



## تأثیر شکل فیزیکی خوراک بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنفس القایی با تتراکلریدکربن

طاهره پاکزاد<sup>۱</sup>، حشمت‌الله خسروی‌نیا<sup>۲</sup> و بهمن پریزادیان کاوان<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی  
۲- استاد، دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، (نویسنده مسؤول: khosravi\_fafa@yahoo.com)  
۳- استادیار دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲  
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۸  
صفحه: ۴۹ تا ۴۱

### چکیده

این مطالعه بهمنظور بررسی تاثیر شکل فیزیکی خوراک بر عملکرد و پاسخ ایمنی سلولی و هومورال در جوجه‌های گوشتی تحت تنفس مسمومیت با تتراکلریدکربن از سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی اجرا شد. تعداد ۶۸ قطعه جوجه گوشتی ماده سویه راس ۳۰۸ برای بررسی شش تیمار در نشش تکرار و ۱۳ پرنده در هر تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل ۳×۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه‌های شده با جبره‌های مش، کرامبل و پلت با تزریق ۵۰ میلی لیتر بیازای هر کیلوگرم وزن بدن و بدون تزریق تتراکلریدکربن از روز ۱۴ تا ۲۸ آزمایش بودند. جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جبره‌های مش مصرف خوراک بیشتری در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی داشتند ( $p<0.05$ ). تزریق تتراکلریدکربن در جوجه‌های گوشتی سبب کاهش معنی‌دار درصد لنفوسیت‌ها و افزایش درصد مونوسیت‌ها و هتروفیل‌ها شد. (۰.۰۵). نتایج آزمایش نشان داد که شکل فیزیکی خوراک تاثیری علیه ویروس آنفلوانزا در سن ۴۲ روزگی نشان داد کبدی با تتراکلریدکربن در جوجه‌های گوشتی بهدلیل کاهش تعداد لنفوسیت‌ها می‌تواند ایمنی پرندگان را به طور منفی تحت تاثیر قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: اندام‌های ایمنی، تتراکلریدکربن، جوجه گوشتی، شکل فیزیکی خوراک

شده و به دنبال آن پاسخ پرنده به عوامل تنفس‌زا و بیماری‌زا محبیطی کاهش می‌یابد (۱۷). تضعیف سیستم ایمنی اثر منفی معنی‌داری بر عملکرد اقتصادی گله‌های مرغ گوشتی دارد (۲۰). مصرف جیره به صورت پلت شده در صورت عدم مدیریت صحیح، می‌تواند با تحمیل بار متابولیکی زیاد بر کبد پرنده، مشکلات جدی در پی داشته باشد به طوری که این مشکلات در جیره‌های تهیه شده از اقلام غذایی آلوه شدیدتر خواهد بود (۲۵). هر چند بدن از طریق سیستم‌های آنزیمی و غیرآنژیمی با متابولیت‌های حاصل از تجزیه مواد سمی و رادیکال‌های آزاد ناشی از فعالیت‌های سلولی مرتبط با این مقوله مقابله می‌کند، اما در صورتی که تولید این متابولیت‌ها و رادیکال‌های آزاد، بیش از ظرفیت سیستم‌های خنثی‌سازی، آنتی‌اکسیدانی و دفعی بدن باشد، سیستم هوموستاز بدن مختل شده و منجر به مستعد شدن پرنده برای ابتلاء به بیماری‌های مختلف و کاهش عملکرد تولیدی می‌شود (۱۷). میزان پاسخ سیستم ایمنی مرغ بر اساس تنوع ژنتیکی و نیز تنوع محیطی که عامل تقدیم را نیز در بردارد، متغیر است به طوری که پاسخ ایمنی قوی‌تر نشان‌دهنده قدرت بیشتر پرنده در مقابل با عوامل بیماری‌زا خارجی می‌باشد (۲۰، ۱۷). بر این اساس، عیار آنتی‌بادی تولید شده علیه یک عامل عفنی دارای همبستگی مثبت با مقاومت عمومی در مقابل بیماری‌ها است. علی‌رغم اهمیت تاثیر بافت فیزیکی خوراک بر جوانب مختلف حیات مرغ، تاکنون گزارشات زیادی پیرامون این موضوع به خصوص در صورت آلوه بودن جیره غذایی با منابع مختلف آلاینده شیمیایی انجام نشده است. امروزه در تحقیقات طیور، تتراکلریدکربن شناخته شده‌ترین عامل

مقدمه اگرچه کیفیت جیره غذایی بر اساس مولفه‌های همچون منشا و ترکیب مواد مغذی، نسبت مواد مغذی، وجود یا عدم وجود مکمل‌ها و افزودنی‌های مناسب اهمیت بسیار زیادی در سلامت و عملکرد مرغ گوشتی دارد، اما تحقیقات متعدد نشان داده است که بافت فیزیکی جیره غذایی نیز دارای تاثیر بهسازی است (۲۵، ۲۲). در صنعت طیور، جیره غذایی در سه شکل فیزیکی آردی، کرامبل و پلت در اختیار پرندگان قرار می‌گیرد. شکل فیزیکی خوراک از عوامل تاثیرگذار بر میزان مصرف خوراک، رفتار تغذیه‌ای، هدر رفت خوراک و جزء بندی اثرزی قابل متابولیسم است (۱۳). امروزه، در اغلب گله‌های کوچک و متوسط مرغ گوشتی دان مش مصرف می‌شود ولی رویکرد جدید تبلیغ و ترویج دان پلت است، لذا مقایسه تاثیر این نوع بافت فیزیکی جیره با جیره آردی و کرامبل بر عملکرد تولیدی و سلامت پرندگان مورد توجه می‌باشد. مصرف جیره پلت شده موجب بهبود سرعت رشد و بازده مصرف خوراک در مرغ گوشتی می‌شود (۱۴). با این وجود، افزایش مصرف خوراک با جیره پلت شده یا به عبارت بهتر پرخوری پرندگان، ممکن است موجب افزایش احتمال ابتلای پرنده به بیماری‌های متابولیکی همچون کبد چرب شود (۶). اگر دان پلت توان با آلوگی طبیعی جیره به سوم قارچی، میکروبی و گیاهی باشد، مصرف آن می‌تواند یک تهدید جدی برای سلامت پرنده گردد. نشان داده شده است که این نوع الودگی‌های جیره، خود از عوامل مستعد نمودن پرندگان برای ابتلا به بیماری‌های متابولیکی هستند (۱۱). در چنین شرایطی کبد، کلیه و سیستم ایمنی پرنده بیش از سایر اندامها متاثر

