تولیدات دامی
دوره ۱۹ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۶
صفحه‌های ۶۲۵-۶۱۳

اثراستفاده از مکمل کروم-متیونین بر کاهش آثار منفی ناشی از تنش فیزیولوژیک در جوجه‌های گوشتی

مریم باقری‌ورزنه *

استادیار، پژوهشکدهٔ کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۶/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۱۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر مکمل کروم-متیونین بر فراسنجه‌های خونی و ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش حاد بود. از ۱۲۶ قطعه جوجهٔ نر نژاد راس در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و سه تکرار و ۱۴ قطعه پرنده در هر تکرار استفاده شد. تیمارها عبارت بودند از: ۱. جیرهٔ پایه بدون مکمل کروم و تنش (شاهد منفی)، ۲. جیرهٔ پایه بدون مکمل کروم و تحت تنش (شاهد مثبت)، ۳. جیرهٔ پایه با ۱۰۰۰ ppb مکمل کروم و تحت تنش. با افزودن ۱/۵ میلی‌گرم دگزامتازون در کیلوگرم جیره از روز ۱۸ به مدت یک هفته تنش ایجاد شد و بعد از آن آزمایش تا ۴۶ روزگی ادامه یافت. خون‌گیری در ۲۵ و ۴۶ روزگی انجام شد. تنش سبب افزایش غلظت گلوکز و چربی‌های سرم خون شد. در ۲۵ روزگی، تغذیهٔ جیره حاوی کروم در پرندگان تحت تنش، سبب کاهش مقدار تری‌گلیسرید کلسترول، LDL و VLDL خون شد ($p < ۰/۰۵$). در ۴۶ روزگی، پرندگان تحت تنشی که کروم را در جیرهٔ خود مصرف کردند از تری‌گلیسرید، LDL، VLDL بیشتر و HDL کمتری نسبت به دو گروه دیگر برخوردار بود ($p< ۰/۰۵$). در پرندگان تحت تنش تعداد گلبول‌های سفید، درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت افزایش یافت ($p< ۰/۰۵$)، و در پرندگانی که مکمل کروم مصرف کردند این صفات کاهش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از مکمل کروم در شرایط تنش حاد می‌تواند نشانه‌های فیزیولوژیک بروز تنش را کاهش دهد؛ اما ادامهٔ مصرف آن بعد از رفع عامل تنش‌زا، اثر مثبتی بر این فراسنجه‌ها ندارد.

کلیدواژه‌ها: ایمنی، تنش، جوجه گوشتی، دگزامتازون، کروم آلی.

* نویسنده مسئول Email: bagheri@irost.ir

مقدمه

در پرورش طیور، عوامل بسیاری مانند دمای بالا، تراکم در محل پرورش، چالش‌های سیستم ایمنی، مدیریت و جابه‌جایی با زمان‌های مختلف که از چند روز تا چند هفته متغیر است پرندگان را تحت تنش قرار می‌دهند [۱۳]. در این شرایط بسته به نوع تنش، مکانیسم‌های عصبی یا هورمونی فعال می‌شوند. در تحریک سیستم عصبی، نورون‌های پس-گره‌ای سمپاتیک و بافت مرکزی غده آدرنال دخیل هستند. در حالیکه در مکانیسم هورمونی، محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- قشر آدرنال (HPA) فعال می‌شود. هر چند که در هر دو مکانیسم افزایش قند خون رخ می‌دهد [۶]، ولی مکانیسم هورمونی معمولاً در تنش‌های طولانی مدت و به‌منظور انطباق با شرایط فعال می‌شود. گلوکوکورتیکوئیدها که هورمون تنش شناخته می‌شوند از بخش قشری غدهٔ آدرنال ترشح می‌شوند و نقش مهمی در تغییر غلظت گلوکز خون دارند [۶].

با توجه به اهمیت شناسایی جنبه‌های مختلف اثر تنش بر عملکرد طیور توجه محققان به یافتن راه‌هایی که انجام مطالعات را در این زمینه ممکن سازد، معطوف شده است. ولی از آنجا که ایجاد شرایط تنش حرارتی به صورت آزمایشی در طیور کار مشکلی است، استفادهٔ خوراکی یا تزریقی از گلوکوکورتیکوئیدها [۱۱ و ۱۳] این امکان را فراهم می‌کند که عوامل مؤثر در کنترل آثار منفی تنش راحت‌تر مطالعه شوند. در مطالعاتی که از گلوکورتیکوئیدهای خارجی به‌عنوان عامل تنش‌زا استفاده شده است نشانه‌های تنش بسته به دز گلوکورتیکوئید استفاده شده به خوبی بروز کرده است. به‌عنوان مثال، تزریق ۰/۱، ۱ و ۵ میلی‌گرم دگزامتازون به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن جوجه‌های گوشتی سبب کاهش وزن بدن به صورت خطی شد [۱۱].

در شرایط تنش به‌علت ترشح کورتیکوسترون حساسیت سلول‌ها به انسولین کاهش می‌یابد [۲۴]. برای کاهش آثار منفی تنش راهکارهای مختلفی وجود دارد و دستکاری جیره یکی از این راه‌ها است [۱۴]. استفاده از مواد معدنی کم‌نیاز در شرایط تنش یکی از تغییراتی است که در جیرهٔ طیور اعمال می‌شود و کاربرد کروم برای کاهش آثار منفی تنش در برخی مطالعات گزارش شده است [۱۸ و ۱۹].

