

## اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط دمایی فصل تابستان

### چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف ترئونین و تعادل الکترولیتی جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های بیوشیمی خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی، از تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه (سویه راس ۳۰۸) در شرایط دمایی فصل تابستان استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل  $3 \times 2$  در ۵ تکرار (۲۰ جوجه در هر تکرار) انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۲ سطح ترئونین (سطح ۱۰۰ و ۱۱۰ درصد توصیه راهنمای سویه راس) و ۳ تعادل الکترولیتی جیره (۱۷۵، ۲۵۰ و ۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بودند. نتایج آزمایش نشان داد که اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن برونشیت عفونی مشاهده شد. تعادل الکترولیتی پایین (۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) در مقایسه با تعادل الکترولیتی بالا، موجب بهبود معنی‌دار میانگین افزایش وزن روزانه و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاهش ضریب تبدیل غذایی و تلفات گردید. همچنین کاهش معنی‌دار غلظت تری‌گلیسرید خون و افزایش غلظت اسید اوریک، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و غلظت هورمون تیروکسین در گروه‌های با سطح ترئونین بالا در مقایسه با تیمار حاوی سطح نرمال ترئونین مشاهده شد. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که کاهش تعادل الکترولیتی پایین جیره به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره اثرات مفید بر بهبود عملکرد رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین افزایش ترئونین جیره از ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده تجاری اثرات مثبتی بر وضعیت ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش حرارتی دارد. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که در شرایط مشابه، افزایش سطح ترئونین به میزان ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده تجاری در جیره با تعادل الکترولیتی بالا سبب بهبود سیستم ایمنی می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** ترئونین، تعادل الکترولیتی جیره، جوجه‌های گوشتی، عملکرد رشد، دمای تابستان

### مقدمه

جوجه‌های گوشتی در درجه حرارت‌های بالاتر از منطقه آسایش حرارتی (۱۸ تا ۲۴ درجه سانتیگراد) دچار تنش گرمایی می‌شوند. گزارش‌های مختلفی وجود دارد که نشان می‌دهد تنش گرمایی باعث ایجاد یکسری تغییرات فیزیولوژیکی در طیور می‌شود که مهمترین آن شامل کاهش مصرف خوراک به منظور کم کردن تولید حرارت متابولیکی، کاهش فعالیت غده تیروئید، کاهش راندمان خوراک و افزایش درصد تلفات می‌باشد (۷، ۱۳، ۱۴). تغییر در pH و مقدار الکترولیت‌های خون از مهمترین این تغییرات می‌باشد (۹). در پرندگان با افزایش دمای محیط به منظور افزایش دفع حرارت از طریق تبخیر، سرعت تنفس افزایش می‌یابد و با له زدن  $CO_2$  بیشتری دفع می‌گردد و در نتیجه تعادل اسید و باز در بدن تغییر خواهد یافت (۷). این عوامل باعث می‌شود pH خون به  $7/7$  برسد و پرنده دچار آلکالوز قلیایی شود (۹). اگرچه راه‌های مختلفی همچون تغییر روش‌های خوراک‌دهی و استفاده از مواد افزودنی در جیره و آب آشامیدنی جهت کاهش اثر تنش گرمایی وجود دارد، با این حال اکثر این روش‌ها با کاهش عملکرد همراه هستند. تغییر در الکترولیت‌های جیره در هنگام تنش حرارتی به عنوان یکی از راه‌های مؤثر جهت جلوگیری از اثرات مضر تنش حرارتی در طیور پیشنهاد شده است (۲۸). در طیور معمولاً تعادل الکترولیتی توسط فرمول ساده  $Na^+ + K^+ - Cl^-$  و به صورت میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره بیان می‌شود. در اغلب موارد مقدار ۲۵۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم برای اعمال فیزیولوژیکی طبیعی مطلوب است

(۱۴، ۲۱). تعادل الکترولیت نقش مهمی در سنتز پروتئین بافت، حفظ هموستاز داخل و خارج سلولی، حفظ پتانسیل الکتریکی غشای سلولی، ایجاد فشار اسمزی (۱۰)، و به حداقل رساندن تأثیرات مضر تنش گرمایی بر عهده دارد (۳). از طرف دیگر، تغییرات در تعادل الکترولیتی جیره ممکن است تأثیر مستقیم بر مسیر متابولیسم و سرنوشت بسیاری از اسیدهای آمینه مانند سرین، گلايسين و اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی داشته باشد (۲، ۱۱). به طور مشابه گزارش شد که متابولیسم کلیوی و کبدی لایزین و لوسین می‌تواند تحت تأثیر تعادل اسید و باز جیره غذایی قرار گیرد (۲۵). در مقابل، هموستازی اسید و باز در کلیه و همچنین در کبد، ماهیچه و بافت احشایی تا حدودی به وسیله تغییر متابولیسم اسیدهای آمینه ایجاد می‌شود (۱، ۱۴). این مطالعات نشان می‌دهد که متابولیسم اسید آمینه هم روی تعادل اسید و باز بدن تأثیر گذار است و هم تحت تأثیر آن قرار می‌گیرد.

ترئونین سومین اسید آمینه محدودکننده در جیره طیور (بر پایه ذرت و کنجاله سویا) است که اعمال مهمی در بدن از جمله رشد پرها، پاسخ سیستم ایمنی و رشد دستگاه گوارشی را بر عهده دارد. عواملی نظیر درصد پروتئین خام جیره، نژاد، سن، جنس پرند و مواد اصلی تشکیل دهنده جیره می‌توانند بر احتیاجات ترئونین تأثیر بگذارند دارد (۲۶). ترئونین در عملکردهای مختلفی از جمله سنتز اسید اوریک (به عنوان پیش ساز گلايسين و سرین)، سنتز آنزیم‌های پانکراس، سوخت و ساز پروتئین بدن، ساخت کلاژن و الاستین و همچنین تولید آنتی بادی دخالت دارد (۱۲). همچنین گزارش شده است که ترئونین یک نقش محوری برای مصرف بهینه اسیدهای آمینه حاوی گوگرد و لایزین در بدن دارد (۱۹). برخی از محققان نشان داده‌اند که ترئونین در جیره غذایی بیش از حد نیاز موجب افزایش عملکرد جوجه‌های گوشتی، بهبود پاسخ ایمنی از طریق افزایش وزن نسبی اندام‌های ایمنی و افزایش ترشح ایمونوگلوبولین A (IgA) و ایمونوگلوبولین G (IgG) می‌گردد (۱۲، ۲۶، ۲۷). با وجود اینکه متابولیسم پروتئین (نیترژن) و انرژی (کربن) و وضعیت اسید-باز در بدن فرآیندهایی هستند که با هم در ارتباط بوده و می‌توانند عملکرد جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۴)، ارتباط میان تعادل الکترولیتی جیره و میزان افزایش غلظت ترئونین جیره غذایی در جوجه‌های گوشتی به خصوص در شرایط تنش گرمایی به خوبی روشن نشده است. بنابراین هدف آزمایش حاضر بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف تعادل الکترولیتی جیره و اسید آمینه ترئونین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت هورمون‌های تیروئیدی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط دمای بالای محیطی بود.