ارزیابی شامل مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی، وزن نسی اندام‌های اینمی، شمارش تغیریقی گلبول‌های سفید خون، حساسیت پوستی بر مبنای تغییر ضخامت پرده بین انگشتان پا در اثر تزریق فیتوهماگلوتینین و اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس‌های نیوکاسل، گامبرو و آنفولانزا در سالین ۲۱ و ۴۲ روزگی دوره پرورش بود. شاخص عملکرد اقتصادی با استفاده از فرمول (Euribirds 1994) محاسبه شد. در سن ۲۱ روزگی، از هر پن یک قطعه جوجه انتخاب و از ورید بال آنها دو میلی‌لیتر خون تهیه و جهت تعیین عیار آنتی‌بادی علیه ویروس‌های نیوکاسل، گامبرو و آنفولانزا با روش رقیق‌سازی متوالی (سنجهش هماگلوتیناسیون میکروتیپتیر) روش ممانعت از هماگلوتیناسیون) مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). در سن ۳۵ روزگی، از هر تکرار دو پرنده انتخاب و آنتی‌زن گیاهی فیتوهماگلوتینین به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در ضخامت پرده بین انگشتان سوم و چهارم پای آنها تزریق شد. میزان تغییر در اندازه ضخامت پرده مذکور به عنوان میزان پاسخ اینمی سلولی به ترتیب قبل از تزریق و در ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق اندازه‌گیری شد. در انتهای دوره (۴۲ روزگی) از هر تکرار دو قطعه مرغ با وزن نزدیک به میانگین گله، انتخاب و ذبح شد. از پرنده‌گان ذبح شده گسترش خون تهیه و با روش ائزوین - هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. لامهای رنگ‌آمیزی شده برای شمارش تغیریقی گلبول‌های سفید (لفوفوستی، مونوستیت، هتروفیل، بازوفیل و ائزوپیوفیل) با میکروسکوپ نوری (مارک الیموس، زاپن) مورد استفاده قرار گرفتند. در هر لام حداقل ۲۰۰ سلول در حداقل ۲۰ نقطه تصادفی مورد شمارش قرار گرفت. در پرنده‌گان کشتار شده، وزن اندام‌های اینمی طحال، تیموس و بورس فابریسیوس با دقیق ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و به صورت درصدی از وزن زنده قبل از کشتار ثبت گردید. داده‌های جمع‌آوری شده (به استثناء ضخامت پرده) بین انگشتان پا) در آرایش فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و شش تکرار و ۱۳ مشاهده در هر تکرار تنظیم شدند. شش تکرار آزمایش مشتمل بر ۶ ردیف پن‌های گروهی بودند که عمود بر جهت ورود هوا به سالن و به موازات دیوار طولی سالن تعییه شدند. لذا، نحوه چیزیش پن‌ها در سالن به عنوان بلوک با اثر تصادفی در مدل، در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از مدل (۱) و روش Mixed در نرم‌افزار SAS [نسخه ۹/۱] استفاده شد (۲۱).

(رابطه ۱)

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + B_j + E_{ijk}$$

در این مدل،  $Y_{ijk}$ : متغیر وابسته (صفت اندازه‌گیری شده)،  $\mu$ : میانگین جامعه برای صفت مورد نظر،  $M_i$ : نماد اینمی تیمار،  $B_j$ : نشانگر ز اینمی اثر بلوک و  $E_{ijk}$ : خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده برای هر متغیر است. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. برای آنالیز داده‌های مربوط به تیتر آنتی‌بادی و واکنش پوست پرده پا به تزریق فیتوهماگلوتینین از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان (مدل ۲) استفاده شد.

شیمیابی ایجاد مسمومیت کبدی تجربی است. این ماده جایگاه ویژه‌ای در آزمایشات آسیب کبدی به‌خود اختصاص داده و عامل هپاتو- توکسیک در مدل‌های تحقیقاتی در حیوانات مختلف آزمایشگاهی است (۸). تتراکلریدکربن از طریق تاثیر بر نفوذپذیری غشاها سلولی به‌خصوص غشای میتوکندری باعث اختلال در عملکرد سلول‌های کبدی می‌شود (۹). بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تاثیر شکل فیزیکی جیره غذایی بر شاخص‌های تولید و پارامترهای مرتبط با عملکرد سیستم اینمی در جوجه‌های گوشتی چالش داده شده با تزریق صفاتی تتراکلریدکربن به عنوان مدل ایجاد نارسایی کبدی ناشی از مسمومیت آلاینده‌های محیطی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

