نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 140-132

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 132-140

تاثیر زمان مکمل‌سازی ال-کارنیتین و پودر سیر بر پاسخ ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی سویه آرین

علی خطیب‌جو[1*] - امین‌اله پورملکشاهی[3]- فرشید فتاح‌نیا[2]- هوشنگ جعفری[4] - مریم اعلائی[5]

تاریخ دریافت: 1393/11/12
تاریخ پذیرش: 1394/05/10

چکیده

به منظور ارزیابی تاثیر ال-کارنیتین و پودر سیر بر پاسخ ایمنی سلولی و هومورال جوجه های گوشتی، این آزمایش با استفاده از 480 قطعه جوجه گوشتی سویه آرین در قالب فاکتوریل (2×5) بر پایه طرح کاملا تصادفی با 5 جیره غذائی و 2 دوره کوتاه (3 هفته اول دوره پرورش) و بلند مدت (کل دوره پرورش) در 4 تکرار و 12 قطعه جوجه در هر تکرار انجام گردید. تیمارهای آزمایشی شامل 1) جیره شاهد (بدون افزودنی)، 2) جیره حاوی 0/02 درصد فلاوومایسین (کنترل مثبت)، 3) جیره حاوی 1/5 درصد پودر سیر، 4) جیره حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین و 5) جیره حاوی 0/025 درصد ال–کارنیتین و 1/5 درصد پودر سیر بود. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی هومورال علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق زیر پوستی فیتوهماگلوتینین (PHA) بررسی شد. نتایج آزمایش نشان داد که تیمارهای آزمایشی و مدت زمان مصرف مکمل‌ها بر ایمنی سلولی علیه فیتوهماگلوتینین و ایمنی هومورال اثر معنی‌داری نداشتند. مدت زمان مصرف و افزودن مکمل ال-کارنیتین و پودر سیر باعث کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و افزایش درصد لنفوسیت شد. به طور کلی، کاربرد این مکمل‌ها (0/025 درصد مکمل ال-کارنیتین و 1/5درصد پودر سیر) در شرایط مطلوب پرورشی، بر ایمنی سلولی و هومورال تاثیری ندارند بلکه سبب افزایش ایمنی از طریق سلول‌های خونی و بهبود سیستم دفاعی بدن جوجه‌های گوشتی می‌گردد.

واژه های کلیدی: ال-کارنتین، ایمنی سلولی، پاسخ ایمنی هومورال، پودر سیر، جوجه گوشتی.

مقدمه

ال-کارنیتین (بتا هیدروکسی گاما-تری‌متیل آمینو بوتیرات) یک آمین چهارتایی قابل حل در آب و دارای دو ایزومر دی و ال است که تنها ایزومر ال آن فعالیت فیزیولوژیکی دارد (3). ال-کارنیتین دارای نقش‌های متعددی از جمله محافظت و تنظیم فعالیت غشاء سلولی، بهبود پاسخ سیستم ایمنی بدن و نقش متابولیکی و کاتالیکی در متابولیسم بدن است (4). تاثیر ال-کارنیتین بر پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌ها نیز به اثبات رسیده است به طوری که افزودن ال-کارنیتین (75 و 100 میلی‌گرم برکیلوگرم) به جیره جوجه‌های گوشتی مستعد به آسیت سبب بهبود پاسخ ایمنی و تولید ایمونوگلوبین G سرم خون جوجه‌های گوشتی شده است (6 و 12). مشخص شده است که ال-کارنیتین از طریق افزایش تولید اینترلوکین-2 و اینترفرون گاما و کاهش تولید نیتریک اکساید قادر به افزایش تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای طحال بوده و از این طریق بر ایمنی سلولی و هومورال تاثیرگذار است (21). همچنین مشاهده شده است که استفاده کوتاه مدت از ال- کارنتین در جیره‌ی جوجه‌های سویه لگهورن سبب افزایش پاسخ های ایمنی هومورال شده است (21).

