶.۱۲ منتقل و با رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی دار ۵ درصد انجام شد. به منظور به دست آوردن وزن بافت های بدن از جدول ARCSIN استفاده شد.

### نتایج

مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه بر اساس داده های به دست آمده در این تحقیق خوراک مصرفی در جوجه های استفاده کننده از جیره های



جدول ۳- میانگین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف در دوره‌های مختلف پرورش.

دوره	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی	حد پایینی	میانگین	حد بالایی	حد پایینی	میانگین	حد بالایی
سلیوم	۱/۶۵	۱/۷۳	۱/۸۱	۲/۱۶	۲/۱۹	۲/۲۲	۲/۶۷	۲/۷۳	۲/۷۹
فاقد سلیوم	۱/۶۲	۱/۷۰	۱/۷۸	۲/۱۵	۲/۱۸	۲/۲۱	۲/۷۱	۲/۷۷	۲/۸۳
۰/۱۵ میلی‌گرم/گرم کیلوگرم	۱/۵۷	۱/۶۵	۱/۷۳	۲/۱۱	۲/۱۴	۲/۱۷	۲/۶۴	۲/۷۰	۲/۷۶
۰/۳ میلی‌گرم/گرم کیلوگرم									
درصد احتمال	۰/۹۰	۰/۷۵	۰/۸۸						

نتوانست تأثیر معنی‌دار بر مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی داشته باشد هم‌خوانی دارد (۲۱) توجه دیگری که برای عدم اختلاف معنی‌دار در خوراک مصرفی قابل بیان می‌باشد این است که چون جیره‌های تنظیمی از لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بودند لذا دستیابی به چنین یافته‌هایی دور از ذهن نیست (۱۷). لذا می‌توان نتیجه گرفت نوع و مقدار سلیوم مورد استفاده در تیمارهای مختلف نتوانسته است تغییری در مصرف خوراک جوجه‌های تحت آزمایش داشته باشد.

**افزایش وزن روزانه:** نتایج افزایش وزن بدست آمده با نتایج حاصل از تحقیق‌های Jensen و Colanago در سال ۱۹۹۴ مطابقت دارد که سطح مورد استفاده در آزمایش آنها ۰/۲۵ میلی‌گرم بود (۹). همچنین با نتایج Rio و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز مطابقت دارد که عنوان نمود استفاده از سلیوم در سطوح ۱-۸ پی پی ام نتوانست تأثیر بر افزایش وزن داشته باشد (۲۱). عوامل پاتوژن باعث می‌شوند سیستم ایمنی پرنده تحریک و در نتیجه به جای این‌که مواد مغذی جهت ساختن پروتئین و عضلات بکار روند، در سیستم ایمنی حیوان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۸).

**ضریب تبدیل غذایی:** نتایج این آزمایش در مورد ضریب تبدیل غذایی با نتایج به دست آمده از تحقیقات Machot و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Sanjio و همکاران در سال ۲۰۰۵ که در سطح ۰/۲۵ میلی‌گرم و ۰/۲ میلی‌گرم سلیوم آزمایش نموده بودند انطباق دارد (۱۷، ۲۲).

**وزن اندام‌های لنفوئیدی:** تحت تأثیر فقدان بیش از حد سلیوم رشد بورس کاهش یافته و نیز تعداد لنفوسیت‌های موجود در بورس فابریسیوس کاهش می‌یابد. این عملکرد با تأثیر بر فعالیت گلوکوکورتیکوئیدها منجر به افزایش اثرات ضد التهابی و در نتیجه کاهش فرآیند تولید لنفوسیت‌ها می‌شود در نتیجه موجب کاهش اندازه گره‌های لنفاوی و نیز تیموس و طحال و در نتیجه کاهش تولید آنتی‌بادی می‌گردد (۲۰، ۲۰). اما با توجه به نتایج تحقیق حاضر مشاهده می‌شود که در طول دوره پرورش بورس و طحال به فعالیت طبیعی خود ادامه داده و عوامل ضد تغذیه‌ای که سبب اختلال در فعالیت بورس یا طحال می‌شوند به حدی نبوده که تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در وزن آنها در انتهای دوره ایجاد نماید.