برای اجرای این پژوهش ۱۰۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر و ماده یکروزه سویه تجاری راس ۳۰۸ تهیه و تا سن ۱۰ روزگی با جیره غذایی آغازین حاوی ۳۰۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم و ۲۱/۵ درصد پروتئین خام، بر روی بستر پرورش یافت (جدول ۱). در این دوره گله بر اساس احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ (با ۰/۵ درصد کاهش در پروتئین خام و ۱۰۰ کیلوکالری افزایش در انرژی جیره) تغذیه شد. در طی این مدت میانگین دمای سالن ۳۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و برنامه نوری ۲۳ ساعت روشناهی و یک ساعت خاموشی (به‌جز سه روز اول که پرنده‌گان در روشناهی کامل به‌سر برند) بود. در سن ۱۱ روزگی ۴۶۸ قطعه جوجه ماده سالم با میانگین وزن ۲۵۵±۱۵ گرم جدا و پس از نصب شماره بال در ۳۶ پن (با ابعاد ۹۰ در ۱۸۰ سانتی‌متر) مفروش با تراشه چوب با عمق پنج سانتی‌متر، جای داده شدند. میانگین دمای سالن با سه درجه کاهش در هفته در ۲۲ درجه سلسیوس حفظ شد ولی درصد رطوبت نسبی بین ۵۰ تا ۶۵ درصد نوسان داشت. در طول دوره آزمایش برنامه نوری مورد استفاده در مرحله اولیه پرورش ادامه یافت. برنامه واکسیناسیون گله شامل تجویز واکسن سه‌گانه نیوکاسل، گامبرو و آنفولانزا در یک و ۲۱ روزگی به ترتیب به صورت اسپری و تزریق در عضله سینه بود. در سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی پرنده‌گان با یک جیره غذایی آزمایشی لیپوژنیک با انرژی بالا و پروتئین پایین آماده شده بر پایه ذرت- کنجاله سویا تقدیمه شدند (جدول ۱). منابع تامین مواد مغذی به استثنای انرژی و پروتئین، براساس احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ (با یک درصد کاهش در پروتئین خام و ۱۵۰ کیلوکالری افزایش در انرژی جیره) بود. در کل دوره پرورش آب و دان به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. جیره غذایی رشد پس از تهیه به سه شکل فیزیکی آردی، کرامیل و پلت، در اختیار جوجه‌های با و بدون تزریق تتراکلریدکربن قرار گرفت تا شش تیمار آزمایشی در آرایش فاکتوریل ۲×۳ فراهم شود. تتراکلریدکربن (شرکت مرک آلمان) به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به‌هزای هر کیلوگرم وزن ۲۸ بدن در هفته به صورت داخل صفاتی در سن ۱۴، ۲۱، ۲۸ و روزگی تزریق شد. برای رقیق‌سازی تتراکلریدکربن از نسبت مساوی روغن زیتون استفاده شد (۲۸). پارامترهای مورد

تراکلریدکربن باعث کاهش وزن، کاهش مصرف خوراک و افزایش ضریب تبدیل خوراک پرندگان شود. عدم تاثیرپذیری تزریق تراکلرید کربن احتمالاً ناشی از کم بودن دوز مصرفی با توجه به وزن پرندگان و یا شیوه تجویز آن می‌باشد. شکل فیزیکی خوراک، تزریق تراکلریدکربن و اثر متقابل آنها تاثیری بر وزن بورس فابریسیوس، وزن تیموس و وزن طحال در جوجه‌های آزمایشی نداشت (جدول ۳). گزارش شده است که مسمومیت با مواد شیمیایی وارد شده به بدن از طریق هوا، آب و یا خوراک می‌تواند با تولید رادیکال‌های آزاد و در نتجه تسربیع و تشديد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشاء‌های بیولوژیک سلولی و ماکرومولکول‌های بدن منجر به نابودی سلول‌ها شود (۳). با این وجود مکانیسم‌های درون سلولی متعددی مانع از تخریب غشاء‌های سلولی می‌شوند، مگر اینکه مقدار زیادتر از حد آستانه تحمل این مواد سمی سبب ناکارآمدی مکانیسم‌های فوق شود (۱۴). بهترین دوز محلول تراکلریدکربن (در مخلوط با روغن گیاهی به نسبت مساوی) برای ایجاد ضایعات کبدی در طیور گوشتی، چهار میلی‌لیتر بهمازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق عضلانی ذکر شده است (۲۸). حال آنکه محققین دیگر دوز یک میلی‌لیتر و تزریق داخل صفاقی را به کار بردن (۲۷). اگر چه محصولات شیمیایی شرکت‌های مختلف واجد سمیت‌های متفاوت هستند، اما احتمالاً عدم تاثیر تراکلریدکربن در این آزمایش مربوط به کم بودن دوز مصرفی و همچنین نوع تزریق (داخل صفاقی) در مقایسه با روش محققین دیگر می‌باشد. شاید اثر متقابل بین دوز مصرفی، شیوه تجویز و زمان مصرف تراکلریدکربن به گونه‌ای بود که برای پرندگان آزمایشی قابل تحمل شود. شکل فیزیکی جیره تاثیر معنی‌داری بر درصد لنفوسیت، مونوپویت، هتروفیل، بازوفیل و ائزوینوفیل در خون جوجه‌های گوشتی نداشت. تزریق تراکلریدکربن سبب کاهش معنی‌دار درصد لنفوسیت و بازوفیل و افزایش درصد مونوپویت و هتروفیل در خون پرندگان مورد آزمایش شد ( $p<0.05$ ) (جدول ۴). اثر متقابل بین شکل فیزیکی جیره و تزریق درون صفاقی تراکلریدکربن بر درصد مونوپویت‌ها و درصد بازوفیل‌ها خون جوجه‌ها معنی‌دار بود، به طوریکه پرندگان تعذیه شده با جیره مش همراه با تزریق تراکلریدکربن بیشترین درصد مونوپویت‌ها را در خون نشان دادند. بیشترین درصد بازوفیل‌ها در پرندگان تعذیه شده با جیره پلت بدون تزریق تراکلریدکربن مشاهده شد ( $p<0.05$ ). حفاظت پرنده علیه بیماری‌های عفونی به لنفوسیت‌ها مربوط می‌شود به طوری که این سلول‌ها بخشی از سیستم ایمنی موسوم به ایمنی هومووال را به وجود می‌آورند (۲۰). در جوجه‌ها، لنفوسیت‌ها حدود ۶۰ درصد سلول‌های سفید خون را شامل می‌شوند (۲۰). نتایج تحقیقات متعدد حاکی از تاثیر منفی سموم خوارکی و در مجموع مسمومیت‌ها بر کاهش عملکرد سیستم ایمنی پرندگان و مقاومت آنها در برابر عوامل عفونی است (۱۱). این عوامل با ایجاد تنفس فیزیولوژیک موجب تحریک ترشح هورمون آدنو-کورتیکوتروپین و هورمون‌های غدد فوق کلیوی و افزایش نسبی تعداد هتروفیل به لنفوسیت در طیور می‌شوند (۱۲). بر