امروزه تأثیر سیر بر سیستم ایمنی و خواص آنتی بیوتیکی و ضد قارچی آن مورد توجه پرورش دهندگان صنعت طیور قرار گرفته است. بیشتر خواص ضدمیکروبی سیر در ارتباط با آلیسین (*Alicine*) است که توسط آنزیم فسفوپیرودوکسال آلیناز تولید می‌گردد (22). آلیل سیستئین (*S-allyl cysteine*) نیز یکی دیگر از ترکیبات سیر است که مانع از متابولسیم تومور و هچنین سبب افزایش پاسخ های ایمنی می‌شود (19). گزارش شده است که افزودن 0/3 درصد پودر سیر در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش میزان و تعداد گلبول‌های سفید،

1-استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام،
2-دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام،
3-دانشجوی کارشناس ارشد تغذیه طیور دانشگاه ایلام،
4-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی ایلام،
5 -دانشجوی دکتری تغذیه طیور دانشگاه ایلام.
(*- نویسنده مسئول: Email: a.khatibjoo@gmail.com)

لنفوسیت‌ها و ایمنوگلوبولین G علیه گلبول قرمز گوسفند می‌گردد (11). با توجه به مطالب ذکر شده در مورد اثرات سیر و ال-کارنیتین و پژوهش های محدود در این زمینه و همچنین عدم بررسی تاثیر زمان مصرف بر پاسخ جوجه‌های گوشتی به این افزودنی‌ها، این آزمایش با هدف بررسی اثرات مکمل ال-کارنیتین و پودر سیر بر ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف انجام گردید.

مواد و روش ها

این آزمایش در سالن مرغداری ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سازمان جهاد کشاورزی استان ایلام واقع در شهرستان چرداول با استفاده از 480 قطعه جوجه گوشتی سویه آرین در دو گروه مساوی اجرا شد. آزمایش در قالب فاکتوریل (5×2) بر پایه طرح کاملا تصادفی با 5 جیره غذائی، 4 تکرار و 12 قطعه جوجه در هر تکرار و در دو دوره کوتاه (3 هفته اول) و بلند مدت (کل دوره) انجام گردید. عامل اول شامل جیره های آزمایشی شامل 1) جیره شاهد (بدون افزودنی)، 2) جیره حاوی 1/5 درصد پودر سیر، 3) جیره حاوی 0/02 درصد فلاوومایسین، 4) جیره حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین و 5) جیره حاوی 0/025 درصد ال–کارنیتین و 1/5 درصد پودر سیر بود و عامل دوم شامل دوره تغذیه که هر کدام در دوره‌های کوتاه مدت (3 هفته) و بلند مدت (کل دوره پرورش) مورد استفاده قرار گرفتند. برای تامین مقادیر ال- کارنیتین حاوی 50 گرم ال-کارنیتین در یک کیلوگرم از شرکت کیمیافام خریداری و در تراکم 0/025 درصد جیره استفاده شد و پودر سیر نیز از شهرستان ایلام تهیه گردید. آنالیز سیر نیز از لحاظ انرژی، پروتئین و فیبر انجام و در جیره اعمال گردید. جیره‌های آزمایش با توجه به مقدار مواد مغذی توصیه شده بر اساس راهنمای نیازهای سویه راس 308 (جدول1) و به وسیله نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شدند (17). در پایان دوره آزمایش (42 روزگی) یک جوجه از هر تکرار انتخاب و به وسیله سرنگ 2/5 میلی لیتری از سیاهرگ زیر بال جوجه نمونه خون گرفته شد. نمونه‌های خونی درون لوله‌های حاوی 50 میکرولیتر ماده‌ی ضد انعقاد اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید (Ethylene Diamin Tetra acetic Acid: EDTA) به منظور شمارش لنفوسیت و هتروفیل قرار داده شد. شمارش گلبول‌های سفید (هتروفیل، لنفوسیت) از طریق مشاهده و شمارش آنها بعد از رنگ آمیزی گیمسا در زیر میکروسکوپ نوری و به روش شمارش با چشم انجام شد (13).

به منظور بررسی پاسخ ایمنی سلولی علیه میتوژن های محرک سیستم ایمنی، در روز 12 آزمایش اول و روز 26 در آزمایش دوم، 2 قطعه جوجه (8 جوجه برای هر تیمار) از هر تکرار در هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و با دستگاه میکرومتر ضخامت پرده پا (به عنوان ساعت صفر) اندازه‌گیری شد و سپس 0/2 میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین (Phosphate Buffer Saline: PBS) به پرده پای راست (بین انگشتان سوم و چهارم) و 0/2 میلی‌لیتر محلول فیتوهماگلوتینین (Phytohaemagglutinin: PHA) به پرده پای چپ در همان ناحیه تزریق شد. در 5 نوبت (صفر، 4، 12، 24 و 48 ساعت بعد از تزریق) ضخامت (تورم) پرده‌ی پای جوجه‌ها توسط میکرومتر دیجیتال لوترون با دقت 0/001 میلی‌متر اندازه‌گیری شد و نتیجه به صورت شاخص ضخامت پرده پا در ساعات مذکور ثبت و از رابطه زیر شاخص پاسخ ایمنی سلولی محاسبه شد (20).