## مواد و روشها

در این تحقیق از ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس و از طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل  $2 \times 3$  استفاده شد. جوجه‌ها تا سن ۱۰ روزگی با جیره یکسان تغذیه شدند. از سن ۱۱ روزگی، جوجه‌ها به ۶ گروه آزمایشی (هر تیمار حاوی ۵ تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار) تقسیم شدند. ۶ تیمار آزمایشی شامل ۲ سطح ترئونین (سطح ۱۰۰ و ۱۱۰ درصد توصیه راهنمای سویه راس) و ۳ تعادل الکترولیتی جیره (۳۲۵، ۲۵۰ و ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بود. در همه تیمارهای آزمایشی میزان انرژی متابولیسمی و سطح پروتئین و اسید آمینه لایزین و اسیدهای آمینه گوگردار (متیونین + سیستئین) مطابق با سطح توصیه شده کاتالوگ پرورشی راس (Ross 308 Broiler Nutrition Specs 2014 EN-Aviagen) تنظیم شد. از مکمل‌های کاتیونی و آنیونی کلرید سدیم، بیکربنات سدیم، بیکربنات پتاسیم و کلرید آمونیوم برای تنظیم تعادل الکترولیتی جیره استفاده شد (۸، ۹). با استفاده از کلرید سدیم و بیکربنات سدیم غلظت سدیم در تمام تیمارهای آزمایشی یکسان در نظر گرفته شد و تغییر تعادل الکترولیتی جیره فقط بر اساس تغییر در غلظت پتاسیم و کلر جیره (تغییر بین غلظت بیکربنات پتاسیم و کلرید آمونیوم) حاصل گردید. اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

Table 1- Feed ingredient and nutrient composition of experimental diets

تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)	۱۱ تا ۲۴ روزگی 11 to 24 days						۲۵ تا ۴۲ روزگی 25 to 42 days					
	175		250		325		175		250		325	
سطح ترئونین Threonine level (%)	100	110	100	110	100	110	100	110	100	110	100	110
اجزای تشکیل دهنده (درصد) Diet ingredient (%)												
ذرت Corn	57.60	57.60	57.60	57.60	57.60	57.60	62.92	62.92	62.92	62.92	62.92	62.92
کنجاله سویا Soybean meal	28.56	28.56	28.56	28.56	28.56	28.56	22.95	22.95	22.95	22.95	22.95	22.95
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	5.16	5.16	5.16	5.16	5.16	5.16	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21
روغن سویا Soybean oil	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.80	3.80	3.80	3.80	3.80	3.80
مونوکلسیم فسفات Monocalcium phosphate	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34
نمک Saline	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
بیکربنات پتاسیم Potassium bicarbonate	0.00	0.00	0.10	0.10	0.88	0.88	0.00	0.00	0.19	0.19	0.95	0.95
کلرید آمونیوم Ammonium Chloride	0.38	0.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00
دی-آل متیونین DL-Methionine	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
آل-لایزین هیدروکلراید L-Lysin.HCl	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
آل-ترئونین L-Threonine	0.16	0.25	0.16	0.25	0.16	0.25	0.14	0.23	0.14	0.23	0.14	0.23
مکمل معدنی <sup>۱</sup> Mineral premix <sup>1</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی <sup>۲</sup> Vitamin premix <sup>2</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
شن ساختمانی Building sand	0.77	0.68	1.05	0.96	0.27	0.18	0.79	0.70	0.88	0.79	0.12	0.03
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100	3100	3100	3200	3200	3200	3200	3200	3200
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.50	21.58	21.50	21.58	21.50	21.58	19.50	19.50	19.50	19.50	19.50	19.50
کلسیم (درصد) Ca (%)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
فسفر قابل دسترس (درصد) Available P (%)	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
پتاسیم (درصد) Potassium (%)	0.80	0.80	0.82	0.82	1.12	1.12	0.74	0.74	0.83	0.83	1.11	1.11
کلر (درصد) Chloride (%)	0.53	0.53	0.28	0.28	0.28	0.28	0.46	0.46	0.27	0.27	0.25	0.25
تعادل الکترولیتی جیره <sup>۳</sup> DEB <sup>3</sup>	175	175	250	250	325	325	175	175	250	250	325	325
لایزین قابل هضم (درصد) Digestible Lys (%)	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03
متیونین+سیستین قابل هضم Digestible Met+Cys (%)	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible Thr (%)	0.77	0.85	0.77	0.85	0.77	0.85	0.69	0.76	0.69	0.76	0.69	0.76

<sup>۱</sup> هر کیلوگرم جیره شامل: منگنز، ۱۲۰ میلی گرم؛ روی، ۱۰۰ میلی گرم؛ آهن، ۴۰ میلی گرم؛ مس، ۱۶ میلی گرم؛ ید، ۱ میلی گرم و سلنیوم، ۰/۸ میلی گرم می باشد.

<sup>۲</sup> هر کیلوگرم جیره شامل: ویتامین A، ۶۰۰۰ واحد بین المللی؛ D<sub>3</sub>، ۸۰۰ واحد بین المللی؛ ویتامین E، ۸۳ میلی گرم؛ K<sub>3</sub>، ۲/۲ میلی گرم؛ B<sub>1</sub>، ۱/۸۰ میلی گرم؛ B<sub>2</sub>، ۶/۶ میلی گرم؛

B<sub>3</sub>, ۳۰ میلی گرم؛ کلسیم - پنتوتات، ۱۰ میلی گرم؛ B<sub>6</sub>, ۳ میلی گرم؛ B<sub>9</sub>, ۱ میلی گرم؛ B<sub>12</sub>, ۶ میلی گرم و کولین کلراید، ۱۶۰ میلی گرم.

<sup>۳</sup>تبادل الکترولیتی جیره بر حسب میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره (DEB): (DEB) = (Na<sup>+</sup>, mEq/kg + K<sup>+</sup>, mEq/kg) - CL<sup>-</sup>, mEq/kg

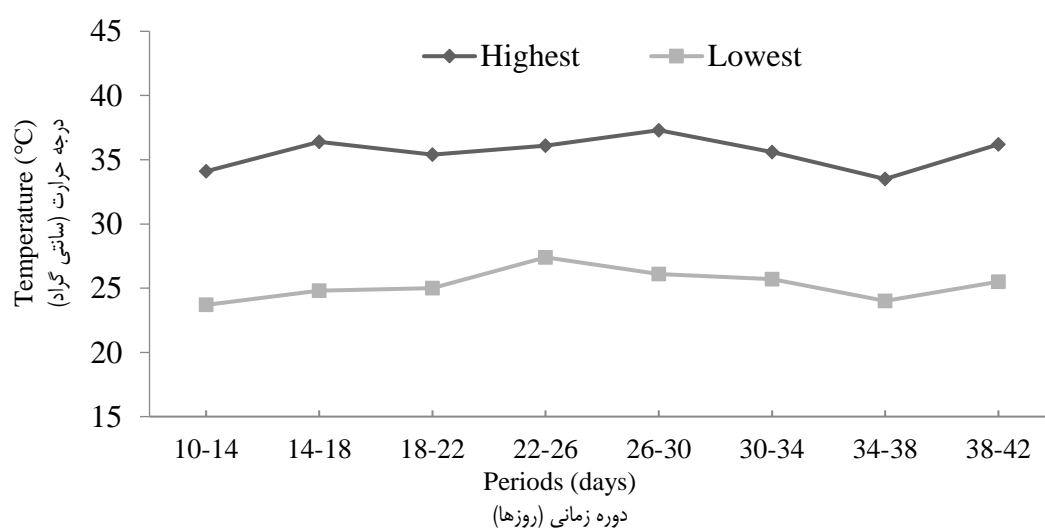
<sup>۱</sup>Supplied per kilogram of diet: manganese, 120 mg; zinc, 100 mg; iron, 40 mg; copper, 16 mg; iodine, 1 mg; selenium, 0.8 mg.