نقش کروم در سوخت‌وساز کربوهیدارت‌ها و اهمیت آن برای انسان و پستانداران شناخته شده است [۱۵]. مهمترین اثر کروم در بدن پستانداران به بهبود آن بر کارآیی هورمون انسولین مربوط است. کروم می‌تواند تأثیرگذاری انسولین را از طریق افزایش اتصال آن به گیرنده‌ها و افزایش حساسیت سلول‌های هدف بهبود بخشد [۱۵]. تاکنون مطالعات متعددی [۱۴، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۳] دربارهٔ اثر استفاده از منابع مختلف کروم بر عملکرد پرندگان انجام شده که نتایج متفاوتی به همراه داشته است. برخی از این مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از کروم می‌تواند صفات عملکردی مانند افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، و راندمان خوراک را بهبود بخشد [۱۸ و ۱۹]. اما به اطلاعات دربارهٔ اثر کروم بر فراسنجه‌های خونی و سلول‌های ایمنی کمتر توجه شده است [۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۳]. مثلاً، مطالعات انجام شده دربارهٔ اثر استفاده از مکمل کروم در تغذیهٔ جوجه‌های گوشتی نشان داده که مصرف کروم سبب افزایش غلظت لیپوپروتئین با دانسیتهٔ زیاد (HDL) و کاهش غلظت لیپوپروتئین با دانسیتهٔ کم (LDL) و تری‌گلسیرید می‌شود. [۹ و ۱۲]. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و کاهش مقدار هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های گوشتی که از مکمل نانو ذرات کروم استفاده کرده بودند نیز گزارش شده است [۲۰]. اما در شرایط تنش حاد دربارهٔ آثار فیزیولوژیک و ایمنولوژیک کروم در طیور،

اطلاعات چندانی در اختیار نیست. از آنجا که شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط تنش دفع کروم از کلیه و در نتیجهٔ نیاز به آن افزایش می‌یابد [۱۵] و نیز استفاده از کروم در جیرهٔ طیور حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد [۲]، این فرضیه شکل گرفت که استفاده از مکمل کروم در جیره در شرایط تنش القایی با دگزامتازون ممکن است پاسخ‌های فیزیولوژیکی و ایمنولوژیکی را بهبود دهد و پرنده بتواند آثار فیزیولوژیک منفی تنش را در دورهٔ مواجه با تنش یا بعد از آن به حداقل برساند. لذا هدف از انجام این پژوهش، بررسی پاسخ فیزیولوژیکی و ایمنولوژیکی جوجه‌های گوشتی تحت تنش فیزیولوژیک به استفاده از مکمل آلی کروم بود.

مواد و روش‌ها

از ۱۲۶ قطعه جوجهٔ نر ۱۷ روزه (۱ تا ۱۷ روزگی جوجه‌ها به‌صورت گروهی نگهداری شدند و از جیره مشابه استفاده کردند) نژاد راس در قالب طرحی کاملاً تصادفی استفاده شد. تمام پرنده‌ها، جیرهٔ پایه یکسان (جدول ۱) را دریافت کردند. تیمارها عبارت بودند از: شاهد منفی (بدون کروم، بدون تنش)، شاهد مثبت (بدون کروم و تحت تنش) و گروه مصرف‌کننده ۱۰۰۰ ppb کروم- متیونین و تحت تنش. گروه‌های تحت تنش از ۱۸ تا ۲۵ روزگی (دوره تنش) به مدت یک هفته، ۱/۵ میلی‌گرم دگزامتازون در کیلوگرم جیره دریافت کردند. پس از اتمام دوره تنش، دگزامتازون از جیره حذف شد؛ اما مصرف کروم تا روز ۴۶ ادامه یافت (دورهٔ بازپروری).

از مکمل کروم- متیونین (آویلا کروم، ساخت شرکت زینپورو امریکا) با درجهٔ خلوص یک‌دهم درصد در این پژوهش استفاده شد. جوجه‌ها در ۷ و ۱۶ روزگی به‌ترتیب واکسن نیوکاسل B_1 و اونیو و در ۱۲ روزگی واکسن گامبورو را به صورت آشامیدنی دریافت کردند.

در ۲۵ روزگی (پایان دورهٔ تنش) و ۴۶ روزگی (پایان دورهٔ بارپروری) با قطع ورید گردن از سه پرنده درهر تکرار خون‌گیری شد. غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL، در نمونه‌های سرم خون با استفاده از رنگ‌سنجی و کیت‌های شرکت زیست شیمی اندازه‌گیری شد. لیپوپروتئین با دانسیتهٔ خیلی‌کم (VLDL) و دانسیتهٔ کم (LDL) با استفاده از روش فرایدوالد [۳] و رابطهٔ ۱ و ۲ محاسبه شد.

(۱)

۰/۲× مقدار تری‌گلیسرید = لیپوپروتئین با دانسیتهٔ خیلی کم

(۲)

(لیپوپروتئین با دانسیتهٔ بسیار پایین + لیپوپروتئین با دانسیتهٔ بالا) - کل کلسترول = لیپوپروتئین با دانسیتهٔ کم

برای اندازه‌گیری انواع گلبول‌های سفید پس از تهیهٔ گسترهٔ خونی روی لام و رنگ‌آمیزی آن با رنگ گیمسا گلبول‌های سفید شمارش شدند. حجم سلول‌های متراکم با استفاده از لوله‌های موئین و سانتریفیوژ در ۲۵۰۰ دور در دقیقه بدست آمد. هموگلوبین با روش سیامت محاسبه شد. تیتر نیوکاسل خون پرندگان در ۲۵ و ۴۶ روزگی با روش ممانعت از آگلوتیناسیون (HI) اندازه‌گیری شد [۵].