$$W= (RLP – RL) – (LLB – LL)$$

در این رابطه، W= شاخص ضخامت پرده پا یا شاخص تحریک فیتوهماگلوتینین بر حسب میکرومتر، RLP = ضخامت پرده پای چپ بعد از تزریق فیتوهماگلوتینین، RL = ضخامت پرده پای چپ قبل از تزریق فیتوهماگلوتینین، LLB= ضخامت پرده پای راست بعد از تزریق بافر فسفات و LL= ضخامت پرده پای راست قبل از تزریق بافر فسفات می‌باشد.

برای بررسی پاسخ ایمنی هومورال از طریق تعیین عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز خون گوسفند (Sheep Red Blood Cell: SRBC) در روزهای 8 و 15 آزمایش اول و در روزهای 23 و 30 آزمایش دوم به عضله سینه دو پرنده از هر تکرار یک میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفندی 2/5 درصد تزریق گردید. سپس 6 روز بعد از هر تزریق از همان پرندگان از طریق ورید بال خونگیری شد و سرم نمونه های خون با سانتریفیوژ جدا گردید و اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی از روش رقیق سازی متوالی (سنجش هماگلوتیناسیون میکروتیتر) انجام گرفت (5).

داده‌های حاصل توسط نرم افزار SAS نسخه 9/1 سال 2001 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین تیمارها در سطح معنی داری 5 درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند. داده ها در آرایش فاکتوریل 5×2 در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از مدل زیر آنالیز شدند:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijkl}$$

در این رابطه، Y_{ijkl}= مشاهدات، μ =میانگین مشاهدات، T_i= تیمارهای آزمایشی، P_j= مدت زمان مصرف، TP_{ij}= اثر متقابل جیره‌های آزمایشی در مدت زمان مصرف و e_{ijkl}= اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است. داده‌های پاسخ ایمنی سلولی به دلیل اینکه در ساعات متوالی اندازه گیری صورت گرفته بود با رویه Repeated Measurement مورد آنالیز قرار گرفتند و مدل آماری به صورت زیر بود:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + \sigma_{ij} + W_k + (T\times W)_{ik} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = ارزش هر مشاهده، μ = میانگین، T_i= اثر تیمار i، W_k= اثر زمان (ساعت)، $(T\times W)_{ik}$ = اثر متقابل بین تیمار i و زمان k، σ_{ij}= واریانس بین ماده آزمایشی داخل تیمارها و برابر با کوواریانس بین اندازه‌گیری‌های مکرر داخل ماده‌های آزمایشی و e_{ijk} = خطای تصادفی یا واریانس بین اندازه گیری‌ها داخل ماده‌های آزمایشی

جدول 1– مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره (گرم بر کیلوگرم)

Table1- Food ingredients and chemical composition of the diet (gr/Kg)

اجزای جیره (nutrients)	جیره[1] Ration[1]		
	آغازین (روزگی 12-0) Starter (0-12d)	رشد (روزگی 25-13) Grower (13-25d)	پایانی (روزگی 42-26) Finisher (26-42d)
ذرت Corn	587.1	612	456.9
کنجاله سویا Soybean meal	318.1	283.1	277.9
گندم Wheat	0	0	200
روغن Oil	10	10	23.3
سبوس گندم Wheat Bran	20	20	20
گلوتن ذرت Corn Gluten	40	36.7	0
پوسته صدف Oyster Shell	13.1	11.3	11.6
دی‌کلسیم فسفات DCP	22.6	17.3	16.2
نمک Salt	3.5	2.6	2.1
مکمل معدنی[2] Mineral Premix	2.5	2.5	2.5
مکمل ویتامینی Vitamin Premix	2.5	2.5	2.5
جوش شیرین Sodium Bicarbonate	0.5	0.5	0.5
متیونین Methionine	2.2	2.2	1.9
لیزین هیروکلرید Lysine Hydro-choloride	2.9	2.7	1.2
ترئونین Threonine	0.5	0	0
ال-کارنیتین L-Carnitine	0	0	0
فلاوومایسین Flavomycine	0	0	0
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) ME (Kcal/Kg)	2860	2920	2950
پروتئین خام (درصد) Crude Protein (%)	22.1	20.7	18.8
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.1	0.91	0.90

ادامه جدول 1

Continuation of Table 1

فسفر (درصد) Phosphorous (%)	0.55	0.45	0.45
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.2	0.16	0.15
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.58	0.55	0.47
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.27	1.16	1.02
متیونین+سیستئین (درصد) Methionine +Cysteine (%)	0.93	0.88	0.77

[1] پودر سیر و ال-کارنیتین به ترکیب جیره پایه اضافه شدند.