<sup>۲</sup>Supplied per kilogram of diet: vitamin A, 6,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 800 IU; vitamin E, 83 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 2.2 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 1.80 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 6.6 mg; vitamin B<sub>3</sub>, 30 mg; D-calcium pantothenic acid, 10 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3 mg; vitamin B<sub>9</sub>, 1 mg, vitamin B<sub>12</sub>, 6 mg and choline chloride.

<sup>۳</sup>DEB = (Na<sup>+</sup>, mEq/kg + K<sup>+</sup>, mEq/kg) - CL<sup>-</sup>, mEq/kg

شرایط محیطی داخل سالن کنترل نمی شد و بنابراین با شرایط طبیعی تابستانی در خارج از سالن تقریباً یکسان بود. دمای محیط و رطوبت نسبی سه بار در روز در ساعت ۷:۳۰، ۱۳:۳۰ و ۲۰:۳۰ ساعت در طول آزمایش اندازه گیری شد. حداقل و حداکثر درجه حرارت سالن در طی دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. در طول دوره پرورش رطوبت سالن در حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد بود. برنامه نوردهی سالن بدین صورت بود که ۷۲ ساعت اول، روشنایی کامل، سپس ۱ ساعت تاریکی از سن ۴ تا ۴۲ روزگی تا آخر دوره پرورش اعمال گردید. از ۱۱ روزگی تا پایان دوره به منظور تأمین آب از آبخوری اتوماتیک پلاسون و به منظور تأمین خوراک از یک دانخوری ناودانی در طرف راست پن‌ها استفاده شد. آب و خوراک به صورت آزاد در دسترس پرند بود. برای واکسیناسیون در روزهای سوم، دهم، یازدهم و بیستم آزمایش به ترتیب واکسنهای دوگانه نیوکاسل Clone + برونشیت H120 (آشامیدنی)، برونشیت ۹۱/۴ Intervet (آشامیدنی)، دوگانه نیوکاسل + آنفولانزا حاوی سروتیپ غیر فعال شده آنفلوانزای طیور (H9N2) و سروتیپ غیر فعال شده نیوکاسل (تزریقی) و واکسن نیوکاسل سویه لاسوتا ISOVAC (آشامیدنی) اعمال شد.

در روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ وزن جوجه‌های هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری شد. برای محاسبه افزایش وزن هر واحد در هر دوره زمانی، اختلاف وزن انتها و ابتدای دوره پرورش تعیین و میانگین افزایش وزن روزانه و میانگین مصرف خوراک روزانه در دوره‌های زمانی مختلف محاسبه گردید. ضریب تبدیل غذایی از تقسیم میانگین خوراک مصرفی بر میانگین افزایش وزن جوجه‌ها برای هر دوره محاسبه شد. در طول آزمایش، روزانه و قبل از تخصیص خوراک به هر واحد آزمایشی، تعداد تلفات در کارتکس‌های هر واحد آزمایشی ثبت و وزن تلفات آن روز یادداشت گردید. از میزان تلفات روزانه در تعیین روز مرغ هر واحد آزمایشی استفاده گردید.



شکل ۱- درجه حرارت محیطی سالن آزمایشی

Figure 1- Environmental temperature (°C) of the experimental house

در ۴۲ روزگی ۲ پرنده به ازای هر تکرار (۱۰ پرنده به ازای هر تیمار) به طور تصادفی انتخاب و سپس با قطع ورید و داج کشتار گردیدند. پس از باز کردن شکم، اندام‌های لنفوئیدی (طحال، بورس فابریسیوس و تیموس) جدا و وزن آنها اندازه‌گیری شد. از تقسیم وزن اندام حاصله به وزن بدن و ضرب آن در عدد ۱۰۰، وزن نسبی هر اندام محاسبه گردید. با توجه به اهداف آزمایش حاضر در روز ۴۲ آزمایش جهت خون‌گیری برای آزمایش‌های خون‌شناسی از هر تکرار دو قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از طریق سیاهرگ زیر بال انجام گرفت. خون به داخل لوله‌های عاری از ماده ضد انعقاد به منظور جداسازی سرم خون جهت اندازه‌گیری متابولیت‌های بیوشیمیایی سرم منتقل شد. تفکیک سرم خون از طریق سانتریفیوژ کردن نمونه‌های خونی با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر تحت دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی پارامترهای مربوطه نگهداری شدند. غلظت‌های گلوکز، پروتئین، آلبومین، اسید اوریک، تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) در سرم با استفاده از کیت‌های آنزیمی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Ce1010 انگلستان اندازه‌گیری شد. قابل ذکر است که اندازه‌گیری گلوکز بلافاصله بعد از جداسازی سرم انجام گرفت تا میزان آن دستخوش تغییرات نگردد. اندازه‌گیری گلوکتاتیون پراکسیداز به روش آنزیمی انجام شد (۲۹). در این روش سرعت اکسیداسیون گلوکتاتیون توسط  $H_2O_2$  که بوسیله گلوکتاتیون پراکسیداز موجود در همولیزیت کاتالیز می‌گردد، سنجیده شد. فعالیت سوپراکسید دسموتاز با کمک کیت تخصصی راندوکس و دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway 6105 UV/ VIS) اندازه‌گیری شد (۲۹). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز از گزانتین و گزانتین اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده شد. برای تعیین مقادیر هورمون‌های تیروئیدی از دستگاه گاما کانتر مدل 340 Curtis scientilogic IC- ساخت کشور آمریکا و کیت RADIM ساخت کشور ایتالیا استفاده شد.