**فراسنج‌های خونی:** نتایج فراسنج‌های خونی با تحقیق‌های Tanaka

جدول ۴- مقایسه میانگین غلظت فراسنج‌های پلاسماهای خون تیمارهای مختلف آزمایشی (میلی‌گرم/دسی لیتر) اعداد هر ردیف با حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری باشد ( $p < 0.05$ ).

اجزاء	سلیوم			خطای استاندارد میانگین‌ها
	فاقد سلیوم	۰/۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم	۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم	
کلسترول mg/dl	۱۳۷/۶ <sup>a</sup>	۱۲۸/۹ <sup>ab</sup>	۱۲۱/۷ <sup>b</sup>	۰/۰۳
HDL-C mg/dl	۷۵/۲ <sup>چ</sup>	۷۸/۹ <sup>ab</sup>	۸۲/۷ <sup>a</sup>	۰/۰۵
LDL-C mg/dl	۳۷ <sup>a</sup>	۲۶/۹ <sup>ab</sup>	۱۷ <sup>b</sup>	۰/۰۱
LVDL-C mg/dl	۲۵/۲	۲۴	۲۲/۶	۰/۰۲۹
تری‌گلیسرید mg/dl	۱۲۶/۴	۱۲۰/۳	۱۱۳/۴	۰/۰۳

**صفات مربوط به سیستم ایمنی:** همان‌گونه که در جداول ۵ مشاهده می‌کنید نتایج این تحقیق حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار ( $p > 0.05$ ) در ۷ و ۱۴ روز پس از اولین چلنج و نیز ۱۴ روز پس از چلنج دوم بود. اما با توجه به تأثیر سلیوم بر میزان گاما گلوبولین ( $p < 0.05$ ) و غلظت IgY سرم ( $p < 0.01$ ) در ۷ روز پس از چلنج دوم می‌توان نتیجه گرفت سلیوم بر افزایش توانایی و قدرت سیستم ایمنی موثر بوده است.

همچنین همان‌طور که در تصویر ۱ مشاهده می‌گردد جوجه‌هایی که تحت تأثیر چلنج SRBC بوده و ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلیوم مصرف کرده بودند به نسبت جوجه‌هایی که سلیوم مصرف نکرده بودند (تیمار شاهد) ۷ روز پس از چلنج دوم، میزان گاما گلوبولین تولیدی بیشتری داشتند.

## بحث

**مصرف خوراک:** یافته‌های این تحقیق با گزارش‌های Sanjio و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطابقت دارد که نشان دادند افزودن سلیوم در سطح ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره تأثیر معنی‌داری بر خوراک مصرفی در طی آزمایش نداشت (۲۸). همچنین نتایج حاضر با نتایج MaChot و همکاران در سال ۲۰۰۴ که عنوان نمودند استفاده از ۰/۲۵ میلی‌گرم سلیوم



جدول ۵ - مقایسه میانگین میزان گاما گلوبولین های تولید شده (درصد) و میانگین تیتراژ Igy (میلی گرم) تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی اعداد هر ردیف با حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دار می باشد (p < ۰/۰۵).