[1] Basal diet composition which Garlic powder and L-Carnitine were added to it.

[2] Each kg of vitamin and trace mineral premix provided: vitamin A 13 500 i.u., vitamin D3 2 000 i.u., vitamin E 30 mg, vitamin K3 2 mg, vitamin B1 1 mg, vitamin B2 6 mg, niacin 30 mg, pantothenic acid 12 mg, vitamin B6 3 mg, vitamin B12 10 µg, biotin 0.1 mg, choline chloride 500 mg, Fe 50 mg, Cu 8 mg, Mn 80 mg, Zn 60 mg, I 0.5 mg, Co 0.2 mg, Se 0.15 mg, monensin sodium 100 mg and flavophospholipol 3 mg

نتایج و بحث

تأثیر جیره‌های مختلف آزمایشی و دوره‌های مختلف مصرف مکمل‌ها بر پاسخ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند شامل ایمنوگلوبولین کل، IgG و IgM در جدول 2 نشان داده شده است. اثر جیره‌های آزمایشی و دوره های مختلف آزمایشی بر پاسخ آنتی‌بادی ثانویه علیه گلبول قرمز گوسفند در 21 و 37) روزگی معنی‌داری نبود (P>0/05) و در رابطه با تاثیر جیره‌های آزمایشی بر پاسخ ایمنی سلولی اولیه در 21 روزگی به دلیل عدم تعیین میزان انتی‌بادی داده‌ها گزارش نشده است. همچنین نتایج جدول 3 نشان داد که جیره‌های آزمایشی بر پاسخ ایمنی سلولی علیه فیتوهماگلوتینین در دوره‌های مختلف اثر معنی‌داری نداشتند (P>0/05). میزان پاسخ ایمنی سلولی (دوره اول) در 12، 24 و 48 ساعت پس از تزریق، در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین و دوره دوم در 24 و 48 ساعت پس از تزریق در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین کمتر از تیمار شاهد بود. جیره‌های آزمایشی و دوره‌های مختلف مصرف بر پاسخ آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند تاثیر نداشتند اما بیشترین میزان IgM نسبت به گروه شاهد در دوره اول متعلق به جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین و در دوره دوم مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی 0/025 ال-کارنیتین + 1/5 درصد پودر سیر بود. فیتوهماگلوتینین (PHA-P) میتوژن سلول‌های لنفاوی T است و تزریق موضعی آن سبب بروز پاسخ‌های التهابی و تکثیر لنفوسیت‌ها می‌گردد (24). پاسخ التهابی در 4 تا 48 ساعت پس از تزریق قابل اندازه‌گیری است. طیور گوشتی و تخمگذار پاسخ متفاوتی به تزریق PHA-P نشان می‌دهند. طیور گوشتی حساسیت بیشتری نسبت به طیور تخمگذار دارند (7). پاسخ التهابی، 4 ساعت پس از تزریق منجر به پاسخ حساسیت تأخیری نوع 3 می‌گردد و این حساسیت تأخیری زیر جلدی، غیر فعال است درحالی‌که پاسخ التهابی پس از 24 ساعت نشان‌دهنده پاسخ حساسیت تأخیری نوع 4 است (15). سلول‌های کمکی ایمنی در بدن نقش بسیار مهمی در بروز پاسخ‌های ایمنی دارند به‌طوری که سلول‌های کمکی نوع 1 با تولید اینترفرون گاما، اینترلوکین-2 و فاکتور نکروز تومور آلفا در بروز پاسخ ایمنی سلولی نقش دارند و سلول‌های کمکی نوع 2 با تولید اینترلوکین-4، 5 و 10 در بروز پاسخ ایمنی هومورال نقش دارند (23). ال-کارنیتین باعث کاهش تولید برخی سیتوکین‌ها و میانجی‌های ایمنی از قبیل تومور نکروز آلفا، اینترلوکین-1 و اینترلوکین-6 می‌گردد (9). همچنین، ال-کارنیتین از طریق افزایش تولید اینترلوکین-2 و اینترفرون گاما و کاهش تولید نیتریک اکساید قادر به افزایش تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای طحال است (21). نتایج حاصله از مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که آلین (Alliin) سیر بر پاسخ های ایمنی تاثیرگذار است. آلین سبب افزایش اینترلوکین-B و سلول‌های فاگوسیتوز کننده می گردد اما بر تولید اینترلوکین-2 تاثیری ندارد (18).