برای بررسی پاسخ ایمنی همورال جوجه‌ها، تیترا آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل از روش هم‌اگلوتیناسیون (HI)<sup>۱</sup> تعیین شد. جهت تشخیص عیار پادتن علیه واکسن برونشیت عفونی از الیزا مدل EL808 (Bio-Tek instruments, ) استفاده شد. برای این منظور، در روزهای ۲۷ و ۳۵ روزگی (۷ و ۱۴ روز بعد از آخرین واکسیناسیون) از هر تکرار دو جوجه به صورت تصادفی انتخاب شد و از سیاهرگ زیر بال خونگیری انجام شد. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر تحت دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان ارزیابی فراسنجه‌های مربوطه نگهداری شدند. به منظور بررسی پاسخ ایمنی سلولی، تست حساسیت بازوفیلی پوستی<sup>۲</sup> (CBH) در سن ۳۵ روزگی انجام شد. جهت این کار، از هر تکرار دو پرنده به صورت تصادفی انتخاب و میزان ۰/۱ میلی لیتر از محلول فیتوهماگلوتینین (PHA - P، بهارافشان، تهران، ایران) در بافر نمکی فسفات (PBS) با غلظت ۱ میکروگرم در میکرولیتر به پای راست هر پرنده، بین انگشت سوم و چهارم تزریق شد. جهت تصحیح برای پاسخ به PBS تنها، به طور همزمان در هر پرنده میزان ۰/۱ میلی لیتر محلول PBS به پوست بین انگشت سوم و چهارم پای چپ تزریق شد. در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق، میزان تورم حاصل اندازه‌گیری شد. پاسخ CBH از تفاضل میزان ضخامت پوست پای راست از ضخامت پوست پای چپ بعد از تزریق، محاسبه شد.

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های عملکرد (افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل)، ترکیبات خون و ایمنی پس از ثبت و سازماندهی در برنامه اکسل وارد شدند. تجزیه داده‌ها بوسیله نرم افزار آماری SAS ( SAS Institute, version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) با استفاده از رویه GLM انجام گرفت. مقایسه

1 - Hemagglutination inhibition

2 - Cutaneous basophil hypersensitivity

میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSMIN در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج مرتبط با عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان داد که اثرات متقابل معنی‌داری بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر پارامترهای عملکرد رشد در دوره‌های مختلف پرورش مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در مقابل سطح پایین تعادل الکترولیتی جیره (۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) در مقایسه با سطح بالای تعادل الکترولیتی جیره (۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) موجب افزایش میانگین افزایش وزن روزانه در طی دوره‌های ۱۱ تا ۲۴ روزگی و ۱۱ تا ۴۲ روزگی و کاهش ضریب تبدیل غذایی و نرخ تلفات در طی دوره ۱۱ تا ۴۲ روزگی گردید ( $P < 0.05$ ). همچنین تمایل به افزایش وزن بدن در ۴۲ روزگی ( $P = 0.058$ ) و میانگین افزایش وزن روزانه در طی دوره‌های ۱۱ تا ۲۴ روزگی ( $P = 0.088$ ) و ۱۱ تا ۴۲ روزگی ( $P = 0.079$ ) در گروه حاوی سطح ۱۱۰ درصد ترئونین نسبت به سطح ۱۰۰ درصد ترئونین مشاهده شد.

نتایج عملکرد رشد نشان داد که اگرچه تفاوت معنی‌داری بین سطح تعادل الکترولیتی ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره و سطح ۲۵۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره مشاهده نشد، اما کاهش تعادل الکترولیتی جیره نسبت به افزایش سطح تعادل الکترولیتی اثرات مثبتی بر عملکرد رشد و کاهش تلفات داشت که این می‌تواند از اثرات مثبت اسیدی کردن جیره در شرایط تنش حرارتی باشد. در شرایط تنش حرارتی، جوجه‌ها دچار آلكالوز تنفسی می‌شوند و بنابراین افزایش مصرف بیکربنات سدیم و یا بیکربنات پتاسیم که منجر به افزایش تعادل الکترولیتی جیره می‌گردد، سبب تشدید آلكالوز تنفسی می‌گردد (۲۳). بنابراین در این آزمایش کمترین عملکرد فارغ از میزان ترئونین جیره مربوط به گروه حاوی تعادل الکترولیتی ۳۲۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره بود که با افزودن بیکربنات پتاسیم از سطح ۰/۸۸ درصد در جیره رشد و سطح ۰/۹۵ درصد در جیره پایانی حاصل شد. در مقابل، بررسی‌های بدست آمده نشان داد که کاهش سطح تعادل الکترولیتی جیره بواسطه افزایش غلظت کلرید جیره با اثر بر حذف بیکربنات خون قادر است pH خون را کاهش داده و حتی اسیدوز متابولیکی ایجاد کند (۹). در آزمایش حاضر نیز به نظر می‌رسد کاهش سطح تعادل الکترولیتی به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم جیره که با مصرف کلرید آمونیوم حاصل شد به نظر می‌رسد از طریق کاهش اثرات منفی آلكالوز تنفسی سبب بهبود رشد و راندمان غذایی گردد. مشابه نتایج این آزمایش بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی با کاهش سطح تعادل الکترولیتی جیره حاصل گردید (۳، ۴).

در مطالعه حاضر افزایش میزان ترئونین جیره از ۱۰۰ درصد به ۱۱۰ درصد توصیه سویه راس سبب بهبود جزئی افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در کل دوره آزمایش در شرایط تنش حرارتی گردید که می‌تواند مبین این نکته باشد که احتیاجات اسید آمینه گزارش شده توسط شرکت‌های تولید کننده جوجه‌های گوشتی یکروزه برای دامنه آسایش حرارتی می‌باشد. به طور مشابه نتایج سایر محققین نشان داد که عملکرد رشد همراه با افزایش ترئونین بهبود یافت (۲۰). از آنجائیکه ترئونین به میزان زیادی به طور مستقیم در موکوس دستگاه گوارش و آنزیم‌های گوارشی وجود دارد و این آنزیم‌های گوارشی برای جذب موثر مواد مغذی لازم هستند، افزودن ترئونین به جیره غذایی ممکن است اثرات مثبتی بر جذب مواد مغذی و در نتیجه عملکرد بعدی پرنده داشته باشند (۲۶). موسین‌ها از اجزای اصلی لایه مخاطی هستند و واضح است که اکثر ترئونین مصرف شده توسط روده برای ساخت موکوس و پروتئین ترشحی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸). به نظر می‌رسد با توجه به تاثیرات منفی تنش حرارتی بر ساختار مورفولوژیک دستگاه گوارش (۵)، افزودن ترئونین در جیره غذایی افزون بر سطح توصیه شده می‌تواند با بهبود سلامت دستگاه گوارش، موجب بهبود عملکرد رشد گردد.