خطای استاندارد میانگین ها	سطح احتمال	سلنیوم			گاما گلوبولین %
		۰/۳ میلیگرم/کیلوگرم	۰/۱۵ میلیگرم/کیلوگرم	۰ میلیگرم/کیلوگرم	
					گاما گلوبولین های تولید شده
۰/۶۴	۰/۳۵	۲۲/۸۴	۲۲/۰۴	۲۰/۷۲	۷ روز پس از اولین تزریق
۱/۰۷	۰/۲۵	۳۴/۵	۳۱/۷۲	۳۰/۴۶	۱۴ روز پس از اولین تزریق
۰/۵	۰/۰۲۲	۴۴/۴۸ <sup>a</sup>	۴۰/۳۰ <sup>ab</sup>	۳۸/۸۴ <sup>a</sup>	۷ روز پس از تزریق دوم
۲/۸	۰/۵۷	۴۶/۳۶	۴۳/۲۵	۳۹/۵۴	۱۴ روز پس از تزریق دوم
					میانگین تیتراژ خب
۲۰/۲	۰/۵۶	۳۶۳/۴	۳۴۶/۲	۳۵۱/۶	۷ روز پس از اولین تزریق
۲۵/۴	۰/۱۱	۶۶۲	۵۵۸/۲	۵۴۶/۳	۱۴ روز پس از اولین تزریق
۲۱	۰/۰۱۶	۸۳۱/۲ <sup>a</sup>	۷۷۷/۲ <sup>ab</sup>	۶۶۹/۶ <sup>a</sup>	۷ روز پس از تزریق دوم
۳۳	۰/۲۵	۸۹۰/۱	۷۸۹/۳	۷۴۷/۶	۱۴ روز پس از تزریق دوم

کننده گلو تاتیون را محدود می کند. LDL-C اکسید شده منجر به افزایش لیپید هیدروپراکسیدها و نیز تولید آلدئیدها شده که سبب صدمه به لیپیدها می گردد. استات LDL-C منجر به افزایش گاما گلوبولین های سیستمین سنتتاز در نتیجه میزان GSH افزایش و در فرآیند فعال نمودن گلو تاتیون پراکسیداز، GSH استفاده می شود (۲۴). مالونیل دی آلدئید تحت تأثیر رادیکال های آزاد متاثر از کمبود سلنیوم و ویتامین E قرار گرفته و منجر به افزایش کلسترول پلاسما خون در موش های تحت آزمایش گردیده است. سلنیوم بهبود دهنده هایپرکلسترولمی می باشد (۱۶).

**صفات مربوط به سیستم ایمنی:** به منظور بررسی واکنش سلنیوم با ایمنوگلوبولین Y و واکنش سلنیت رادیواکتیو Se75 را با ایمنوگلوبولین های خاص سازی شده در شرایط اسیدی و خنثی مورد آزمایش قرار داده اند و با استفاده از روش اتورادیوگرافی عملکرد Se75 نشاندار مورد بررسی قرار گرفته است. با افزودن Se75 به محیط عمل مشخص شد که در هر مول Igy، Igy ۱/۴ میلیگرم اتم سلنیوم در محل پیوند دی سولفید موجود در Igy قرار گرفته و نشان داد که سلنیوم ممکن است در صورت کافی بودن در بدن از طریق واکنش با ج خب منجر به افزایش عملکرد آن در سیستم ایمنی گردد (۸). در مورد نتیجه به دست آمده در آزمایش حاضر می توان این گونه استدلال نمود که تحت تأثیر چلنج SRBC در جوجه های مصرف کننده ۰/۳ میلیگرم بر کیلوگرم سلنیوم تزریق ثانویه غالباً با پاسخ قوی تری همراه بوده و علاوه بر آن با افزایش سن جوجه ها سیستم ایمنی کامل تر می شود. آنتی بادی های موجود در خون بعد از تولد منشاء مادری داشته که به تدریج تا ۱۶ الی ۲۱ روزگی مقدار آن کاهش و بعد از این مکانیسم تولید آنتی بادی در بدن فعال شده و تیتراژ آنتی بادی ها روند افزایشی را طی می کند (۲۳). این نتایج با آزمایشات انجام شده از سوی ون در Zip و

و همکاران هم خوانی دارد. تحقیقاتی که در این زمینه بر روی موش صورت گرفت نشان داد که کمبود سلنیوم منجر به افزایش کلسترول پلاسما خون شده و استفاده از سطوح مناسب می تواند منجر به کاهش کلسترول LDL-C و نیز منجر به افزایش HDL-C گردد (۲۷).