نرمال بودن داده‌ها با استفاده ازآزمون شاپیرو- ویلک بررسی شد. وزن نخستین به‌عنوان کوواریانس در مدل آماری (رابطهٔ ۳) لحاظ شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SAS ۹/۲ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون توکی مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta\ (X_{ij}-X_{00}) + \varepsilon_{ij} \qquad (۳)$$

که در این رابطه، Y_{ij}، مقدار هر مشاهده؛ μ، میانگین جمعیت؛ T_i، اثر تیمار؛ β، ضریب رگرسیون خطی و ε_{ij} ، اثر خطای آزمایشی است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیرهٔ پایه

مواد خوراکی(درصد)	۱-۱۰ روزگی	۱۱-۲۴ روزگی	۲۵-۴۶ روزگی
دانهٔ ذرت	۵۶/۴۵	۵۹/۳۰	۶۲/۰۵
کنجالهٔ سویا(۴۴ درصد پروتئین)	۳۶/۶۹	۳۰/۰۰	۲۸/۶۴
کنجالهٔ گلوتن	۱/۰۰	۳/۸۳	۱/۵۰
روغن سویا	۱/۳۸	۲/۵۰	۳/۹۱
دی‌کلسیم فسفات	۱/۷۶	۱/۵۵	۱/۳۳
سنگ آهک	۱/۱۴	۱/۰۹	۰/۹۹
مکمل معدنی[1]	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
مکمل ویتامین[2]	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
نمک معمولی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
متیونین	۰/۳۴	۰/۳۱	۰/۲۵
ال- لیزین	۰/۲۹	۰/۳۳	۰/۲۳
ال- ترئونین	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰
کولین کلراید		۰/۱۵	۰/۱۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۵۰	۳۰۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۸	۲۰/۸	۱۸/۹
کلسیم (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۴	۰/۷۵
فسفر در دسترس (درصد)	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۳۷
لیزین (درصد)	۱/۲۳	۱/۱۲	۱/۰۰
متیونین (درصد)	۰/۶۵	۰/۶۳	۰/۵۳
متیونین+ سیستین (درصد)	۰/۹۱	۰/۸۸	۰/۷۶

۱. هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت، و ۸ گرم سلنیوم است

۲. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۷۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۶۴۰ میلی‌گرم تیامین، ۳۰۰۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین،۶۱۲ میلی‌گرم پیروکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود.

نتایج و بحث

در دورهٔ تنش، غلظت گلوکز خون پرندگانی که تحت تنش قرار داشتند افزایش یافت؛ اما مصرف کروم بر غلظت گلوکز خون پرندگان تحت تنش اثری نداشت (جدول ۲). در دورهٔ تنش، اعمال تنش سبب افزایش غلظت HDL، LDL و VLDL در پرندگان شاهد مثبت شد ($p < ۰/۰۵$)؛ اما پرندگان تحت تنشی که کروم درجیره مصرف کردند غلظت LDL و VLDL کمتری در مقایسه با این گروه داشتند. مقدار تری‌گلیسرید و کلسترول نیز در پرندگان تحت تنش افزایش یافت ($p< ۰/۰۵$). پرندگان تحت تنشی که از جیرهٔ حاوی کروم مصرف کرده بودند، تری‌گلیسرید و کلسترول آنها غلظت پایین‌تری داشتند ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۲. تأثیر تیمارها بر غلظت گلوکز و چربی‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی در دورهٔ تنش (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

تیمار	گلوکز	HDL	TG	کلسترول	LDL	VLDL
شاهد منفی[۱]	۱۵۸/۵^{b}	۴۶/۷^{b}	۶۸/۲^{b}	۸۸/۶^{c}	۲۱/۵ ^{b}	۱۳/۶^{b}
شاهد مثبت[۲]	۲۲۱/۲^{a}	۱۰۶/۳^{a}	۱۲۰/۴^{a}	۲۲۷/۱^{a}	۹۶/۱^{a}	۲۴/۰^{a}
تحت تنش+ ۱۰۰۰ppb کروم	۲۰۶/۸^{ab}	۱۰۶/۵^{a}	۷۱/۱^{b}	۱۴۷/۷^{b}	۳۵/۲^{b}	۱۴/۲^{b}
SEM	۱۳/۵۲	۷/۵۶	۱/۲۵	۶/۰۵	۱۰/۹	۰/۲۴۸
P- value	۰/۰۴۸	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۷	<۰/۰۰۰۱

a-c تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه، در هر ستون معنادار است.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

۱و۲. به‌ترتیب عبارتند از تیمار بدون تنش-بدون کروم و تیمار تحت تنش- بدون کروم

جدول ۳. تأثیر تیمارها بر غلظت گلوکز و الگوی چربی‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی در دورهٔ بازپروری (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

تیمار	گلوکز	HDL	TG	کلسترول	LDL	VLDL
شاهد منفی[۱]	۱۷۰/۳	۵۸/۸^{a}	۵۴/۸^{b}	۱۲۵/۵^{b}	۵۵/۸^{c}	۱۰/۹^{c}
شاهد مثبت[۲]	۱۹۲/۳	۴۹/۸^{a}	۵۶/۸^{b}	۱۵۲/۶^{a}	۹۱/۶^{b}	۱۱/۳^{b}
تحت تنش+ ۱۰۰۰ppb کروم	۱۳۵/۶	۱۷/۳^{b}	۱۰۹/۶^{a}	۱۶۹/۲^{a}	۱۳۰/۸^{a}	۲۱/۹^{a}
SEM	۲۵/۹۵	۶/۳۴	۳/۸۲	۶/۰۷	۵/۹۶	۰/۷۶
P- value	۰/۳۸۲	۰/۰۱۹	۰/۰۰۴	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۴

a-cتفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه، در هر ستون معنادار است.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