رابطه (۲)

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + y_{ij} + A_k + (TA)_{ik} + B_l + e_{ijkl}$$

در این مدل،  $Y_{ijkl}$ : مشاهده مربوط به زمین تیمار،  $T_i$ : اثر ثابت  $i$  امین،  $y_{ij}$ : میانگین کل جامعه برای صفت مورد ارزیابی،  $A_k$ : اثر ثابت  $k$  امین تیمار،  $(TA)_{ik}$ : اثر متقابل بین  $i$  امین حیوان و  $k$  امین سن آزمایش،  $B_l$ : اشتباہ تصادفی با میانگین صفر و انحراف معیار خطأ که واریانس بین حیوانات درون هر تیمار یا کوواریانس بین دو رکورد متواتی هر حیوان است،  $e_{ijkl}$ : اشتباہ تصادفی با میانگین صفر است که واریانس بین اندازه‌گیری‌های مکرر مربوط به یک حیوان است.

## نتایج و بحث

تعذیه یک جیره غذایی در سه شکل فیزیکی کرامبل، مش (آردی) و پلت تاثیری بر افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص راندمان اقتصادی در مرغ گوشتی در سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی نداشت. تعذیه با جیره آردی احتمالاً به دلیل بافت متفاوت و امکان تعذیه گزینشی برخی اجزاء برای پرنده (که به اقتضای شرایط کل آزمایش برای آنها مفیدتر بوده) به پرندگان رشد یافته با جیره کرامبل و پلت شد ( $p<0.05$ ) (جدول ۲). با وجود اینکه تزریق داخل صفاقی تراکلریدکربن بهمیزان  $۰/۵$  میلی‌لیتر در هفته و اثر متقابل آن با شکل فیزیکی خوراک تاثیری بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی پرندگان در سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی نداشت، ولی اثر متقابل شکل فیزیکی خوراک و تزریق تراکلریدکربن بر مصرف خوراک (گرم) هفتگی در جوجه‌های گوشتی معنی‌دار بود (شکل ۱). اگرچه میانگین صفات عملکردی برای مرغ‌های دریافت کننده جیره رشد با شکل مش، کرامبل و پلت شده با و بدون تزریق تراکلریدکربن، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت، اما ضریب تبدیل غذایی در پرندگان تعذیه شده با جیره‌های مش و کرامبل بهتر بود. این موضوع را می‌توان با تاثیر منفی بیشتر خوراک پلت شده بر پرندگان تحت آزمایش توجیه نمود. این نتایج برخلاف یافته‌های مقالات متعددی است که بهبود ضریب تبدیل خوراک و رشد را در جوجه‌های گوشتی تعذیه شده با جیره‌های پلت در مقایسه با آردی و کرامبل گزارش نموده‌اند (۱۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵). بهبود رشد با جیره‌های پلت شده را در نتیجه کاهش انتخاب اجزای غذایی جیره، افزایش قابلیت هضم، کاهش زمان و انرژی صرف شده برای خوردن جیره (۲)، از بین رفن عوامل پاتوژن، تغییرات حرارتی نشاسته (۳) و پروتئین و افزایش خوش خوارکی جیره عنوان نموده‌اند (۲۴، ۱۸، ۷). از طرفی پلت کردن سبب افزایش تراکم ذرات غذایی می‌شود و طیور با صرف انرژی کمتری غذایی مورد نیاز خود را بدست آورده، لذا انرژی بیشتری صرف رشد و تولید می‌شود (۱۸). با این وجود، نتایج مربوط به عدم تاثیرپذیری رشد و افزایش وزن از شکل فیزیکی جیره و تزریق تراکلریدکربن در تحقیق حاضر با نتایج گزارشات متعدد (۱۶، ۱۹) مطابقت دارد. انتظار می‌رفت که تزریق

عيار آنتی‌بادی علیه ویروس آنفولانزا در سن ۴۲ روزگی و شمارش سلول‌های خونی نیز در همین سن بوده است، لذا منطقی ترین توجیه، احتمال مواجهه گله با ویروس مذکور و فعال شدن لنفوسيت‌های موجود در بدن پرندگه برای دفاع هومورال علیه آن است. عوامل تنش زا از جمله مواجهه بدن با سوموم، با تحریک ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین و هورمون‌های غدد فوق کلیوی موجب افزایش نسبی تعداد هتروفیل‌ها به لنفوسيت‌ها در طیور می‌شوند. بر این اساس، شمارش هتروفیل‌ها و لنفوسيت‌ها و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسيت در خون پرندگان به عنوان شاخصی برای تخمین میزان استرس در آنها ذکر شده است (۲۲). وقوع این تغییرات به تبع فرآیندهای پیچیده آماسی در اندام‌های مختلف به خصوص کبد، کلیه و مغز استخوان است که در نهایت ممکن است تعدادی از پارامترهای سیستم ایمنی مثل تکثیر لنفوسيت‌ها، سنتز سیتوکین‌ها، فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی و فاکوسیتوز را تحت تاثیر قرار دهد (۵). بر این اساس، در آزمایش حاضر کاهش شمارش لنفوسيت‌ها و افزایش شمارش مونوفیت‌ها (به عنوان سلول‌های التهابی اصلی) قابل توجیه است. افزایش تعداد مونوفیت‌ها منجر به بروز اندکی واکنش التهابی شدیدتر در پرده بین انگشتان پا در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین (میتوژن حاصل از لکتین گیاهان، مانند دانه‌ی لوبيای قرمز) در جوجه‌های با تزریق تتراکلرید کربن به خصوص در ساعت‌های پس از تزریق شد ولی اختلاف معنی‌داری با پرندگان بدون تزریق نداشت (شکل ۲).