در یک آزمایش از جیره هایی که سطح ۰/۰۲ میلیگرم و ۰/۲ میلیگرم را به عنوان جیره های ناکافی و کافی از سلنیوم تهیه نمودند مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۲ ماه رسپتورهای LDL-C در شرایط آزمایشگاهی با تزریق LDL-C نشاندار شده رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفتند. میزان کاهش نرخ فرکانس به زمان، مشخص کننده مصرف LDL-C و به عبارتی پاک شدن آن در نتیجه فعالیت رسپتورهای LDL-C خون بود. فعالیت mRNA رسپتورهای LDL-C در شرایط آزمایشگاهی با تزریق LDL-C نشاندار شده رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفت. در جیره با سطح سلنیوم پایین میزان کاهش فعالیت رسپتورهای LDL-C و نیز کاهش فعالیت mRNA بیشتر از جیره حاوی مقدار بالای سلنیوم بود. نتیجه گرفته شد که فقدان سلنیوم در موش ها سبب افزایش کلسترول پلاسما خون و افزایش LDL-C می گردد. حال آن که استفاده کافی از سلنیوم می تواند میزان LDL-C را کاهش دهد (۱۲). سلنیوم منجر به افزایش میزان گلو تاتیون پراکسیداز سرم و از سوی دیگر منجر به افزایش میزان سلنیوم سرم شده، از این دوره منجر به افزایش HDL-C پلاسما و کاهش تشکیل اجسام پلاکتی در عروق و نهایتاً موجب جلوگیری از مسدود شدن رگ ها می شود (۱۲، ۲۴). کاهش سلنیوم سبب تولید LDL-C اکسید شده می گردد که به سرعت GSH را از بین برده این عمل تحت تأثیر افزایش فعالیت ماکروفاژ (A. ۱ j۷۷۴) می باشد از سوی دیگر منجر به افزایش گاما گلوبولین سیستمین سنتتاز (Gamma-GCS-HS) که آنزیم سنتز



ایمنوگلوبولین‌ها (IgM, IgY) از منابع اسید آمینه ساخته می‌شوند و سنتز آنها ممکن است توسط اسیدهای آمینه مختلفی تحت تأثیر قرار گیرد که در این راستا وجود سلنومتیونین نیز موثر خواهد بود. سلنومتیونین جانشین اسید آمینه متیونین بوده که دارای ساختاری مشابهند اما به جای 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 (۳۲، ۳۴). در خاتمه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزودن سلنیوم بیشتر از سطح توصیه شده انجمن ملی تحقیقات به جیره غذایی طیور منجر به افزایش ایمنوگلوبولین‌ها و بهبود کلسترول، LDL و HDL می‌شود. لذا جهت افزایش توانایی سیستم ایمنی هومورال و بهبود پارامترهای لپیدی در جیره جوجه‌های گوشتی می‌توان از دو برابر سطح توصیه شده سلنیوم استفاده نمود.

## References

1. Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR) (1996). Toxicological Profile for Selenium (Update). US Department of Health and Human Services. Atlanta. USA.
2. Amakye anim, J., T.L. lin, Hester, P. Y., Watkins, B. A. (2000) Ascorbic acid supplementation improved antibody response to infections bursal disease vaccination in chickens. *J. Poult. Sci.* 79: 680-688.
3. Arthur, J. R., McKenzie R. C., Beckett G. J. (2003) Selenium in the immune system. *J. Nutr.* 133: 1457S-1459S.
4. Baum, M.K. et. al. (1997) High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 15:370-374.
5. Boscolo, P., Di Giampaolo, L., Qiao, N., Reale, M., Castellanim, Ml. (2005) Inhibitory effects of cadmium on peripheral blood mononuclear cell proliferation and cytokine release are reversed by zinc and selenium salts. *Ann. Clin. Sci.* 35:115-20.
6. Boyne, R., Arthur, J.R. (1981) Effects of copper and selenium deficiency on neutrophil function in cattle. *J. Comp. Pathol.* 91:271-276.