جدول ۲- اثرات تعادل الکترولیتی و سطوح ترئونین جیره بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی

Table 2- Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on growth performance of broilers

پارامترها Parameters	تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)				سطح ترئونین (درصد توصیه شده) Dietary Thr (%)			P-value		
	175	250	325	SEM	100	110	SEM	DEB	Thr	DEB×Thr
وزن بدن (گرم) Body weight (g)										
۲۴ روزگی 24 d	974.5	955.8	934.7	14.2	944.9	965.1	11.59	0.162	0.228	0.977
۴۲ روزگی 42 d	2424	2377	2341	23.3	2360	2401	19.0	0.139	0.058	0.828
متوسط وزن بدن (گرم/پرنده/روز) ADG (g/bird/d)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	50.77 <sup>a</sup>	49.27 <sup>ab</sup>	47.63 <sup>b</sup>	0.83	48.37	50.07	0.68	0.043	0.088	0.989
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	80.54	78.98	78.13	0.89	78.63	79.79	0.72	0.171	0.268	0.772
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	67.52 <sup>a</sup>	65.98 <sup>ab</sup>	64.78 <sup>b</sup>	0.66	65.39	66.79	0.54	0.025	0.079	0.826
میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز) ADFI (g/bird/d)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	77.85	77.40	76.92	1.27	76.94	77.83	1.03	0.874	0.547	0.504
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	156.4	155.7	157.1	1.78	156.4	156.3	1.45	0.855	0.991	0.800
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	122.0	121.4	122.0	0.85	121.6	122.0	0.70	0.857	0.686	0.539
ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) FCR (g/g)										
۱۱ تا ۲۴ روزگی Days 11 to 24	1.54	1.57	1.62	0.036	1.59	1.56	0.029	0.282	0.424	0.753
۲۵ تا ۴۲ روزگی Days 25 to 42	1.94	1.97	2.01	0.019	1.99	1.96	0.016	0.062	0.200	0.412
۱۱ تا ۴۲ روزگی Days 11 to 42	1.81 <sup>b</sup>	1.84 <sup>ab</sup>	1.89 <sup>a</sup>	0.018	1.86	1.83	0.015	0.025	0.153	0.678
نرخ تلفات Mortality rate (%)	3.18 <sup>b</sup>	5.91 <sup>ab</sup>	8.64 <sup>a</sup>	1.05	5.46	6.37	0.86	0.005	0.461	0.998

میانگین های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

اثرات تیمارهای مختلف آزمایشی بر متابولیت های خون، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و غلظت هورمون های تیروئیدی در جوجه های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. اثرات تعادل الکترولیتی جیره و سطح ترئونین جیره بر مقادیر گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، پروتئین، آلبومین، گلوبولین، گلوکاتایون پراکسیداز و هورمون  $T_3$  معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). در مقابل، افزایش سطح ترئونین جیره غلظت تری گلیسرید خون را کاهش داد ولی موجب افزایش غلظت اسید اوریک و هورمون  $T_4$  و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سرم خون گردید ( $P < 0.05$ ). همچنین افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با افزایش سطح تعادل الکترولیتی جیره مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). هیچ اثر متقابل از سطح ترئونین و سطح تعادل الکترولیتی جیره بر این فراسنجه های ذکر شده مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳- اثرات تعادل الکترولیتی و سطوح ترئونین جیره بر فراسنجه‌های بیوشیمی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هورمون‌های تیروئیدی خون در جوجه‌های گوشتی

**Table 3-** Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on blood biochemical parameters, antioxidant enzymes and thyroid hormones in broiler chickens

	تعادل الکترولیتی جیره				سطح ترئونین			P-value		
	DEB (mEq/kg)				Dietary Thr (%)			DEB	Thr	DEB×Thr
	175	250	325	SEM	100	110	SEM			
بیوشیمی خون										
Blood biochemistry										
گلوکز Glucose (mg/dL)	268.6	265.3	258.7	6.83	265.2	263.3	5.58	0.588	0.812	0.643
تری‌گلیسرید TG (mg/dL)	88.05	88.63	90.96	4.10	96.51 <sup>a</sup>	81.91 <sup>b</sup>	3.35	0.899	0.005	0.359
کلسترول کل CHOL (mg/dL)	115.9	116.1	114.5	4.42	115.6	115.4	3.61	0.959	0.963	0.481
لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL-C (mg/dL)	58.7	59.1	53.4	2.79	58.35	55.78	2.28	0.287	0.433	0.366
لیپوپروتئین با دانسیته کم LDL-C (mg/dL)	39.61	39.31	42.91	2.89	37.99	43.23	2.36	0.625	0.130	0.984
پروتئین کل Total protein (g/dL)	4.52	4.77	4.31	0.229	4.43	4.64	0.187	0.382	0.427	0.980
آلبومین Albumin (g/dL)	2.82	2.86	2.59	0.166	2.79	2.72	0.135	0.470	0.739	0.466
گلوبولین Globulin (g/dL)	1.70	1.92	1.72	0.251	1.64	1.92	0.205	0.807	0.344	0.758
اسید اوریک Uric acid (mg/dL)	7.39	7.14	7.21	0.323	6.82 <sup>b</sup>	7.67 <sup>a</sup>	0.264	0.854	0.033	0.863
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی										
Antioxidant enzymes										
گلوکوتایون پراکسیداز GSH-Px (U/mL)	1407	1309	1315	54.9	1298	1389	44.8	0.382	0.164	0.905
سوپراکسیددیسموتاز SOD (u/mL)	206.0 <sup>a</sup>	199.9 <sup>ab</sup>	189.3 <sup>b</sup>	4.38	193.1 <sup>b</sup>	203.7 <sup>a</sup>	3.58	0.039	0.048	0.998
هورمون‌های تیروئیدی										
Thyroid hormones										
تری‌یودوتیرونین T3 (ng/mL)	2.28	2.25	2.11	0.080	2.10 <sup>b</sup>	2.31 <sup>a</sup>	0.065	0.296	0.040	0.905
تیروکسین T4 (ng/mL)	6.90	6.69	6.90	0.270	7.11	6.54	0.219	0.827	0.091	0.856

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

در آزمایش حاضر افزایش سطح ترئونین جیره از سطح ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد سطح توصیه شده کاتالوگ سویه راس سبب کاهش افزایش غلظت تری‌گلیسرید نسبت به تیمار شاهد گردید که احتمالاً مرتبط با افزایش سطح پروتئین جیره به واسطه افزایش سطح ترئونین باشد. گزارش شده است که نسبت بالاتر پروتئین به انرژی قابل سوخت و ساز در جیره منجر به کاهش فرایند لیپوژنز در بدن می‌شود (۱۴). همچنین گزارش شد که جوجه‌های تغذیه شده با جیره غذایی با نسبت بالای پروتئین به انرژی، استفاده از اسیدهای چرب آزاد را نسبت به کربوهیدرات‌های جیره غذایی به عنوان یک منبع انرژی بیشتر ترجیح می‌دهند، که این امر سبب کاهش غلظت تری‌گلیسرید خون می‌گردد (۳۰). در این تحقیق سطح بالاتر استفاده از ترئونین در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی سبب افزایش غلظت اسید اوریک خون نیز گردید که می‌تواند مرتبط با این موضوع باشد که میزان اسید اوریک خون در طیور ارتباط مستقیمی با سطح پروتئین جیره دارد. در گونه‌های متعددی از جمله جوجه‌های گوشتی، غلظت پلاسمای  $T_3$  در پاسخ به محدودیت مصرف خوراک یا محدودیت مواد مغذی کاهش می‌یابد (۱۶). نتایج نشان می‌دهد که افزایش سطح ترئونین جیره از ۱۰۰ به ۱۱۰ درصد



سطح توصیه شده راس در گروه‌های آزمایشی روی عمل هورمون تیروئید از طریق افزایش غلظت سرمی  $T_3$  اثر می‌گذارد. افزایش در غلظت  $T_3$  خون ممکن است ناشی از افزایش در نرخ تبدیل  $T_4$  به  $T_3$  باشد. در یک مطالعه بین میزان غلظت هورمون  $T_3$  خون با وزن بدن همبستگی بالایی مشاهده شد و گزارش شد که کاهش در میزان هورمون  $T_3$  سبب کاهش وزن بدن می‌شود (۲۲) که با نتایج مطالعه حاضر در گروه حاوی سطح کمتر ترئونین سازگار بود.

