

## ارزیابی اثرات سطوح مختلف پروتئین خام بر قابلیت جوجه درآوری، وزن جوجه و پاسخ‌های ایمنی مرغان بومی خراسان

علیرضا حسابی نامقی<sup>۱\*</sup> و سمیه شربت‌دار<sup>۲</sup>

۱- استادیار تغذیه طیور، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

۲- کارشناس ارشد تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۲۵)

### چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف پروتئین خام جیره غذایی بر عملکرد تولید مثلی و پاسخ‌های ایمنی مرغان بومی با استفاده از ۳۰۰ قطعه مرغ بومی در ایستگاه خراسان رضوی و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ مرغ در هر تکرار از سن ۲۶ الی ۵۰ هفتگی انجام شد. تیمارها بر پایه ذرت، گندم، جو و کنجاله سویا، حاوی سطوح مختلف پروتئین خام شامل ۱۷/۵، ۱۶، ۱۴/۵، ۱۳، ۱۱/۵ و ۱۰ (درصد جیره) بود. نتایج نشان داد که وزن اولیه جوجه و نسبت وزن جوجه به تخم مرغ از شروع دوره تا سن ۵۰ هفتگی با افزایش سطح پروتئین خام تا ۱۶ درصد افزایش معنی‌داری یافت و بعد از آن در سطح ۱۷/۵ درصد کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). بالاترین قابلیت جوجه درآوری (۸۵/۷۶) در تمام دوره‌ها مربوط به تیمار ۱۷/۵ درصد پروتئین بود ( $P < 0/05$ ). بررسی نتایج پاسخ‌های ایمنی نشان داد که تیمار حاوی ۱۷/۵ درصد پروتئین خام، بالاترین عیار پادتن بر علیه SRBC و همچنین تیترهای IgG و IgM را نشان داد ( $P < 0/05$ ). اما در بررسی پاسخ‌های ایمنی وابسته به سلول، بالاترین پاسخ ایمنی سلولی مربوط به تیمار حاوی ۱۶ درصد پروتئین بود ( $P < 0/05$ ). به طور کلی عملکرد تولیدمثلی و پاسخ ایمنی همورال مرغان بومی با افزایش سطوح پروتئین خام افزایش یافت.

**واژه‌های کلیدی:** پاسخ‌های ایمنی همورال و سلولی، پروتئین خام، جوجه درآوری، مرغان بومی تخمگذار

## مقدمه

عامل بیماری‌زا، ایفا می‌کنند. دانسته‌های بهتر از تقابل بین سیستم ایمنی و تولید به نحوی است که هنگام فرموله کردن جیره‌های غذایی به مقاومت حیوان در مقابل بیماری‌ها و حفظ تولید در حد مطلوب توجه شود. با آگاهی از اثرات تغذیه بر سیستم ایمنی می‌توان توان مقابله با بیماری‌ها را در حیوان بررسی کرد. فعالیت سیستم ایمنی ذاتی موجب می‌شود پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه از رشد به سمت ایمنی حرکت کنند (Humphrey *et al.*, 2004). اندازه طحال در خلال بیماری افزایش می‌یابد و نرخ ساخت پروتئین به دلیل نفوذ و فعالیت سلول‌های ایمنی شرکت کننده در پاسخ به بیماری افزایش می‌یابد (Mercier *et al.*, 2002). بافت‌های استفاده شده در دفاع میزبان مقدار بیشتری از اسید آمینه‌ها را برای ساخت عوامل محافظت کننده و تحریک کننده تکثیر لنفوسیت‌ها نیاز دارند (Klasing *et al.*, 1984). مشخص شده است که مقدار کم یا زیاد پروتئین (Payne *et al.*, 1990) و یا اسیدهای آمینه (Tsiagbe *et al.*, 1987) پاسخ‌های ایمنی را تغییر می‌دهند. یافته‌ها در رابطه با مرغان بومی در این خصوص ناچیز است و ابهامات زیادی وجود دارد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش تعیین سطح مطلوب پروتئین در جیره غذایی طیور بومی با بررسی سطوح مختلف آن بر وزن تخم مرغ، میزان جوجه درآوری و پاسخ‌های ایمنی است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در محل ایستگاه مرغ بومی خراسان رضوی واقع در کیلومتر ۱۵ جاده مشهد- قوچان انجام شد. دوره آزمایش مجموعاً ۲۵ هفته به طول انجامید. مرغان تخمگذار از سن ۲۴ هفتگی به سالن آزمایش منتقل شدند و بعد از طی دوره هماهنگی و عادت نمودن به محیط جدید، آزمایش از سن ۲۶ هفتگی آغاز شد و در سن ۵۰ هفتگی به اتمام رسید. در این طرح از ۳۰۰ مرغ بومی به همراه ۳۰ خروس در قالب شش تیمار، پنج تکرار و با ۱۰ مرغ و یک خروس در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در قفس‌هایی با ابعاد ۱×۳ متر که بطور کامل تا سقف دارای حفاظ بودند استفاده شد. شش تیمار آزمایشی بر پایه ذرت، گندم، جو و کنجاله سویا، حاوی سطوح مختلف پروتئین خام به میزان ۱۷/۵، ۱۶، ۱۴/۵، ۱۳، ۱۱/۵ و ۱۰ درصد جیره بودند (جدول ۱). در طول دوره آزمایش تمامی تخم‌مرغ‌های تولیدی مرغان مربوط به هر تکرار هر کدام