۱و۲به‌ترتیب عبارتند از تیمار بدون تنش-بدون کروم و تیمار تحت تنش-بدون کروم

در دورهٔ بازپروری، تفاوتی درغلظت گلوکز سرم بین تیمارها مشاهده نشد. گروه مصرف کننده کروم، HDL کمتر، LDL و VLDL بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر داشت (جدول ۳). در دورهٔ بازپروری پرندگانی که تنش را تجربه کرده بودند غلظت کلسترول بیشتری داشتند (p< ۰/۰۵). اما مقدار تری‌گلیسرید در پرندگانی که کروم مصرف کرده بودند بیش از دو گروه دیگر بود (p< ۰/۰۵). علت افزایش غلظت لیپوپروتئین‌ها و تری‌گلیسرید در اثر مصرف کروم در دوره بازپروری مشخص نیست.

افزایش گلوکز خون در شرایط تنش تأییدکنندهٔ نتایج گزارشی است که افزایش مقدار گلوکز پلاسمای خون جوجه‌های گوشتی با تزریق ۰/۱، یک و پنج میلی‌گرم دگزامتازون را نشان داد [۱۱]. در مطالعهٔ دیگری هم افزایش معنادار غلظت گلوکز خون جوجه‌هایی که با استفاده از کورتیکوسترون خوراکی تحت تنش قرار گرفته بودند گزارش شده است [۱۳]. هر چند سوخت‌وساز گلوکز در طیور تفاوت درخورتوجهی با پستانداران دارد [۱] با این حال استفاده از کروم در جیرهٔ طیور می‌تواند سبب کاهش مقدار گلوکز پلاسما و اسیدهای چرب غیراستریفیه شود [۱۲]، که حاکی از بهبود حساسیت بافت به انسولین است. بنابراین انتظار می‌رفت که مصرف کروم بتواند با تأثیر بر جذب گلوکز تفاوتی در غلظت گلوکز خون ایجاد کند. در مطالعه‌ای استفاده از مکمل آلی و معدنی کروم اثری بر غلظت گلوکز خون در ۲۸ روزگی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی نداشت، اما در ۴۲ روزگی تیمارهای دریافت‌کنندهٔ هر دو منبع کروم، گلوکز کمتری در سرم خود در مقایسه با گروه شاهد داشتند [۱۴]. همچنین استفاده از ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۲۰۰ ppb مکمل کروم در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی کاهش گلوکز خون را به همراه داشت [۱۸]. در مطالعهٔ حاضر هم غلظت گلوکز سرم در گروهی که کروم مصرف کرده بودند تنها به لحاظ عددی کمتر از گروه شاهد مثبت بود. ممکن است تفاوت بین نتایج این آزمایش با آزمایش‌هایی که آثار مثبت کروم در شرایط تنش را گزارش کردند [۱۴ و ۱۸] به نوع تنش القاء شده (محیطی در برابر فیزیولوژیکی) و شدت آن (تحت حاد در برابر حاد) ارتباط داشته باشد، به‌نحوی که جوجه‌ها در این آزمایش قادر به نشان دادن پاسخ به مکمل کروم مشابه با شرایط تنش محیطی نبوده باشند. در هر صورت، دربارهٔ آثار کروم بر غلظت گلوکز خون نتایج همیشه یکسان نبوده است. به‌عنوان مثال در تحقیقی استفاده از ۲۰۰ ppb کروم پیکولینات نتوانست غلظت گلوکز خون جوجه‌هایی که مقادیر مختلف پروتئین دریافت کرده بودند را تغییر دهد [۹].

در مطالعه‌ای که از دزهای صفر ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ ppb کروم پیکولینات در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی استفاده شد، افزودن کروم سبب افزایش HDL و کاهش کلسترول سرم خون شد و تنها در غلظت ۱۰۰ ppb غلظت HDL کاهش داشت [۱۰]. نتایج مطالعهٔ حاضر هم کاهش غلظت کلسترول در اثر مصرف کروم را در دورهٔ تنش تأیید کرد. در مطالعهٔ دیگری که اثر دو منبع کروم آلی و معدنی بر چربی خون جوجه‌های تحت تنش بررسی شد، کاهش مقدار کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL و افزایش HDL گزارش شد [۱۴]. افزایش سنتز چربی در بافت چربی و کاهش آزاد شدن چربی از آن در اثر هورمون انسولین می‌تواند دلیلی برای کاهش چربی‌های سرم در حضور کروم باشد [۱۴]. علاوه بر این افزایش گیرنده‌های LDL در کبد می‌تواند دلیلی بر کاهش مقدار آن در خون به‌واسطهٔ استفاده از کروم باشد [۱۲]. طبق گزارشی مصرف کروم در جیره سبب کاهش آپولیپوپروتئین B که جزء اصلی سازنده LDL و افزایش آپولیپوپروتئین A_1 که جزء اصلی سازنده HDL است می‌شود و به همین دلیل کاهش غلظت LDL و افزایش غلظت HDL خون در اثر مصرف کروم دیده می‌شود [۱۶].