در این آزمایش در شرایط تنش گرمایی، افزودن ترئونین در سطح ۱۱۰ درصد توصیه راس به جیره‌های غذایی سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز گردید. در یک تحقیق روی جوجه‌های گوشتی افزایش سطوح ترئونین از ۸۵ به ۱۲۵ درصد توصیه NRC (۲۴)، باعث افزایش فعالیت گلوکوتائون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز سرم گردید (۲۰). همچنین در آزمایش حاضر کاهش تعادل الکترولیتی جیره موجب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز گردید. بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های با تعادل الکترولیتی ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره می‌تواند دلیل بهبود عملکرد رشد در این گروه‌ها باشد.

مقایسه میانگین وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی، عیار اولیه (۲۷ روزگی) و ثانویه (۳۵ روزگی) پادتن علیه واکسن بیماری نیوکاسل (روش HI) و واکسن برونشیت عفونی (روش الایزا) و همچنین میانگین شاخص تورم پوست پرده پا در پاسخ به تزریق PHA در جدول ۴ گزارش شده است. آنالیز فاکتوریل نشان داد که اثر متقابل بین سطح ترئونین و سطح تعادل الکترولیتی جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی وجود داشت. همچنین بررسی اثرات اصلی دو فاکتور نشان داد که افزایش سطح ترئونین جیره سبب افزایش وزن نسبی تیموس و طحال، عیار ثانویه پادتن علیه واکسن بیماری نیوکاسل و میانگین تورم پا در پاسخ به تزریق PHA بعد از ۲۴ ساعت گردید ( $P < 0.05$ ). وزن نسبی تیموس و عیار اولیه پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی نیز با افزایش سطح تعادل الکترولیتی جیره افزایش یافت ( $P < 0.05$ ).

در آزمایش حاضر اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره بر وزن نسبی تیموس و عیار پادتن بر علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی نشان داد که تاثیر مثبت افزایش سطح ترئونین بر پاسخ ایمنی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در معرض تنش حرارتی در جیره‌های با تعادل الکترولیتی بالا (۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) بارزتر بود. دلیل این تغییر در پاسخ سیستم ایمنی به افزایش سطح ترئونین با تغییرات اسید-باز واضح نیست. این موضوع شاید مرتبط با تحریک تولید آمونیوم در کلیه به دلیل افزایش غلظت اسیدهای آمینه باشد که سبب تحریک سنتز پروتئین‌ها و ممانعت از تجزیه پروتئین بافتی می‌شود (۱۵)، که این موضوع احتمالاً مرتبط با افزایش سنتز آنتی‌بادی‌ها با افزودن ترئونین در شرایط قلیایی بدن باشد.

به طور مشابه در یک آزمایش روی جوجه‌های گوشتی، سطوح مختلف تعادل الکترولیتی جیره بر میزان تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در ۸ روز بعد از واکسیناسیون تاثیر معنی‌داری داشت و بیشترین عیار پادتن در سطوح بالای تعادل الکترولیتی مشاهده شد (۶). موافق با نتایج ما، گزارش شد که تغییر در الکترولیت‌های بدن جوجه‌های گوشتی منجر به تغییرات pH خون می‌شود و این تغییرات می‌تواند بر عملکرد سیستم ایمنی حیوان نیز موثر باشد (۲۱). حتی بررسی‌ها نشان داد که تغییرات یون‌های مهم مانند سدیم، پتاسیم و کلر می‌تواند با تغییر pH مایعات بدن را تحت تاثیر قرار دهد و این تغییرات pH مایعات بدن به ویژه خون می‌تواند بر عملکرد آنتی‌بادی‌ها و لنفوسیت‌های B و T موثر باشد (۲۳، ۲۷). باتوجه به اینکه در بعضی مطالعات بهبود سیستم ایمنی سبب کاهش عملکرد پرندگان گردید، این موضوع می‌تواند کاهش عملکرد در گروه‌های حاوی سطح بالای تعادل الکترولیتی جیره را به واسطه بهبود سیستم ایمنی در این گروه‌ها توجیه کند. با تغییر مسیر متابولیسم پروتئین و سایر مواد مغذی در جهت تولید پادتن‌ها و سایر متابولیت‌های فعال سیستم ایمنی از ارائه این مواد مغذی برای رشد کاسته شده و در نتیجه عملکرد پرنده تا حدودی کاهش می‌یابد (۱۷).

جدول ۳- اثرات تعادل الکترولیتی جیره و سطوح ترئونین جیره بر وزن نسبی اندام‌های ایمنی، پاسخ آنتی‌بادی و ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوکتینین در جوجه‌های گوشتی

**Table 3-** Effects of dietary electrolyte balance and threonine (Thr) levels on immune organ weight, antibody response, and cell-mediated immune response to phytohemagglutinin-P in broiler chickens

تیمارهای آزمایشی										
Experimental treatments										
تعادل الکترولیتی جیره DEB (mEq/kg)	175		250		325		P-value			
سطح ترئونین Dietary Thr (%)	100	110	100	110	100	110	SEM	DEB	Thr	DEB×Thr
وزن اندام‌های ایمنی (درصد وزن بدن)										
Immune organ weight (% of BW)										
تیموس Thymus	0.257 <sup>c</sup>	0.249 <sup>c</sup>	0.289 <sup>bc</sup>	0.313 <sup>b</sup>	0.286 <sup>bc</sup>	0.383 <sup>a</sup>	0.018	<0.001	0.022	0.031
طحال Spleen	0.085	0.098	0.097	0.111	0.089	0.117	0.007	0.107	0.002	0.482
بورس فابریسیوس Bursa	0.156	0.157	0.184	0.170	0.181	0.163	0.013	0.280	0.320	0.735
عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل										
Anti-NDV titers (HI, Log <sub>2</sub> )										
عیار اولیه Primary titer	2.20	2.00	2.00	2.40	2.20	3.80	0.363	0.138	0.082	0.186
عیار ثانویه Secondary titer	3.60	4.20	4.20	4.40	3.40	6.00	0.586	0.719	0.032	0.099
عیار پادتن علیه بیماری برونشیت عفونی										
Anti-IB titers (ELISA, Log <sub>10</sub> )										
عیار اولیه Primary titer	3.76 <sup>bc</sup>	3.67 <sup>c</sup>	3.75 <sup>bc</sup>	3.83 <sup>ab</sup>	3.80 <sup>b</sup>	3.93 <sup>a</sup>	0.039	0.003	0.316	0.036
عیار ثانویه Secondary titer	3.80	3.78	3.81	3.87	3.82	3.94	0.052	0.256	0.247	0.419
ضخامت پوست پرده پا (میکرومتر)										
CBH test (μm)										
۲۴ ساعت بعد تزریق 24 h post injection	0.514	0.536	0.530	0.640	0.524	0.704	0.048	0.210	0.017	0.300
۴۸ ساعت بعد تزریق 48 h post injection	0.350	0.366	0.394	0.404	0.428	0.476	0.044	0.127	0.503	0.900