مطابق با نتایج ما، فادلالا و همکاران (2010) اثر سطوح مختلف پودر سیر (0، 0/15، 0/3، 0/45 و 0/6 درصد جیره) در کل دوره‌ی پرورش (42-1 روزگی) را بر سیستم ایمنی جوجه های گوشتی بررسی کردند و نشان دادند که پودر سیر بر ایمونوگلبولین‌های سرم اثر نداشت (11) در حالیکه ماست و همکاران (2000) نشان دادند که مکمل ال-کارنیتین (100 میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) در دوره‌ی آغازین (14-1 روزگی) سبب افزایش غلظت ایمونوگلوبولین G در پاسخ به آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin: BSA) می‌گردد (14).

جدول 2- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر پاسخ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (ثانویه)[1]

Table 2- Effect of experimental diets on humoral immune response against sheep red blood cell injection (Secondary)[1]

پارامتر Parameters	تیمارهای آزمایشی[2] Experimental Treatments[2]										SEM	P-value		
	کوتاه مدت Short time					بلند مدت Long time						دوره Period	جیره Diet	دوره × جیره Period × Diet
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5				
ایمنوگلوبولین کل Total Ig[3]	3.0	3.5	3.75	3.5	2.75	0.75	1.25	1.75	1.5	2.0	0.53	0.01	0.73	0.81
ایمنوگلوبولین جی IgG	2.25	2.5	2.75	2.25	1.75	0.25	0.5	1.25	1.0	0.7	0.55	0.01	0.77	0.88
ایمنوگلوبولین M-IgM	0.75	1.0	1.0	1.25	1.0	0.5	0.75	0.5	0.5	1.2	0.51	0.06	0.41	0.68

[1]میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$).

[2] 1)جیره شاهد، 2) جیره شاهد + 1/5 درصد پودر سیر، 3) جیره شاهد + 0/02 درصد فلاومایسین، 4) جیره شاهد + 0/025 درصد ال-کارنیتین و 5) جیره شاهد + 0/025 ال-کارنیتین + 1/5 درصد پودر سیر.

[1]Means within a row that do not have a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

[2] Control diet (CD), 2- CD plus 1.5% garlic powder, 3- CD plus 0.02% flavomycine, 4- CD plus 0.025% L-Carnitine and 5- CD plus 0.025% L-Carnitine and 1.5% garlic powder.

[3]The data represent mean ± standard errors of log2 of the reciprocal of the last dilution exhibiting agglutination.

همچنین دنگ و همکاران (2005) اثر مکمل سازی بلند مدت (از 0 تا 4 هفتگی) ال-کارنیتین را بر پاسخ ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های سویه لگهورن بررسی کردند و گزارش کردند که ال-کارنیتین تا 8 هفتگی باعث بهبود ایمنی هومورال می‌شود و پس از آن تاثیری بر ایمنی ندارد (10). تاثیر مدت زمان مصرف مکمل ال-کارنیتین و پودر سیر بر تعداد سلول‌های خونی در جدول 4 ارائه شده است. نتایج نشان داد که بین جیره‌های آزمایشی و مدت مصرف مکمل‌ها از لحاظ تعداد سلول‌های خونی در 42 روزگی تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P<0/05$). بالاترین میزان گلبول سفید و لنفوسیت در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین و حاوی 0/025 درصد ال–کارنیتین و 1/5 درصد پودر سیر در دوره‌ی اول و بیشترین میزان هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های دریافت کننده جیره‌های حاوی 0/02 درصد فلاوومایسین و حاوی 0/025 درصد ال-کارنیتین در دوره‌ی دوم نسبت به شاهد مشاهده گردید.

عوامل تنش‌زا با تحریک ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین و هورمون‌های غدد فوق کلیوی موجب افزایش نسبی تعداد هتروفیل به لنفوسیت در طیور می‌شوند. بر این اساس، شمارش هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون پرندگان به عنوان شاخصی برای تخمین میزان استرس در آنها ذکر شده است (1). بسیاری از مطالعات نشان داده است که دستکاری چربی جیره ممکن است تعدادی از پارامترهای سیستم ایمنی مثل تکثیر لنفوسیت‌ها، سنتز سیتوکین‌ها، فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی و فاگوسیتوز را تحت تاثیر قرار دهد (9).