جدول ۴. تأثیر تیمارها برتعداد گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین، حجم سلول‌های متراکم خون جوجه‌های گوشتی در دورهٔ تنش

تیمار	گلبول سفید ($\times 10^4/\mu l$)	هتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل: لنفوسیت	مونوسیت (درصد)	گلوبول قرمز[1] ($\times 10^6/\mu l$)	حجم سلول‌های فشرده (درصد)	هموگلوبین (g/dl)
شاهد منفی[1]	۲/۳[b]	۲۲[b]	۷۴[a]	۰/۳۰[b]	۱/۳۲	۳/۲۴	۳۲/۶۷	۹/۱۷
شاهدمثبت[2]	۳/۳[a]	۳۰[a]	۶۷[b]	۰/۴۵[a]	۱/۳۳	۳/۱۶	۳۶/۰۶	۹/۱۶
تحت تنش+ppb۱۰۰۰ کروم	۲/۷[b]	۱۹[b]	۷۸[a]	۰/۲۴[b]	۱/۳۴	۳/۳۶	۳۳/۶۰	۹/۴۳
SEM	۰/۱۲۶	۱/۷۳	۱/۵۶	۰/۰۵۰	۰/۳۸۳	۰/۱۹۷	۱/۴۱	۰/۳۳
P- value	۰/۰۰۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۹	۰/۹۹۸	۰/۰۶۴	۰/۲۷۵	۰/۱۲۰

a-b تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه، در هر ستون معنادار است.

۱و۲ به‌ترتیب عبارتند از تیمار بدون تنش-بدون کروم و تیمار تحت تنش-بدون کروم

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۵. تأثیر تیمارها برتعداد گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین، حجم سلول‌های متراکم خون جوجه‌های گوشتی در دورهٔ بازپروری

تیمار	گلبول سفید ($\times 10^4/\mu l$)	هتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل: لنفوسیت	مونوسیت (درصد)	گلوبول قرمز[1] ($\times 10^6/\mu l$)	حجم سلول‌های فشرده (درصد)	هموگلوبین (g/dl)
شاهد منفی[1]	۱/۷[c]	۱۴	۸۴	۰/۱۶	۲/۱۷	۲/۹۸	۳۶/۲۲	۹/۰۶
شاهدمثبت[2]	۲/۱[b]	۱۴	۸۲	۰/۱۷	۱/۶۹	۳/۱۲	۳۵/۳۷	۹/۰۹
تحت تنش+ ppb۱۰۰۰ کروم	۲/۸[a]	۱۴	۸۲	۰/۱۸	۱/۴۵	۳/۱۱	۳۲/۴۰	۹/۱۰
SEM	۰/۹۴۳	۰/۶۳	۰/۹۹	۰/۰۰۷	۰/۲۴۱	۰/۵۳	۱/۱۷	۰/۰۶۹
P- value	۰/۰۰۲	۰/۷۵۶	۰/۳۱۸	۰/۵۰۷	۰/۲۳	۰/۰۸۸	۰/۱۹۸	۰/۹۲۱

a-c. تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه، در هر ستون معنادار است

۱و۲. به‌ترتیب عبارتند از تیمار بدون تنش-بدون کروم و تیمار تحت تنش-بدون کروم

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

کاهش کلسترول در اثر مصرف کروم هم می‌تواند مربوط به افزایش فعالیت آنزیم لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز باشد که به استریفیه شدن و دفع کلسترول کمک می‌کند [۸].

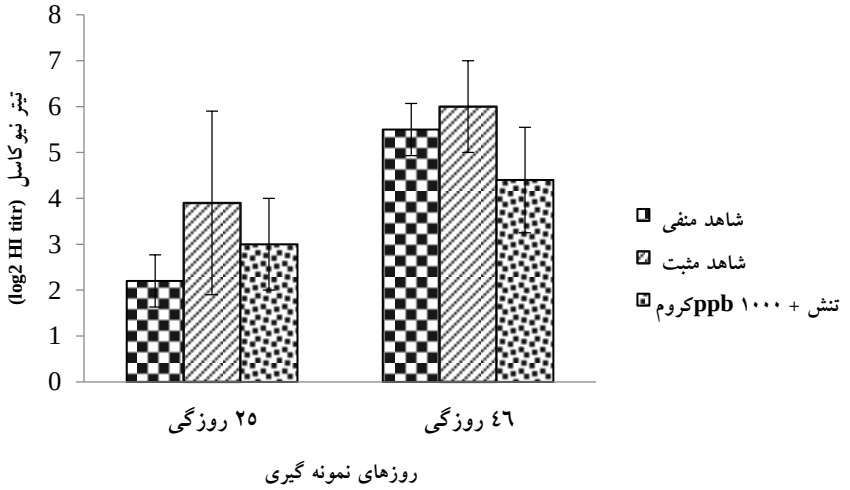
داده‌های مربوط به اثر تیمارها بر سلول‌های خون در دورهٔ تنش و بازپروری به‌ترتیب در جدول ۴ و ۵ نشان داده شده است. اعمال تنش سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید، درصد هتروفیل و لنفوسیت شد، اما مصرف کروم در پرندگان تحت تنش تعداد گلبول‌های سفید را کاهش داد به صورتی که تفاوت معناداری بین گروه دریافت کنند کروم و شاهد منفی مشاهده نشد. نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پرندگان تحت تنش(شاهد مثبت) افزایش معناداری نسبت به دو گروه دیگر داشت، و مصرف کروم سبب شد این نسبت با پرندگان بدون تنش (شاهد منفی) تفاوت معناداری نداشته باشد. تیمارها در دورهٔ تنش بر درصد منوسیت، گلبول قرمز، حجم سلول‌های متراکم شده و هموگلوبین اثر نداشتند (جدول۴).