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

در مورد تاثیر ترئونین بر پاسخ ایمنی گزارش شد که با افزایش سطح ترئونین جیره غذایی جوجه‌های گوشتی از سطح ۱۰۰۰ درصد به ۱۱۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ درصد توصیه NRC (۲۴) وزن نسبی بورس و تیموس، میزان ایمونوگلوبولین کل سرم و تیتراژ آنتی‌بادی بر علیه واکسن بیماری نیوکاسل به طور خطی افزایش یافت (۱۲). در این راستا مشخص شد که درصد ترئونین در گاماگلوبولین سرم جوجه‌های گوشتی بالا می‌باشد (۲۶). گاماگلوبولین نمایانگر بخشی از سرم است که حاوی بالاترین مقدار ایمونوگلوبولین می‌باشد. با توجه به اینکه در ساختمان ایمونوگلوبولینها مقادیر بالایی از ترئونین بکار رفته است، لذا افزایش سطح این اسید آمینه می‌تواند پاسخ‌های ایمنی را در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی به طور مثبتی تحت تأثیر قرار دهد.

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که کاهش تعادل الکترولیتی پایین جیره به میزان ۱۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم نسبت به سطح بالای تعادل الکترولیتی (۳۲۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم جیره) اثرات مفید بر بهبود عملکرد رشد

و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش حرارتی دارد. همچنین نتایج نشان داد که افزودن ترئونین در سطح ۱۱۰ درصد توصیه شده تجاری اثرات مثبتی بر پاسخ ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی دارد. اثر متقابل بین تعادل الکترولیتی و سطح ترئونین جیره نیز نشان داد که بهترین پاسخ ایمنی در بین گروه‌های آزمایشی در گروه با تعادل الکترولیتی بالا و سطح بالای ترئونین اتفاق افتاد که در تضاد با نتایج عملکرد رشد بود.

## سیاسگزارى

هزینه و امکانات مورد استفاده در این پژوهش از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه اراک (طرح شماره ۹۶/۳۸۴۰) تأمین شده است که بدین وسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را ابراز می‌دارند.

### منابع

- 1- Abbas, A., M. Jamshed Khan, M. Naeem, M. Ayaz, A. Sufyan, and M. Hussain Somro. 2012. Cation anion balance in avian diet: a review. *Agriculture Science Research Journal*, 2:302–307.
- 2- Adekunmisi, A. A., and K. R. Robbins. 1987. Effect of dietary crude protein, electrolyte balance and photoperiod on growth of broiler chicks. *Poultry Science*, 66:299–305.
- 3- Ahmad, T., T. Khalid, M. Mushtaq, M. A. Mirza, A. Nadeem, M. E. Babar, and G. Ahmad. 2008. Effect of potassium chloride supplementation in drinking water on broiler performance under heat stress conditions. *British Poultry Science*, 87:1276-1280.
- 4- Ahmad, T., T. Mushtaq, Mahr-Un-M, M. Sarwar, D. M. Hooge, and M. A. Mirza. 2006. Effect of different non-chloride sodium sources on the performance of heat-stressed broiler chickens. *British Poultry Science*, 47:249-256.
- 5- Amiri, M., H. A. Ghasemi, I. Hajkhodadadi, and A. H. Khaltabadi Farahani. 2019. Efficacy of guanidinoacetic acid at different dietary crude protein levels on growth performance, stress indicators, antioxidant status, and intestinal morphology in broiler chickens subjected to cyclic heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, 254:114208.
- 6- Ashrafi, B., A. Hesabi, and R. Vakeli. (2012). Effect of dietary electrolyte balance on performance and immune responses of broiler chickens reared in the heat stress environments. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3(4):376-384. (In Persian).
- 7- Attia, Y. A., R. A. Hassan, A. E. Tag El-Din, and B. M. Abou-Shehema. 2011. Effect of ascorbic acid or increasing metabolizable energy level with or without supplementation of some essential amino acids on productive and physiological traits of slow-growing chicks exposed to chronic heat stress. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95:744–755.
- 8- Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, and D. M. Hooge. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens exposed to thermoneutral or heat-stress environments. *Poultry Science*, 82:428-435.
- 9- Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and K. R. Cummings. 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). *Poultry Science*, 83:1551-1558 .
- 10- Borges, S. A., A. V. Fischer Da Silva, and A. Majorjka. 2007. Acid-base balance in broilers. *World's Poultry Science Journal*, 63:73–80.
- 11- Brake, J., D. Balnave, and J. J. Dibner. 1998. Optimum dietary arginine:lysine ratio for broiler chickens is altered during heat stress in association with changes in intestinal uptake and dietary sodium chloride. *British Poultry Science*, 39:639–647.
- 12- Debnath, B. C., P. Biswas, and B. Roy. 2019. The effects of supplemental threonine on performance, carcass characteristics, immune response and gut health of broilers in subtropics during pre-starter and starter period. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103:29–40.
- 13- Ghasemi, H. A., R. Ghasemi, and M. Torki. 2014. Periodic usage of low-protein methionine-fortified diets in broiler chickens under high ambient temperature conditions: effects on performance, slaughter traits, leukocyte profiles and antibody response. *International Journal of*

Biometeorology, 58:1405–1414.