همکاران در سال ۱۹۸۶ مطابقت دارد از سوی دیگر عنوان شده که علت عدم تفاوت معنی دار در سایر مراحل ممکن است به دلیل روش اعمال آنتی ژن، سن ایمنی سازی و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها باشد. به گونه‌ای که تزریق داخل رگی SRBC تیترا بالاتری نسبت به تزریق داخل عضلانی و یا داخل صفاقی نشان می‌دهد. همچنین نشان داده شده است افزایش درصد SRBC در محلول تزریقی می‌تواند تیترا بالاتری را به دست آورد (۳۳).

Jamont و Munns همکاران در سال ۱۹۹۱ عنوان نمودند کاهش پاسخ در فاز اول ممکن است تحت تأثیر سن باشد و پاسخ مرغ‌های بالغ به تزریق SRBC به عنوان یک آنتی ژن وابسته به سلول‌های T برای تولید آنتی بادی‌ها بالاتر و قویتر از جوجه‌های (۱۵). همچنین کمبود سلنیوم منجر به کاهش پاسخ ایمنی از طریق اختلال در فعالیت نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لوکوسیت‌ها می‌گردد. مکانیسم این عمل این گونه است که در اثر کاهش میزان سلنیوم، گلوکاتایون پراکسیداز کاهش یافته و تولید هیدروپراکسیدهای لیپیدی و پراکسیدها افزایش می‌یابد این عمل منجر به متراکم شدن و افزایش مواد سمی در نوتروفیل‌ها و در نتیجه کاهش عملکرد نوتروفیل‌های سیستم ایمنی می‌گردد (۳۲). سلنیوم با تأثیر بر اینترفرون‌ها و آندونوزین مونوفسفات حلقوی سلولی منجر به کاهش رشد سلولی شده و در نتیجه از این طریق 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 T کمک کننده ارتقاء می‌دهد. این افزایش ترشح سایتوکین‌ها از طریق تأثیر بر تحریکات میتوژنیک انجام می‌گردد آزاد شدن سایتوکین‌ها سبب افزایش ورود مواد غذایی به درون جریان خون گردیده بدین وسیله رشد سلول‌ها سریع و ساخته شدن ترکیبات ایمنی ساز افزایش می‌یابد. ماکروفاژها مبادرت به ترشح عامل نکروز سلول‌های توموری و IL-۲ کرده که منجر به افزایش کاتابولیسم ماهیچه‌ای و ورود مواد غذایی به خون شده تا قدرت سیستم ایمنی افزایش یابد (۸). افزایش تولید IL-۶ تحت تأثیر سلنیوم در ۷ روز پس از دومین چلنج از جمله مهم‌ترین دلایل بالا بودن تولید آنتی بادی در جوجه‌های گوشتی بوده، چرا که با گسترش تمایز سلول‌های B منجر به افزایش تولید ایمنوگلوبولین‌ها (IgM و IgY) شده است. افزایش میزان سلول‌های CD<sup>8+</sup> در دئودنوم، CD<sup>4+</sup> در بورس فابریسیوس و CD<sup>3+</sup> در طحال بعد از مصرف سلنیوم از هفته چهارم آزمایش به بعد نشان داد که سلنیوم تأثیر بسزایی در فعالیت سلول‌های B و T دارد (۲۶، ۳۴). افزایش تحریک تولید آنتی بادی‌ها با کمک به سلول‌های B تحت تأثیر سلنیوم بر فعالیت CD<sup>3+</sup> است. سلول‌های CD<sup>4+</sup> تأثیر بر پاسخ‌های سیتوتوکسیک و از بین بردن سلول‌های بیماریزا دارد. سلنیوم تحریک کننده تبدیل لنفوسیت‌های T به سلول‌های سیتوتوکسیک می‌باشد (۹).