در مطالعه‌ای بی‌اثر بودن مصرف ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ ppb کروم در جیره بر حجم سلول‌های متراکم و هموگلوبین در جوجه‌های تحت تنش حرارتی گزارش شده است [۲۱]. در گزارش دیگری هم مصرف ۶۰۰ و ۱۲۰۰ppb کروم از دو منبع آلی و معدنی کروم اثری بر درصد منوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل نداشت [۴]. در دورهٔ بازپروری، پرندگان تحت تنشی که از جیرهٔ حاوی کروم استفاده کرده بودند تعداد گلبول‌های سفید بیشتری نسبت به دو گروه دیگر داشتند. اما مصرف کروم اثری بر درصد هتروفیل و لنفوسیت نداشت. در این دوره هم تیمارها اثری بر درصد منوسیت، گلبول قرمز، حجم سلول‌های متراکم شده، و هموگلوبین نداشتند (جدول ۵).

گزارش‌ها نشان می‌دهند با تزریق کورتیزول تعداد لنفوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها ظرف چند دقیقه شروع به کاهش می‌کنند. کاهش شدید لنفوسیت و ائوزینوفیل‌ها در خون معیار تشخیص ترشح زیاد از حد کورتیزول توسط غدهٔ آدرنال است [۶]. نتایج تحقیق حاضر هم نشان داد، اعمال تنش سبب کاهش درصد لنفوسیت‌ها، افزایش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شود. تحریک تجزیهٔ لنفوسیت‌ها در خون، تخریبِ DNA، تحلیل رفتن بافت‌های لنفوئیدی و مهاجرت لنفوسیت‌ها از خون به سایر بخش‌های بدن از دلایل کاهش لنفوسیت‌های خون در شرایط استفاده از دگزامتازون است [۷].

دربارهٔ اثر استفاده از مکمل کروم بر سایر سلول‌های خونی در جوجه‌های گوشتی گزارش‌های زیادی در دسترس نیست. در مطالعه‌ای که از دزهای مختلف کلرید کروم در جیره استفاده شد، واکنش ایمنی بدن با تزریق گلبول قرمز گوسفندی سنجیده شد، مقدار هتروفیل، منوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون تمام جوجه‌هایی که کروم مصرف کرده بودند کاهش و مقدار لنفوسیت‌ها افزایش یافت [۲۳]. در مطالعه‌ای دیگر، مصرف ۳۰۰۰ ppb نانو ذرات کروم سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت و افزایش مقدار لنفوسیت‌ها شد [۲۰]. افزایش مقدار لنفوسیت‌ها، کاهش هتروفیل و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در اثر مصرف کروم در مطالعه حاضر نیز تأیید شد. اما پس از پایان تنش، ادامهٔ استفاده از کروم در جیره سبب افزایش تعداد گلبول‌های سفید شد.

تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در ۲۵ و ۴۶ روزگی در شکل ۱ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی اثری بر تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل نداشتند. در گزارشی افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس آنفولانزا و نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی که ۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ ppb کروم مصرف کردند آمده است [۲۲]. در مطالعهٔ دیگری مصرف ۳۰۰۰ ppb مکمل کروم در جیره سبب افزایش تیترآنتی بادی علیه نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه شد؛ اما در ۲۸ و ۳۵ روزگی این اثر مشاهده نشد [۲۰] که با نتایج مطالعه حاضر در توافق است.



شکل۱. اثر تیمارها بر تیتر آنتی بادی علیه نیوکاسل، شاهد منفی (گروه بدون تنش- بدون کروم)، شاهد مثبت (گروه تحت تنش- بدون کروم)، میانگین ± انحراف معیار

هرچند که مکانیسم دقیق اثر کروم بر ایمنی جوجه‌های گوشتی به روشنی مشخص نیست ولی گزارش شده که کروم به‌دلیل کاهش ترشح کورتیکوسترون [۱۹]، آثار منفی گلوکوکورتیکوئیدها بر سیستم ایمنی را کاهش می‌دهد [۴]. کورتیزول تعداد ائوزینوفیل و لنفوسیت‌ها در خون و تولید سلول‌های T و آنتی‌بادی‌ها از بافت‌های لنفوئیدی را کاهش می‌دهد [۶]. هم چنین در مطالعه‌ای گزارش شده کورتیزول کل پروتئین‌های سرم و گلوبولین خون جوجه‌های گوشتی که با تزریق گلبول قرمز گوسفندی تحت تنش بودند را به صورت معناداری کاهش داد که نشان دهندهٔ اثر منفی تنش بر تولید پروتئین در بدن است که می‌تواند از طریق کاهش تولید پروتئین بر سیستم ایمنی اثرگذار باشد [۲۳]. در شرایط درون آزمایشگاهی نشان داده شده است که استفاده از ۲۰۰ ppb کروم می‌تواند ابقاء پروتئین و ترشح پروتئین را در سلول‌های آسینی کبد افزایش دهد [۹]. به نظر می‌رسد کروم از طریق اثر بر کارایی انسولین این آثار را اعمال می‌کند. افزایش انسولین می‌تواند سبب افزایش انتقال اسیدهای آمینه به داخل سلول، افزایش ترجمه mRNA از طریق روشن کردن ماشین ریبوزومی، کاهش کاتابولیسم پروتئین و کاهش گلوکونئوژنسیس در کبد شود [۶]. علاوه براین، استفاده از کروم در تغذیهٔ جوجه‌های گوشتی که تحت تنش قرار داشتند سبب افزایش پروتئین خون شد که می‌تواند تأییدکنندهٔ افزایش سنتز پروتئین در کبد در اثر انسولین باشد [۲۳]. کروم می‌تواند تا حدی از شدت این آثار سرکوب کننده بکاهد. در پرندگانی که، مکمل کروم در جیره دریافت کرده بودند پاسخ‌های ایمنی به تزریق فیتوهماگلوتنین بهبود یافت. علاوه بر این افزایش لنفوسیت و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت هم پیشنهاد کنندهٔ پاسخ ایمنی خاص به مصرف کروم است [۲۳]. گزارش شده که افزایش اینترلوکین II از دیگر عوامل افزایش پاسخ ایمنی وابسته به سلول در اثر مصرف کروم است [۴].