در مجموع نتیجه‌گیری شد که شکل فیزیکی جیره غذایی شامل مش، کرامبل و پلیت، با وجود تاثیرگذاری بر برخی شاخص‌های تولید در این آزمایش، تاثیر قابل توجهی بر پاسخ ایمنی پرندگان نداشت. اما تزریق تتراکلرید کربن به عنوان مدلی برای هرگونه وجود آلودگی محیطی در اقلام جیره می‌تواند با تاثیر منفی بر نسبت برخی سلول‌های خونی موجب کاهش عملکرد و پاسخ ایمنی در گله شود، به خصوص در مواردی که جیره غذایی به شکل پلت شده تغذیه می‌شود.

این اساس، شمارش هتروفیل‌ها و لنفوسيت‌ها و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسيت در خون پرندگان به عنوان شاخصی برای تخمین میزان استرس در آنها ذکر شده است (۱۷). در گیر شدن سیستم‌های سمزدایی بدن همچون سیتوکروم‌های سلول‌های کبدی و افزایش نیاز به برخی مواد مغذی توسط این سیستم‌ها، تشديد تولید رادیکال‌های آزاد هنگام مواجهه بدن با مواد سمی به دلیل افزایش سطح متاپولیسم نیز از جمله عواملی هستند که باعث کاهش اولویت سیستم ایمنی برای دریافت مواد مغذی و در نتیجه تعدیل پاسخ ایمنی در پرندگان مسموم و یا تحت تنش فیزیولوژیک ناشی از مصرف مواد سمی می‌باشند. تغذیه یک جیره غذایی در سه شکل فیزیکی تاثیری بر عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل، گامبرو و آنفلوآنزا (به صورت لگاریتم در مبنای ۲ عکس آخرين وقتی که در آن هماگلوتیناسیون دیده شد) در خون مرغ‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی نداشت (جدول ۵). جوجه‌های گوشتی تزریق شده با تتراکلرید کربن بیشترین تیتر آنتی‌بادی را علیه ویروس آنفلوآنزا در سن ۴۲ روزگی داشتند ( $P<0.05$ ). اثر متقابل بین شکل فیزیکی جیره و تزریق تتراکلرید کربن در ارتباط با تیتر آنتی‌بادی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی معنی‌دار نبود. تتراکلرید کربن به عنوان یک هپاتوتوكسین قوی، طیف گسترده‌ای از اختلالات متاپولیکی را در سلول‌های کبد ایجاد می‌کند که در نهایت منجر به خونریزی سطحی، کاهش ترشح چربی و کبد چرب می‌گردد (۹، ۱۵، ۲۸). نشان داده شده است که تزریق تتراکلرید کربن به مرغ باعث کاهش عملکرد سیستم ایمنی پرندگه می‌گردد (۸، ۱۵، ۲۶). تاثیر تزریق فیتوهماگلوتینین بر میزان حساسیت پوستی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های مختلف معنی‌دار نبود (شکل ۲). در آزمایش حاضر، کاهش درصد لنفوسيت‌ها با تزریق تتراکلرید کربن امری طبیعی و قابل انتظار بود، چون مسمومیت کبدی ناشی از سم می‌تواند به سرکوب سیستم ایمنی منتهی شود. انتظار می‌رفت که کاهش درصد لنفوسيت‌ها با کاهش عیار آنتی‌بادی علیه تمام ویروس‌های موردنظر همراه باشد، ولی در مورد آنتی‌بادی علیه ویروس آنفلوآنزا این موضوع محقق نشد و افزایش اندکی در عیار آنتی‌بادی مشاهده شد. با توجه به اینکه افزایش

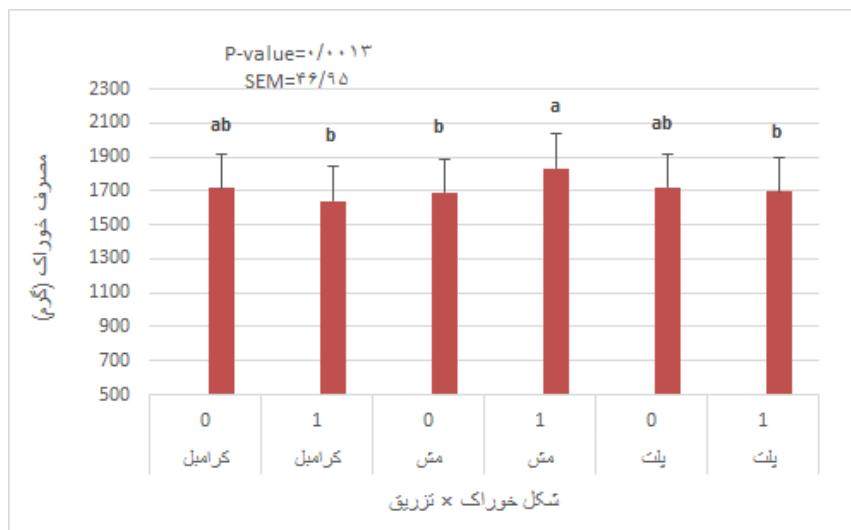
جدول ۱- ترکیب اقلام و آنالیز تقریبی جیره‌های غذایی مورد استفاده برای جوجه‌های گوشتی  
Table 1. Chemical composition and proximate analysis for the diets used for the broiler chickens