بعلاوه، ال-کارنیتین باعث افزایش تولید فاکتور رشد مشابه انسولینی-1 می‌شود و این فاکتور از مرگ برنامه ریزی شده لنفوسیت‌ها جلوگیری می‌کند (16). با توجه به نقش ال-کارنیتین در ایمنی سلولی، این ماده در غلظت‌های بالایی در لنفوسیت‌ها دیده می‌شود و از مرگ برنامه ریزی شده سلول‌های ایمنی جلوگیری می‌کند (16). همچنین ال-کارنیتین تولید نیتریک اکساید را از طریق مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز کاهش می‌دهد و نیتریک اکساید از عوامل کاهنده تکثیر لنفوسیت‌ها می‌باشد (21).

گزارش شده است که عصاره سیر سبب افزایش اینترلوکین-10 و اینترلوکین-12 در مونوسیت‌ها می‌شود (16). سیر دارای ترکیبی به نام آلیسین است که در سلول‌های لنفاوی به آجئون (Ajeon) تبدیل می‌شود و تأثیر خود را بر ایمنی از این طریق اعمال می‌کند (18) و مکانیسم احتمالی در تاثیرگذاری سیر بر سیستم ایمنی به اثر مهاری آجئون در تولید فاکتور هسته‌ای کاپا-B (κB) برمی‌گردد که در تولید سیتوکین‌هائی از قبیل اینترلوکین 6 و اینترفرون گاما نقش تنظیم کنندگی دارد و مصرف سیر نقش تنظیمی بر تولید سیتوکین‌های حاصل از سلول‌های کمکی نوع 1 و 2 داشته باشد و مسیر تولید این سیتوکین‌ها را به سمت میانجی‌های ایمنی هومورال ببرد (23). آوو و

همکاران (2011) اثر سطوح مختلف پودر سیر تخمیر شده (0، 1، 2 و 4 گرم بر کیلوگرم جیره) در 35-1 روزگی را بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بررسی کردند و گزارش کردند که پودر سیر تعداد گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (2).

استفاده توأم از مکمل ال-کارنیتین و پودر سیر در آزمایش حاضر باعث کاهش درصد هتروفیل، افزایش درصد لنفوسیت و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شده است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتجه‌گیری کرد که مکمل ال-کارنتین و سیر تاثیری بر سیستم ایمنی هومورال، ایمنی سلولی ندارد اما سبب افزایش میزان سلول‌های خونی جوجه‌ها گوشتی در پایان دوره پرورش می‌گردد.

جدول 3- تاثیر جیره های آزمایشی بر میانگین شاخص تورم پوست پرده پای جوجه‌های گوشتی در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین[1]

Table 3- Effect of dietary treatments on mean Index of toe web thickness response to PHA-P injection[1]

پارامتر Parameters	تیمارهای آزمایشی[2] Experimental Treatments[2]										SEM	P-value		
	کوتاه مدت					بلند مدت						دوره Period	جیره Diet	دوره × جیره Period × Diet
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5				
ضخامت (میکرومتر) Tickness (µ)	0.34	0.4	0.27	0.3	0.45	0.5	0.45	0.57	0.44	0.46	0.06	0.94	0.82	0.49

[1] میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

[2] 1)جیره شاهد، 2) جیره شاهد + 1/5 درصد پودر سیر، 3) جیره شاهد + 0/02 درصد فلاومایسین، 4) جیره شاهد + 0/025 درصد ال-کارنیتین و 5) جیره شاهد + 0/025 ال-کارنیتین + 1/5 درصد پودر سیر.

[1] Means within a row that do not have a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

[2] Control diet (CD), 2- CD plus 1.5% garlic powder, 3- CD plus 0.02% flavomycine, 4- CD plus 0.025% L-Carnitine and 5- CD plus 0.025% L-Carnitine and 1.5% garlic powder.

منابع

1- Sturkie, P. D. Avian physiology. 2012. Springer Science and Business Media, (In Parsian)

2- Ao, X., J. S. Yoo., T. X. Zhou., J. P. Wang., Q. W. Meng., L. Yan., J. H. Cho., and I. H. Kim. 2010. Effects of fermented garlic powder supplementation on growth performance, blood profiles and breast meat quality in broilers. Livestock Science, 141: 85–89.

3- Borum, P. R. 1983. L-carnitine. Annual Review of Nutrition, 3(1): 233-259.