مکانیسم دیگری که محتمل است کروم از طریق آن بتواند بر سیستم ایمنی اثرگذار باشد اثر بر ابقاء عناصر معدنی دیگر در بدن است. گزارش شده که استفاده از

مکمل کروم در تغذیه می‌تواند ابقـای روی، آهـن، منگنـز، کلسیم و فسفر را در بدن بهبود بخشد [۲۰]. بهبود وضعیت روی و افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسـفاتاز کـه آنزیمـی وابسته به روی است در اثر مصرف کروم در جیرهٔ پرندگان تحت تنش نشان داده شده است [۲۳]. در مطالعـهٔ دیگـری هم بهبود وضعیت روی و مس در خون پرندگانی که تحت تنش حرارتی قرار داشتند و کروم در جیره دریافت کردنـد گزارش شده است [۴]. ایـن عناصـر بـه‌عنـوان کوفـاکتور، فعالیت آنزیم‌هایی را تنظیم می‌کنند که در پاسخ ایمنی نقش مهمی دارند.

افزایش نسبت بورس فابریسیوس و کبد به وزن بدن در اثـــر مصـــرف کـــروم [۱۴ و ۲۳] هـــم یکـــی دیگـــر از مکانیسم‌هایی است که تصور می‌شود کـروم بـه‌واسـطهٔ آن می‌توانـد ایمنـی را تحـت تـأثیر قـرار دهـد. افـزایش وزن تیموس و طحال و تغییرنکردن وزن بـورس فابریسـیوس و کبد در اثر مصرف کروم در پرندگان تحـت تـنش گـزارش شده است [۴]. به نظر نمی‌رسد در مطالعهٔ حاضر کـروم از طریق افزایش وزن اندام‌های دخیل در ایمنی سبب تغییر در نسبت لنفوسیت و هتروفیل و افزایش تعداد لنفوسیت شـده باشد چرا که وزن طحال، کبد و بورس فابریسـیوس تحـت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (داده‌ها نشان داده نشدند). تـأثیر بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن در شرایط تنش توسط کروم مکانیسم دیگری اسـت کـه کـروم بواسـطه آن، سـلامت را بهبود می‌بخشد [۱۷].

کروم از طریق اتصال به کروماتین، مکان‌های ژنی آغـاز کننده و به دنبال آن ساخت RNA و در نتیجـه بیـان ژن را افزایش می‌دهد [۱۵]. لذا این امکان وجود دارد که افـزایش تعداد لنفوسیت‌هـا بعـد از دوران تـنش، ناشـی از اثـر ایـن عنصر بر ساخت این سلول‌ها باشد. مکانیسم‌های ذکر شده مواردی هستند که به واسطهٔ آن‌ها می‌توان پاسخ ایمنی بدن به مصرف کروم را توضیح داد. اما مشـخص اسـت کـه در آزمایش‌های مختلف تمام این مکانیسم‌ها مطالعه نمی‌شوند. در آزمایش حاضر کاهش عددی در غلظت گلوکز خون در پرندگانی که کروم مصرف کرده بودند این احتمال را ایجاد می‌کند که کروم توانسته تا حدی عملکرد انسولین را بهبود بخشد، هر چنـد در ایـن آزمـایش غلظـت انسـولین خـون اندازه‌گیری نشد ولی به نظـر مـی‌رسـد کـروم بـه واسـطهٔ مکانیسم‌هایی که توسـط انسـولین مـدیریت مـی‌شـوند بـر شاخصه‌هـای ایمنـی اثـر گذاشـته باشـد. قضـاوت دربـارهٔ دخالت سایر مکانیسم‌ها در نتایج حاصل از این پژوهش، بر اساس اطلاعات این مقاله امکان پذیر نیست.

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشـان داد کـه اسـتفاده از ۱۰۰۰ ppb مکمل کروم- متیونین در جیرهٔ جوجه‌هـایی کـه تحت تنش حاد فیزیولوژیک هستند می‌تواند تاحدی از آثار فیزیولوژیک منفی تنش بکاهد. اما ادامهٔ استفاده از کروم تـا پایان دوره مزیت در خور توجهی ندارد.

تشکر و قدردانی

از مدیر عامل شرکت یسنا مهر که منابع مـالی اجـرای ایـن طرح را فراهم آوردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

[1]. Braun EJ and Sweazea KL (2008) Glucose regulation in birds. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 151: 1-9.

[2]. Brooks MA, Grimes JL, Lloyd KE, Krafka K, Lamptey A and Spears JW (2016) Chromium propionate in broilers: effect on insulin sensitivity. Poultry Science pew018.

[3]. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clinical Chemisrty 18:499-502.

[4]. Ghazi SH, Habibian M, Moeini MM, and Abdolmohammadi AR (2012) Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Biological Trace Element Research 146: 309-317.

[5]. Giambrone JJ (1981) Laboratory evaluation of the immune response of young broiler chickens vaccinated against Newcastle disease under field condition. Poultry Science 60:1204-1208.

[6]. Gytun C, Hall E (2006) Textbook of Medical physiology. 11th ed, Elsevier Saunders, 950-952, 954, 967

[7]. Jain NC 1993 Essentials of veterinary hematology. Lea and Febiger, Philadelphia.