اجزای جیره (%)	جیره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	جیره رشد (۱۱ تا ۴۲ روزگی)
دانه ذرت	۵۶/۰۸	۶۱/۷۰
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۷/۵	۳۰/۰۰
روغن سویا	۱/۵۰	۴/۱۰
دی‌ال متوونین	۰/۲۰	۰/۲۰
آل-لیزین	۰/۲۸	۰/۰۰
منو کلیسیم فسفات	۱/۲۴	۱/۳۰
کربنات کلسیم	۱/۸۰	۱/۳۰
کاربید سدیم <sup>۱</sup>	۰/۴۰	۰/۴۰
مکمل معدنی <sup>۲</sup>	۰/۵۰	۰/۵۰
مکمل ویتامینی <sup>۲</sup>	۰/۵۰	۱۰۰
جمع افلام	۱۰۰	
ترکیبات شیمیایی جیره (درصد)		
انرژی قابل متabolیسم (کیلو کالری در کیلو گرم)	۳۰۰۰	۳۱۷۶
پروتئین خام	۲۱/۵۰	۱۷/۰۰
کلسیم	۰/۹۶	۰/۸۰
فسفر قابل دسترس	۰/۴۸	۰/۴۱
سدیم	۰/۲۰	۰/۲۰
کلر	۰/۲۰	۰/۲۰
متوونین	۰/۵۶	۰/۵۰
متیونین + سیستین	۱/۰۸	۰/۵۵
لیزین	۱/۴۴	۱/۰۰
ترؤینین	۰/۹۷	۰/۷۳

جدول ۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر صفات مربوط به عملکرد تولیدی در جوجه‌های گوشتی در سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی  
Table 2. The effect of different treatments on growth performance (gr) of chicken in 14 to 42 d of age

تیمار	افزایش وزن (گرم)	صرف خوارک (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	شاخص عملکرد اقتصادی
شکل خوارک	۷۱۵/۵۰	۱۶۷۷/۵۱ <sup>b</sup>	۲/۳۴	۱۲۸
کرامبل	۷۸۵/۴۲	۱۷۶۱/۰۸ <sup>a</sup>	۲/۳۲	۱۳۶
مش	۶۹۶/۷۵	۱۷۰۸/۰۱ <sup>ab</sup>	۲/۴۵	۱۱۹
پلت	۶۷/۱۰	۴۱/۹۴	۰/۲۱	۱۳/۴۷
SEM				
تزریق تراکلریدکرین				
با تزریق				
بدون تزریق				
SEM				
سطح معنی داری				
شکل خوارک				
تزریق تراکلریدکرین				
شکل خوارک × تزریق				

b-a: حروف نام مشابه در هرستون و برای هر فاکتور نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف آن فاکتور است ( $P < 0.05$ ).



شکل ۱- اثر متقابل تیمارهای مختلف بر مصرف خوراک (گرم) جوجه‌های گوشتی در سن ۱۴ تا ۴۲ روزگی  
Figure 1. Interaction between different treatments on feed intake (gr) of chicken in day 14 to 42 of age

جدول ۳- تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی  
Table 3. The effect of different treatments on relative weight immune organs (%) of broiler in 42 d of age

طحال (درصد)	تیموس درصد	بورس فابریسوس درصد	تیمار
.۰/۱۳	.۰/۲۵	.۰/۱۸	شکل خوراک
.۰/۱۱	.۰/۲۵	.۰/۱۹	کراميل
.۰/۱۳	.۰/۲۶	.۰/۱۷	مش
.۰/۰۱	.۰/۰۲	.۰/۰۱	بلت
			SEM
.۰/۱۲	.۰/۲۴	.۰/۱۸	تزریق تتراکلریدکربن
.۰/۱۲	.۰/۲۶	.۰/۱۹	با تزریق
.۰/۰۱	.۰/۰۱	.۰/۰۱	بدون تزریق
			SEM
.۰/۳۴	.۰/۹۶	.۰/۴۱	سطح معنی داری
.۰/۹۷	.۰/۹۳	.۰/۵۸	شکل خوراک
.۰/۲۱	.۰/۹۱	.۰/۵۸	تزریق تتراکلریدکربن
			شکل خوراک × تزریق

جدول ۴- تاثیر تیمارهای مختلف بر درصد گلbulهای سفید جوجه گوشتی در سن ۴۲ روزگی  
Table 4. The effect of different treatments on percentage of white blood cells of chicken in 42 d of age

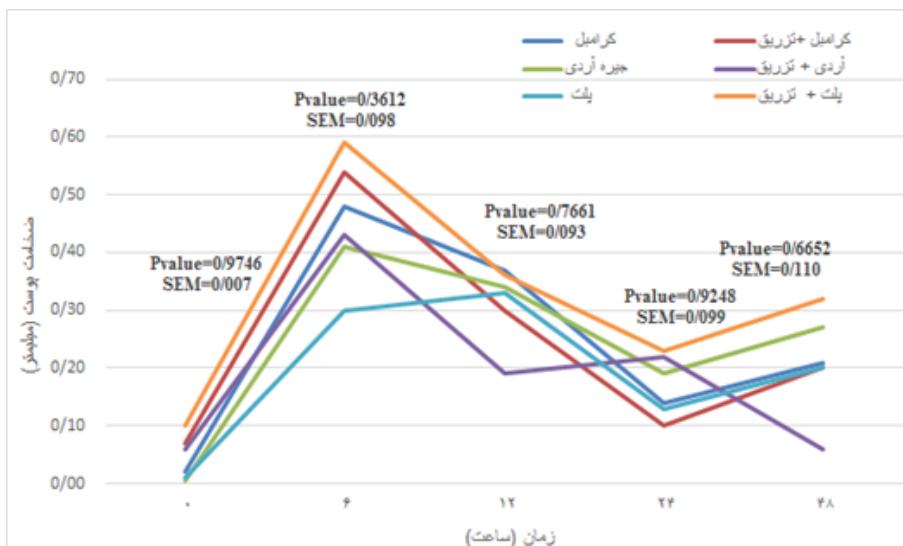
آزوینوفیل بازوفیل	هتروفیل	مونوسیت	لیفوسیت (درصد)	تیمار
۴/۶۷	۴/۵۱	۳/۸۰	۲۰/۴۰	شکل خوراک
۵/۲۸	۳/۴۹	۳/۳۹	۱۸/۹۱	کراميل
۳/۴۵	۵/۳۹	۴/۵۶	۲۲/۲۵	مش
.۰/۸۶	.۰/۷۰	.۰/۴۷	۱/۶۶	بلت
				SEM
۴/۸۶	۲/۵۰ <sup>b</sup>	۴/۵۸ <sup>a</sup>	۲۴/۷۰ <sup>a</sup>	تزریق تتراکلریدکربن
۴/۰۸	۶/۴۳ <sup>a</sup>	۳/۲۵ <sup>b</sup>	۱۶/۳۵ <sup>b</sup>	با تزریق
.۰/۷۹	.۰/۶۱	.۰/۳۸	۱/۴۵	بدون تزریق
				SEM
.۰/۰۹	.۰/۱۰	.۰/۱۹	.۰/۲۴	سطح معنی داری
.۰/۲۶	<۰/۰۰	.۰/۰۱	<۰/۰۰	شکل خوراک
.۰/۷۶	.۰/۰۸	.۰/۴۴	.۰/۹۰	تزریق تتراکلریدکربن
				شکل خوراک × تزریق