- 14- Ghasemi, R., M. Toriki, and H. A. Ghasemi. 2014. Effects of dietary crude protein and electrolyte balance on production parameters and blood biochemical of laying hens under tropical summer condition. *Tropical Animal Health Production*, 46:717–723.
- 15- Jurkovitz, C. T., B. K. England, R. G. Ebb, and W. E. Mitch. 1992. Influence of ammonia and pH on protein and amino acid metabolism in LLC-PK1 cells. *Kidney International*, 42:595-601.
- 16- Keagy, E. M., L. B. Carew, F. A. Alster, and R. S. Tyzbit. 1987. Thyroid function, energy balance, body composition and organ growth in protein-deficient chicks. *Journal of Nutrition*, 117:1532–1540.
- 17- Khodambashi Emami, N., A. Samie, H. R. Rahmani, and C. A. Ruiz-Feria. 2012. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 175:57–64.
- 18- Kidd, M. T., and B. J. Kerr. 1996. L-threonine for poultry: A review. *Journal of Applied Poultry Research*, 5:358-367.
- 19- Kidd, M. 2000. Nutritional considerations concerning threonine in broilers. *World's Poultry Science Journal*, 56:139–151.
- 20- Min, Y. N., S. G. Liu, G. H. Meng, and Y. P. Gaon. 2016. Effects of dietary threonine levels on growth performance, serum biochemical indexes, antioxidant capacities, and gut morphology in broiler chickens. *Poultry Science*, 96:1290-1297.
- 21- Mushtaq, M. M. H., T. N. Pasha, T. Mushtaq, and R. Parvin. 2013. Electrolytes, dietary electrolyte balance and salts in broilers: An updated review on growth performance, water intake and litter quality. *World's Poultry Science Journal*, 69:789-802.
- 22- Nari, N., and H. A. Ghasemi. 2020. Growth performance, nutrient digestibility, bone mineralization, and hormone profile in broilers fed with phosphorus-deficient diets supplemented with butyric acid and *Saccharomyces boulardii*. *Poultry Science*, 99:926-935.
- 23- Nikoofard, V., A. H. Mahdavi, A. Samie, and E. Jahanian. 2016. Effects of different sulphur amino acids and dietary electrolyte balance levels on performance, jejunal morphology, and immunocompetence of broiler chicks. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100:189-199.
- 24- National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- 25- Patience, J. F. 1990. A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. *Journal of Animal Science*, 68:398–408.
- 26- Qaisrani, S. N., I. Ahmed, F. Azam, F. Bibi, T.N. Pasha, and F. Azam. 2018. Threonine in broiler diets: an updated review. *Annals of Animal Science*, 18:659–674.
- 27- Zarrin-Kavyani, S., A. Khatibjoo, F. Fattahnia, and K. Taherpour. 2018. Effect of threonine and potassium carbonate supplementation on performance, immune response and bone parameters of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 46:1329-1335.
- 28- Veldkamp, T., C. Nixey, R. P. Kwakkel, and J. P. T. M. Noordhuizen. 2000. Interaction between ambient temperature and supplementation of synthetic amino acids on performance and carcass parameters in commercial male turkeys. *Poultry Science*, 79:1472–1477.
- 29- Woolliams, J. A., G. Wiener, P. A. Anderson, and C. H. McMurray. 1983. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Research in Veterinary Science*, 34:253-256.
- 30- Yeh, Y. Y., and G. A. Leveille. 1969. Effect of dietary protein on hepatic lipogenesis in the growing chick. *Journal of Nutrition*, 98:356–366.

## **Effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance on growth performance, blood biochemistry, and immune response of broiler chickens under summer temperature conditions**

**Introduction:** Although there are different ways of reducing the adverse effects of heat stress, including changing feeding methods and using various supplements in feed and drinking water, most of these methods are associated with reduced performance. Changes in dietary electrolyte balance have been suggested as one of the effective ways to reduce the adverse effects of heat stress in poultry. Although most studies found that amino acid metabolism can both affect or be affected by the acid-base balance of the body, the relationship between the dietary electrolyte balance and the dietary threonine concentration in broilers has not been well explained, especially under high temperature condition. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of different DEB and threonine levels on growth performance, biochemical parameters, antioxidant status, thyroid hormones, and immune response of broiler chickens reared under high environmental temperature conditions.

**Materials and Methods:** A total of 600 one-day-old male broiler chickens (Ross 308) were used to investigate the effect of different levels of threonine and dietary electrolyte balance (DEB) on performance, serum biochemical parameters and antibody response under summer temperature condition. All birds received a common starter diet in mash form and raised conventionally up to 10 days of age, after which they were reared following a completely randomized,  $3 \times 2$  factorial design experiment with 5 replicate pens of 20 birds each. Treatments consisted of two threonine levels (100 and 110 % of the commercially recommended levels) and 3 levels of DEB (175, 250 and 325 mEq/kg of diet). The average minimum and maximum temperatures inside the poultry house recorded from 11 to 42 days of age were 23.7 and 37.3 °C, respectively, with a relative humidity of  $55 \pm 3.45\%$ . Average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed conversion ratio (FCR) of birds were determined during the grower (11 to 24 days) and finisher (25–42 days) periods, and also for the total experimental period (11–42 days). Two birds per replicate pen were randomly selected to evaluate the cell-mediated immune response to phytohaemagglutinin-P (PHA-P) on days 36 and 37. Blood samples (2 samples per replicate) were collected for measuring antibody responses (days 28 and 35), and also for biochemical analysis (day 42).

**Results:** The results showed that the low DEB group significantly increased ADG over 11 to 24 and 11 to 42 days, but reduced ( $P < 0.05$ ) feed conversion ratio and mortality rate over the entire experiment (11 to 42 days). An increase in the superoxide dismutase activity was also associated with an increase in the DEB of the diet ( $P < 0.05$ ). Increasing the threonine level in the diet decreased the blood triglyceride concentration, but elevated the values of blood uric acid, thyroxin, and superoxide dismutase, as well as the toe web thickness 24 hours after PHA-P injection ( $P < 0.05$ ). The interactions between DEB and threonine levels were observed for relative thymus weight and primary antibody titers against infectious bronchitis vaccine, indicating that the effects of threonine on these traits were more marked in broiler chickens fed on the high DEB diets.

**Discussion:** The chickens suffer from respiratory alkalosis in heat stress, and thus an increase in sodium bicarbonate or potassium bicarbonate, which leads to increased dietary DEB, exacerbates respiratory alkalosis. Accordingly, the lowest growth performance in this experiment belonged to the high DEB group (325 mEq/kg diet), which was achieved by adding potassium bicarbonate from 0.88% in the growth diet to 0.95% in the final diet. On the other hand, reducing dietary DEB value (with increasing the concentration of dietary chloride) has been reported to reduce blood pH by reducing the concentration of bicarbonate in the blood, and even cause metabolic acidosis (Borges et al., 2004), which could be a reason for improved growth performance of broilers that received the low DEB diet. In the present study, the high DEB diet could improve immune response, but those values were higher when birds were fed diets containing 110% threonine, as indicated by the interaction between DEB and threonine level. The reason for this change in the immune response to an increase in dietary threonine levels with modifications in acid-base balance is unknown. This may be linked to enhancing the production of ammonium in the kidney due to increased amino acid concentration, which stimulates protein synthesis and inhibits protein degradation of the tissues (Jurkovitz et al., 1992). This effect, in turn, may increase antibody synthesis by increasing threonine levels under alkaline conditions. Another factor for the negative effect of the high-DEB diet on growth performance could be the stimulation of

the immune system. By stimulating the immune system, nutrients will be used to produce immunoglobulins and hence growth will be retarded (Khodambashi Emami et al., 2012). Under the condition of this study, the addition of threonine to the diet at 110% of the commercially recommended level increased the superoxide dismutase activity. Similarly, increasing dietary levels of threonine from 85 to 125% of the NRC recommendation increased serum glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in broilers (Min et al., 2016). In addition, reducing the DEB increased blood superoxide dismutase activity, which could be a reason for improved growth performance in the related-groups under heat stress conditions.

**Conclusion:** According to the results of this study, decreasing the DEB from 325 to 175 mEq/kg could have beneficial impacts on growth performance and antioxidant status, while increasing dietary threonine from 100 to 110% of the strain recommendation had positive effects on the immune response and antioxidant status in heat-stressed broiler chickens. In addition, using threonine at 110% of the commercially recommended level in a high DEB diet could improve the immunity of broiler chickens under heat stress conditions.

**Key words:** Threonine, dietary electrolyte balance, broilers, performance, summer