4- Bremer, J. 1983. Carnitine-metabolism, functions. Physiological Reviews. 63(4): 1420-1480.

5- Cheema, M., M. Qureshi., and G. Havenstein. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82:1519-1529.

6- Chen, Y., I. Kim., J. Cho., J. Yoo., Q. Wang., Y. Wang., and Y. Huang. 2008. Evaluation of dietary L-carnitine or garlic powder on growth performance, dry matter and nitrogen digestibilities, blood profiles and meat quality in finishing pigs. Animal Feed Science and Technology, 141: 141-152.

7- Corrier, D., and J. DeLoach. 1990. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. Poultry Science, 69: 403.

8- De Pablo, M. A., and G. Á. De Cienfuegos. 2000. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. Immunology and Cell Biology, 78: 31-39.

9- 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.

10- Deng, K., C. W. Wong., and J. V. Nolan. 2006. Long-term effects of early-life dietary L-carnitine on lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 90: 81–86.

11- Fadlalla, I. M. T., B. H. Mohammed., and A. O. Bakhiet. 2010. Effect of Feeding Garlic on the Performance and Immunity of Broilers. Asian Journal of Poultry Science, 4: 182-189.

12- Geng, A., B. LI., and Y. Guo. 2007. Effects of dietary L-carnitine and coenzyme Q10 at different supplemental ages on growth performance and some immune response in ascites-susceptible broiler. Archeivs of Animal Nutrition Journal, 61(1): 50-60.

13- Grass, W. B., and H. S. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophile/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Disease, 27: 927-979.

14- Mast, J., J. Buyse., and B. M. Goddeeris. 2000. Dietary L-carnitine supplementation increases antigen specific immunoglobulin production in broiler chickens. British Journal of Nutrition, 83: 161-166.

15- Mosmann, T. R., and R. L. Coffman. 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to

different functional properties. Annual Review of Immunology, 7: 145-173.
16- Patya, M., M. A. Zahalka., A. Vanichkin., A. Rabmkov., and T. Mron. 2004. Allicin stimulates lymphocytes and wlisits an anti-tumor effect: A possible role of p21. International Immunology, 16: 275-281.
17- Ross 308 Broiler Nutrition Specification. 2009. Managementguide. Zarbal Co. IRIRAN.
18- Salman, H., M. Bergman., H. Bessler., I. Punsky., and M. Djaldetti. 1999. Effect of a garlic derivative (alliin) on peripheral blood cell immune responses. International Journal of Immunopharmacology, 21: 589-597.
19- Sco, T. C., J. E. Spallholz., H. K. Yun., and S. W. Kim. 2008. Selenium-Enriched Garlic and Cabbage as a Dietary Selenium Source for Broilers. Journal of Medicinal Food, 11(4): 687.
20- Sijben, J. W. C., M. G. B. Nieuwland., B. Kemp., H. K. Parmentier., and J. W. Schrama. 2001. Interactions and antigen dependence of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on antibody responsiveness in growing layer hens. Poultry Science, 80: 885-893.
21- Takahashi, K., A. Kitano., and Y. Akiba. 2010. Effect of L-carnitine on proliferative response and mRNA expression of some of its associated factors in splenic mononuclear cells of male broiler chickc. Animal Science, 81(2): 215–222.
22- Yoshida, S., S. H. Kasuga., N. O. Hayashi., T. S. Ushiroguchi., H. I. Matsuura., and S. H. Nakagawa. 1987. Antifungal Activity of Ajoene Derived from Garlic. Applied and Environmental Microbiology, 53(3).615-617.
23- Zamani, A. R., A. A. Vahidinia, and M. Sabouri Ghannad. 2009. The Effect of Garlic Consumption on Th1/Th2 Cytokines in Phytohemagglutinin (PHA) Activated Rat Spleen Lymphocytes. Phytotherapy Research, 23: 579–581.
24- Wang Y., C. Field., and J. Sim. 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. Poultry science, 79 (12): 1741-1748.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 8, No. 1, Spring 2016, p. 132-140

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 8، شماره 1، بهار 1395، ص. 140-132

Effects of Supplementation Time of L-Carnitine and Garlic Powder on Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens

A. Khatibjoo[1]*- A. A. Poormalekshahi[3]- F. Fattahnia[2]- H. Jaefai[4] - M. Aelaei[5]

Received: 01-02-2015
Accepted: 01-08-2015

Introduction Carnitine has several roles in lipid oxidation, immunomodulation function and enhancing antibody responses. L-carnitine has been found to exhibit immunomodulatory effects. It enhances serum primary antibody response to sheep red blood cells (SRBC) and subsequent humoral immunity using 100 mg L-carnitine/ kg diet compared with control group in Leghorn chickens (Deng et al., 2006). It was reported that only the immediate effects of dietary carnitine on immunocompetence is known while comparing long and short-term effects on early life on the immune system of broiler chickens is unknown. The organic allyl sulfur components in garlic (mainly allicin) were implicated to mediate its biological activity. The biological activities of these compounds may be related to their SH modification and antioxidant properties (Prasad et al., 1996). AGE treatment prevented the reduction of the antibody production response in thymectomized mice and improved the thymectomy-induced deterioration of learning behaviors in passive avoidance performance and in a spatial memory task (Zhang et al., 1998).

Materials and Methods Four hundred Arian one-day-old broiler chicks were used. This experiment was conducted in order to consider the effects of L-Carnitine and garlic powder on broiler chicken performance, blood metabolites and carcass characteristics in a 2×5 factorial arrangement in randomized complete design with 5 dietary treatments, 4 replicates and 12 birds in each and two periods: short (first 3 weeks) and long time (total production period). Dietary treatments were 1) Basal diet (BD: no supplementation), 2) ration having 0.02% flavomycin (positive control), 3) ration having 1.5% garlic powder, 4) ration having 0.025% L-Carnitine and 5) ration having 0.025% L-Carnitine plus 1.5% garlic powder. The birds were kept under conventional conditions for vaccination, temperature, ventilation, and lighting based on Ross catalogue recommendations. Standard management practices of commercial broiler production were applied. They were fed experimental diets from 15 to 42 d of age. The broiler diets were formulated based on standardized ileal digestible amino acids and other requirements were obtained from Ross catalogue recommendations. Humoral immunity of broilers against sheep red blood cells (SRBC) were detected by intramuscularly injection of SRBC (2.5% suspension in PBS, 1 ml/bird) to two birds from each replicate at 8 and 23 days of age in the first and second experiment respectively, followed by a booster injection at 6 days after the first injection. Blood samples were collected at 6 days after the first and second injection and total Ig, IgG and IgM were detected (Cheema et al., 2000). The toe web swelling reaction to PHA-P was measured in 2 broilers from each pen (marked with a black color) at days 12 and 26 of first and second experiment respectively. One-fifth milliliter of a PHA-P solution (1 mg/mL in PBS) was injected subcutaneously into 2 sites on the left toe web of the broilers. As a sham control, 0.2 mL of PBS was injected into 2 sites on the right toe web. The thickness of each injection site was measured using a pressure-sensitive micrometer before injection and at 4, 12, 24, and 48 h after injection (Wang et al., 2000). At the age of 42d, 5 broilers from each treatment with average body weight of each treatment were selected and blood samples were collected and white blood cell concentration like heterophile, lymphocyte percentage and heterophil to lymphocyte ratio were calculated.

Results and Discussion Results showed that supplementation time and dietary treatments did not have significant effects on humoral immunity against SRBC and cell mediated immunity response against PHA injection ($P > 0.05$). Supplementation time and addition of L-carnitine and garlic powder decreased heterophil and heterophil to lymphocyte ratio and increased lymphocyte percentage ($P < 0.05$). Garlic and garlic derived compounds were shown to alter the rate of metabolism of testosterone through regulation of the cytochrome p450 enzymes and garlic seems to inhibit the enzyme cytochrome p450 (Pinto and Rivlin, 2001), hence high level of steroids can cause thymus reduction. Garlic consumption may exert regulatory effects on Th1/Th2

1- Assistant Prof. of Animal Science Department of University of ILAM
2- Assosited Prof. of Animal Science Department of University of ILAM
3- MSc. Student of Poultry Nutrition
4- Graduate of MSc. of Animal nutrition, ILAM Agricultural Research Center
5- PhD Student of Poultry Nutrition of Animal Science Department of University of ILAM
(*-Corresponding author email: a.khatibjoo@gmail.com)

cytokine production and promote a Th2 type or humoral immune response in rat spleen lymphocytes.
Conclusion It was concluded that application of the dietary supplements (0.025% L-Carnitine plus 1.5% garlic powder) at the levels like this experiment did not improved humoral and sell mediated immunity whereas they increased immunity of broiler chickens and defensing mechanism.

Key words: Broiler Chicken, Cell mediated Immunity, Garlic Powder, Humoral Immunity, L-Carnitine.