.a-b: حروف نامتشابه در هر ستون و برای هر فاکتور نشان دهنده اختلاف معنی دار بین سطوح مختلف آن فاکتور است ( $P<0.05$ ).

جدول ۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر تیتر آنتی‌بادی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی  
Table 5. The effect of different treatments on antibody titer of broiler in 21 and 42 d of age

تیمار	۲۱ روزگی			۴۲ روزگی		
	کامبرو	نیوكاسل	آنفلانزا	کامبرو	نیوكاسل	آنفلانزا
کرامبل	۴۶۸/۶۷	۵/۸۳	۶/۵۰	۴۶۳/۸/۰۴	۸/۲۷	۸/۴۵
مش	۶/۰۰	۶/۵۰	۶/۸۳	۶۵۹/۱۷	۸/۱۰	۷/۹۲
پلت	۶/۰۰	۶/۵۰	۶/۸۳	۵۰/۰۴۲	۸/۳۷	۸/۴۸
SEM	۰/۴۸	۰/۷۹	۰/۷۹	۹۲/۷۵	۰/۲۸	۰/۲۲
ترزیق تراکلریدکرین						
با ترزیق	۶/۰۰	۶/۸۳	۶/۰۰	۵۲۰/۱۱	۸/۹۳ <sup>a</sup>	۷/۸۴
بدون ترزیق	۶/۲۲	۶/۳۸	۶/۲۲	۵۶۵/۳۹	۷/۶۳ <sup>b</sup>	۸/۴۷
SEM	۰/۳۹	۰/۶۴	۰/۳۹	۷۵/۷۲	۰/۲۴	۰/۲۷
سطح معنی داری						
شکل خوراک	۰/۶۰	۰/۹۴	۰/۶۰	۰/۳۱	۰/۷۶	۰/۴۵
ترزیق تراکلریدکرین	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۶۸	۰/۰۰	۰/۰۸
شکل خوراک × ترزیق	۰/۱۸	۰/۹۰	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۸۰	۰/۱۹

a-b حروف نامتشابه در هر ستون و برای هر فاکتور نشان دهنده اختلاف معنی دار بین سطوح مختلف آن فاکتور است ( $P<0.05$ )



شکل ۲- تأثیر جیره‌های آزمایشی مختلف بر پاسخ پوست پرده پای جوجه‌های گوشتی در پاسخ به ترزیق فیتوهماگلوتین  
Figure 2. The effect of experimental diets on skin sensitivity of broiler chickens in response to phytohumaglutinin injection

## منابع

- Abdollahi, M.R., V. Ravindran, T.J. Wester, G. Ravindran and D.V. Thomas. 2011. Influence of feed form and conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broiler starters fed wheat-based diet. Animal Feed Science Technology, 168: 88-99 (In Persian).
- Al-Khalifa, H., D.I. Givens, C. Rymer and P. Yaqoob. 2012. Effect of n-3 fatty acids on immune function in broiler chickens. Poultry Science, 91: 74-88.
- Cutlip, S.E., J.M. Hott, N.P. Buchanan, A.L. Rack, J.D. Latshaw and J.S. Moritz. 2008. The effect of steam-conditioning practices on pellet quality and growing broiler nutritional value. Journal of Applied Poultry Research, 17(2): 249-261.
- De Simone, C., G. Famularo, S. Tzantzoglou, V. Trinchieri, S. Moretti and F. Sorice. 1994. Carnitine depletion in peripheral blood mononuclear cells from patients with AIDS: effect of oral L-carnitine. AIDS, 8(5): 655-660.
- Hetland, H., B. Svhuis and V. Olaisen. 2002. Effect of feeding whole cereals on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens. British Poultry Science, 43: 416-423.
- Jafarnejad, S., M. Farkhoy, M. Sadegh and A.R. Bahonar. 2010. Effect of crumble-pellet and mash diets with different levels of dietary protein and energy on the performance of broilers at the end of the third week. Veterinary Medicine International, 123: 1-5 (In Persian).