[8]. Khan RU, Naz SH and Dhama K (2014) Chromium: Pharmacological application in heat stressed poultry. International Journal of Pharmacology 10: 213-217.

[9]. Kim SW, Han IK, Choi YJ, Kim YH, Shin IS and Chae BJ (1995) Effects of Chromium picolinate on growth performance, carcass composition and serum traits of broilers fed dietary different levels of crude protein. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 8:463-470.

[10]. Kim YH, Han IK, Choi YJ, Shin IS, Chae BJ and Kang TH (1996) Effects of dietary levels of chromium picolinate on growth performance carcass quality and serum traits in broiler chicks. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 9: 341–347.

[11]. Li Y, Cai HY, Liu GH, Dong XL, Chang WH, Zhang S, Zheng AJ and Chen GL (2009) Effects of stress simulated by dexamethasone on jejunal glucose transport in broilers. Poultry Science 88:330–337.

[12]. Lien TF, Horn YM, and Yang KH (1999) Performance, serum characteristics, carcass traits and lipid metabolism of broilers as affected by supplement of chromium picolinate. British Poultry Science Journal 40:357–363.

[13]. Lin H, Sui SJ, Jiao HC, Buyse J and Decuypere E (2006) Impaired development of broiler chickens by stress mimicked by corticosterone exposure. Molecular and Integrative. Physiology of Comparative Biochemistry and Physiology 143: 400–405.

[14]. Moeini MM, Bahrami A, Ghazi S and Targhibi MR (2011) The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on production performance, carcass traits and some blood parameters of broiler chicken under heat stress condition. Biological Trace Element Research 144: 715-724.

[15]. Pechova A and Pavlata L (2007) Chromium as an essential nutrient: a review. Veterinarni Medicina-Praha 52: 1.-18.

[16]. Press RI, Geller J, Evans GW (1990) The effect of chromium picolinate on cholesterol and apolipoprotein fractions in human subjects. Western Journal of medicine 152: 41-45.

[17]. Preuss HG, Grojec PL, Lieberman S, Anderson RA (1997) Effects of different chromium compounds on blood pressure and lipid peroxidation in spontaneously hypertensive rats. Clinical Nephrology 47:325–330.

[18]. Sahin K, Sahin N and Kucuk O (2003) Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient

temperature (32 C).Nutrition Research 23: 225-238.

[19]. Sahin K, Sahin N, Onderci M, Gursu F and Cikim G (2002) Optimal dietary concentration of chromium for alleviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens. Biological Trace Element Research 89: 53–64.

[20]. Sirirat N, Lu JJ, Yhung AT, Chen SY and Lien TF (2012) Effects different levels of nanoparticles chromium picolinate supplementation on growth performance, mineral retention, and immune responses in broiler chickens. The Journal of Agricultural Science 4: 48-58.

[21]. Toghyani M, Shivazad M, Gheisari AA and Zarkesh SH (2006) Performance, carcass traits and hematological parameters of heat-stressed broiler chicks in response to dietary levels of chromium picolinate. International Journal of Poultry Science 5: 65-69.

[22]. Toghyani M, Zarkesh S, Shivazad M and Gheisari A (2007) Immune responses of broiler chicks fed chromium picolinate in heat stress condition. The Journal of Poultry Science 44: 330-334.

[23]. Uyanik F, Atasever A, Ozdamar S and Aydin F (2002) Effects of dietary chromium chloride supplementation on performance, some serum parameters, and immune response in broilers. Biological Trace Element Research 90: 99-115.

[24]. Zhao JP, Lin H, Jiao HC Song ZG (2009) Corticosterone suppresses insulin and NO stimulated muscle glucose uptake in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). Journal of Animal Science 149: 448–454.

Journal of
Animal Production
(College of Abouraihan – University of Tehran)
Vol. 19 ■ No. 3 ■ Autumn 2017

The impact of chromium-methionine supplementation on decreasing deleterious effects of physiological stress in broilers

Maryam Bagheri Varzaneh *

Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

Received: May 2, 2017 **Accepted: July 9, 2017**

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of chromium-methionine (Cr-Met) supplementation on the blood and immune parameters of broiler under acute stress. A total of one hundred twenty-six broilers were allocated to three treatments and three replicates (14 birds per replicate) in a completely randomized design. Treatments were: (1) negative control, *i.e.* basal diet without stress and Cr-Met, (2) positive control: basal diet with stress and without Cr-Met, (3) basal diet with stress and supplemented with 1000 ppb Cr-Met. Stress was induced from day 18 by addition of 1.5 mg dexamethasone per kg of the diet for one week followed by a withdrawal period until day 46. Blood samples were collected on day 25 and 46 of age. Results showed that stress increased blood glucose and lipid concentrations of serum ($p<0.05$). The addition of Cr-Met decreased cholesterol, TG, LDL and VLDL on day 25 of age ($p<0.05$). However, broilers fed Cr-Met had higher TG, LDL, VLDL and less HDL compared to other treatments on day 46 ($p<0.05$). Administration of dexamethasone significantly elevated concentrations of white blood cell (WBC), heterophil (H), and heterophil to lymphocyte ratio ($p<0.05$), while these parameters decreased by Cr-Met supplementation on day 25 ($p<0.05$). In conclusion, supplemental Cr-Met improved broiler response to physiological stress during the acute stress period. However, broilers did not benefit from feeding Cr-Met supplementation after dexamethasone induced stress.

Keywords: broiler, dexamethasone, immunity, organic chromium, stress.

Email: bagheri@irost.ir