از سوی دیگر سلنیوم در بدن به فرم فعال زیستی خود یعنی سلنومتیونین تبدیل شده و در نتیجه می‌توان استنباط کرد که



7. Burtis, C. A., Ashwood, E. R. (1994) Tietz textbook of clinical Chemistry. (2<sup>th</sup>ed.). W. B. saunders, Philadelphia, USA.
8. Burton, Rm., Higgins, P. J., McConnell, K.P. (1977) Reaction of selenium with immunoglobulin molecules. *Biochim. Biophys. Acta.* 493:323-31.
9. Colnago, GL., Jensen, L. S, Long, P.I. (1994) Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. *J. poult. Sci.* 63:1136-43.
10. Coma (1998) Statement from the Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy on selenium. *Food Safety Information Bulletin.* No. 93. UK.
11. D'Mello, J.P.F. (1994) Amino Acids in Farm Animal Nutrition. CAB.International, Edinburgh, Scotland.
12. Dhingra, S., Bansal, M. P. (2006) Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. *Mol. Cell Biochem.* 282:75-82.
13. Edmonds, M. S., B. E. Arentson. (2001) Effects of supplemental vitamins and trace minerals on performance and carcass quality in finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 79:141-147.
14. Holovsk, J. R., Holovsk, K., Boldiz, K., K. V, S. Cekonov, s., V. Len, o. v, Levkut, M., Javorsk, P., Leng, L. (2003) The antioxidant enzyme activity in the liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. *J. Anim. Feed Sci.* 12:143-152.
15. Jamont, S.J., Munns, P.L. (1991) Research note: Effects of age and immunization interval on the anamnestic response to T-cell dependent and T-cell-independent antigens in chickens. *J. Poult. Sci.* 70:2371-2374.
16. Kuklinski, B., Zimmermann, R., Ruhlmann, C., Nagel, R., Tessmann, D. (1991) Tangier disease-a "free radical"- associates disease. Results of HDL and antioxidant therapy with selenium and D-alpha tocopherol. *Zges. Inn. Med.* 46:505-11.
17. MaChot, A., Naylor, J., Reinke, N. (2004) Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. *Br. Poult Sci.* 45:677-683.
18. Neve, J. (2002) Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. *J. Cardiovasc. Risk.* 3:42-47.
19. Nordic Project Group. (1995) Risk Evaluation of Essential Trace Elements - Essential versus toxic levels of intake. Report of a Nordic project group. *Nord.* 1995:18.
20. Pete, D.W. (2005) Selenium supplementation of grazing sheep. II. Responses in plasma and erythrocyte activities of lambs and adult wethers. *Aus. J. Agri. Res.* 31: 1005 - 1027.
21. Ryu, Y. C., Rhee, M.S., Lee, K. M., Kim, B.C. (2005) Effect of different levels of dietary supplemental selenium on performance, lipid oxidation, and color stability of broiler chicks. *J. Poult. Sci.* 84:809-15.
22. Sanji, V, D. Bansal, M. P. (2005) Hypercholesterolemia and apolipoprotein B expression: Regulation by selenium status. *Lipids Health Dis.* 4: 28.
23. Scott, L. A. (1993) Diffusion Across a Sheep Red Blood Cell Membrane. *Tested Studies for Laboratory Teaching.* 14: 115-140.
24. Shen, L., Sevanian, A. (2001) Ox-LDL induces macrophage gamma-GCS-HS protein expression: a role for ox-LDL-associated lipid hydroperoxide in GSH synthesis. *J. Lipid Res.* 42:813-23.
25. Surai, p.f. (2002) Antioxidant properties, deficiency and toxicity, *World's Poult. Sci J.* 58:343.
26. Swain, B.k., Johri, T. S., Majumdar, S. (2000) Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. *Br. Poult. Sci.* 41:287-292.
27. Tanaka, Y. Sakurai, E., Lizuka, Y. (2001) Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high-cholesterol diet. *J. Yakugaku Zasshi.* 121:93-6.
28. UChaturvedi, Richa Shrivastava, R. K. Upreti. (2004) Viral infections and trace elements: A complex interaction. *Current Sci.* 87,11.
29. Van as, C., Careghi, V., Bruggeman, O. M., Onagbesan, S., Van der Geyten, V. M., Darras, E. (2004) Decuypere, Regulation of growth hormone expression by thyrotropin -releasing hormone through the pituitary-specific transcription factor PIT-1 in chicken pituitary.