7. Kanter, M., I. Meral, S. Dede, M. Cemek, H. Ozbek, I. Uygan and H. Gunduz. 2003. Effect of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in  $CCl_4$ -treated rats. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 50: 264-268.
8. Kermanshahi, H., S. Beheshti Moghaddam, R. Vahed and H. Nasiri Moghaddam. 2016. The protective effects of Marigold (*Calendula Officinalis*) extract in liver damage by  $CCl_4$  in broiler chicken. *Journal of Veterinary Researches and Biological Products*, 28: 60-69 (In Persian).
9. Khodaei, H., Sh. Maghsoudlou, A. Mohammad Garehbash and Z. Taraz. 2015. Effect of physical form of feed and dietary supplementation of probiotic and prebiotic on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 12: 20-29 (In Persian).
10. Latshaw, J.D. and J.S. Mortiz. 2009. The partitioning of metabolizable energy by broiler chickens. *Poultry Science*, 88: 98-105.
11. Leeson, S. and J.D. Summers. 2001. Naturally occurring toxins relevant to poultry nutrition. *Scott's Nutrition of the Chicken*, 4<sup>th</sup> ed. Guelph, Canada, 572 pp.
12. Li, Y., H.Y. Cai, G.H. Liu , X.L. Dong , W.H. Chang , S. Zhang , A.J. Zheng and G.L. Chen. 2009. Effects of stress simulated by dexamethasone on jejunal glucose transport in broilers. *Poultry Science*, 88: 330-337.
13. Lopez, G. and S. Leeson. 2008. Review: Energy partitioning in broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 88: 205-212.
14. Lopez, G. and S. Leeson. 2005. Utilization of metabolizable energy by young broilers and birds of intermediate growth rate. *Poultry Science*, 84: 1069-1076.
15. MacDonald-Wicks, L. and M.L. Garg. 2003. Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 211-218.
16. McAllister, A., K.J. McCracken and F.A. Magee. 2000. Influence of grinding, rolling and meat chicken given pellets, mash or free – choice diet. *British Poultry Science*, 36: 277-284.
17. Nazar, F.N., A.P. Magnoli, A.M. Dalcer and R.H. Marin. 2012. Effect of feed contamination with aflatoxin B1 and administration of exogenous corticosterone on Japanese quail biochemical and immunological parameter. *Poultry Science*, 91: 47-54.
18. Panda, A.K., V. Savaram, R. Rama, V.L. Mantena, N. Raju and S. Shanna. 2006. Dietary practical means of improving nutritional value. *Canadian Journal of Animal Science*, 48: 47-55.
19. Ribeiro, A.M.L., A.J. Mireles and K.C. Klasing. 2003. Interactions between dietary phosphorus level, phytase supplementation and pelleting on performance and bone parameters of broilers fed high levels of rice bran. *Animal Feed Science and Technology*, 103: 155-161.
20. Saif, Y.M., A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan and D.E. Swayne. 2008. Diseases of poultry, Blackwell Publishing, 12th Edition, 1197-1214.
21. SAS Institute SAS/STAT. 2003. Guide for personal computers. Version 9.2 Edition. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
22. Serrano, M.P., M. Friksa, J. Corchero and G.G. Mateos .2013. Influence of feed form and source of soybean meal on growth performance, nutrition retention, and digestive organ size of broilers. *Poultry Science*, 92: 693-708.
23. Serrate, S., Z. Wang, C. Coto, F. Yan and P.W. Waldroup. 2009. Effect of pellet diameter in broiler starter diets on subsequent performance. *Journal Applied Poultry Research*, 18: 590-597.
24. Shafiee, T., N. Sarvestani, M. Dabiri, J. Agah and H. Norollahi. 2006. Effect of pellet and mash diets associated with biozyme enzyme on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*, 5: 485-490 (In Persian).
25. Shalmany, S.K. and M. Shivazad. 2007. The effect of pellet and mash forms of common Iranian broiler diet on performance of hybrids of Arian broiler. *Journal of Research-Agriculture Sciences*, 13(1): 192-201 (In Persian).
26. Shenoy, K.A., S.N. Somayaji and K.L. Bairy. 2001. Hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 33: 260-266.
27. Sonkusale, P., A.G. Bhandarker, N.V. Kurkare, K. Ravikanth, S. Maini and D. Sood. 2011. Hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in  $CCl_4$  induced FLKS syndrome in broilers. *Poultry Science*, 10(1): 49-55.
28. Wang, C., T. Zhang, X. Cui, S. Li, X. Zhao and X. Zhong. 2013. Hepatoprotective effects of a Chinese herbal formula, longyin decoction, on carbon-tetrachloride-induced liver injury in chickens. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*.

## **Effect of Physical Form of Diet on Growth Performance and Immune Responses of Broilers under Stress Induced by Carbon Tetrachloride**

**Tahereh Pakzad<sup>1</sup>, Heshmatollah Khosravinia<sup>2</sup> and Bahman Parizadian Kavan<sup>3</sup>**

1- M.Sc. Lorestan University, Faculty of Agriculture

2- Professor, Lorestan University, Faculty of Agriculture, Lorestan University

(Corresponding author: khosravi\_fafa@yahoo.com)

3- Assistant Professor, Lorestan University, Faculty of Agriculture, Lorestan University

Received: October 24, 2019

Accepted: May 7, 2020

### **Abstract**

This study was conducted to examine the effects of physical form of diet on humoral and cellular immune responses in broiler chickens exposed to carbon tetrachloride stress in days 10 to 42 of age. The 2×3 factorial experiment performed in a randomized complete block design with 468 broilers in 6 treatments and 6 replicates of 13 birds each. The treatments consisted combinations of a grower diet in three physical form (mash, pellet and crumble) and injection of carbon tetrachloride (0 and 0.5 ml/kg of body weight). Birds fed with mash diet consumed greater feed and broilers fed with the same diet in crumble form had the lowest feed intake ( $P<0.05$ ). The injection of carbon tetrachloride in broilers decreased lymphocytes ( $P<0.05$ ). Greater percentage of monocytes and neutrophils were observed in the birds injected with carbon tetrachloride ( $P<0.05$ ). Carbon tetrachloride injection resulted in a significant decrease in antibody titer against influenza at 42 days of age ( $P<0.05$ ). It was concluded that carbon tetrachloride poisoning independent of diet physical form, may impress immune response in broiler chicken due to reduced lymphocytes.

**Keywords:** Broiler chickens, Carbon tetrachloride, Immune system, Physical form of diet