Acta Vet. Hung. 52: 389-402.

30. Van der zijp, p. A. J., Scott, T. R., Glick, B. (1986)  
The effects of different routes of antigen on the immune response of cockerels. *Poult. Sci.* 62:205.
31. Weiss, S. L., Evenson, J. K., Thompson, K. M., Sunde, R. A. (1997) Dietary selenium regulation of glutathione peroxidase mRNA and other selenium-dependent parameters in male rats. *J. Nutr. Biochem.* 8:85.
32. Wen, W., Weiss, S. L., Sunde, R. A. (1998) UGA codon position affects the efficiency of selenocysteine incorporation into glutathione peroxidase-1. *J. Biol. Chem.* 273:28533.
33. Yamamoto, Y., Glick, B. (1982) A comparison of the immune response between two lines of chickens selected for differences in the weight of the bursa of Fabricius. *Poult. Sci.* 61:2129-2132.
34. Yang, N., Larsen, C. T., Dunnington, E. A., Geraert, P. A., Picard, M., P. B. Siegel., (2000) Immune competence of chicks from two lines divergently selected for antibody response to sheep red blood cells as affected by supplemental vitamin E. *J. Poult. Sci.* 79: 799-803.





# EFFECTS OF DIFFERENT DIETARY LEVELS OF SELENIUM ON METABOLIC PARAMETERS AND HUMORAL IMMUNITY IN BROILER CHICKENS

Vakili, R.<sup>1\*</sup>, Bahram, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Sciences, Islamic Azad University, kashmar branch, kashmar-Iran.

<sup>2</sup>Department of Animal Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad- Iran.

(Received 11 February 2009 , Accepted 5 October 2009)

---

## Abstract:

Selenium is an essential trace mineral and has a profound impact on immune function, health and productive performance. An experiment was conducted to evaluate the effects of dietary selenium in different levels on performance and humoral immunity in broiler chicks. Male broiler chicks (Arbor Acres, 1-d old, n= 225) were randomly assigned to 3 treatment groups of 5 replicates each including 15 chicks per replicate in a completely randomized design arrangement. Chicks were offered three levels of selenium including: basal diet (no supplemental dietary selenium), diets containing selenium as recommended by NRC (0.15 mg/kg diet) and 0.3 mg/Kg diet. Birds in each pen were injected with 0.2 mL of 5% sheep red blood cell (SRBC) solution at days 21 and 35 via intrapeitoral injection. Blood collection was done at 7 and 14 days later and total IgY and blood metabolites were determined. Addition of selenium to diets did not make significant difference in daily weight gain, feed intake and feed conversion ratio (FCR). Selenium supplementation to diets resulted in significant effect on blood cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein cholesterol (LDLC- C) ( $p < 0.05$ ). It had not effect on triglyceride and very low density lipoprotein cholesterol (VLDL- C) . Diets with 0.3 mg selenium increased total IgY titer and gammaglobulins 7 day after secondary injection ( $p < 0.01$ ). Different levels of selenium did not make significant effect on performance and weight of spleen and bursa. These results indicated that selenium at higher levels can improve humoral immunity and blood biochemical parameters.

**Key Words:** humoral immunity, selenium, blood metabolites, broiler.

\*Corresponding author's email: vakili@iaukashmar.ac.ir, Tel: 0532-8250501, Fax: 0532-8250520