همزمان با شروع اصلاح نژاد و بهبود تولیدات از طریق خصوصیات ژنتیکی، بر روند بهبود تولیدات از طریق تامین نیازهای غذایی نیز تاکید ویژه‌ای شده است. تعیین حداقل سطح پروتئین روزانه در مرغ‌های تخمگذار، یکی از مسائل مطالعات تغذیه‌ای است. با توجه به نوع خوراک‌های معمول در تغذیه مرغان بومی، احتمالاً پروتئین خام به مقدار لازم تامین نمی‌شود و یا در مواردی میزان ایده‌آل پروتئین خام جیره‌های غذایی حتی در سطح ایستگاه‌های مرغان بومی کشور با ابهاماتی توأم است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که میزان پروتئین و اسیدآمینه جیره، برای عملکرد مرغ مادر حیاتی است (Bowmaker and Gous, 1991). به نظر می‌رسد که در شرایط کمبود پروتئین، پرنده به تداوم تولید تخم مرغ نسبت به اندازه آن تمایل بیشتری دارد (Lopez and Leeson, 1994b). اهمیت اصلی در کاهش وزن تخم مرغ، رابطه مثبت بین وزن تخم مرغ و وزن جوجه و همچنین قابلیت جوجه درآوری آن است (Morris, 1968). فاکتورهای زیادی شامل: ژنتیک (Chambers *et al.*, 1974)، سن (Pearson and Herron, 1981)، دوره نوری (Brake *et al.*, 1989)، سن بلوغ جنسی (Leeson *et al.*, 1983)، وزن بدن (McDankle *et al.*, 1981a) و جیره (Pearson and Herron, 1981) بر اندازه تخم مرغ اثر می‌گذارند. مهمترین عوامل جیره‌ای شناخته شده برای وزن تخم مرغ شامل: چربی (اسید لینولئیک)، پروتئین و اسیدهای آمینه خاص است (Lopez and Leeson, 1994c) که اندازه تخم مرغ نسبت به تغییرات پروتئین حساس‌تر است (Khajali *et al.*, 2008). نشان داده شده است که تغییرات در قدرت جوجه درآوری تخم‌های بارور شده می‌تواند به عوامل زیادی از قبیل زمان ماندگاری، شرایط انکوباسیون، سن پرنده (Kirk *et al.*, 1980)، موقعیت انکوباسیون (Bnuer *et al.*, 1990)، کیفیت پوسته (McDankle *et al.*, 1981b) و اندازه تخم مرغ (Morris *et al.*, 1968) مرتبط باشد. سیستم ایمنی مدیریت پیچیده‌ای از سلول‌های غشایی و مولکول‌هایی است که عملکرد آنها به خاطر حمله عوامل بیماری‌زا تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Humphrey *et al.*, 2004). تقابل تغذیه و ایمنی و چگونگی مقابله حیوان با عامل بیماری یک راهکار تعیین کننده در سلامتی حیوان است. تقریباً تمام مواد مغذی جیره یک نقش بنیادی در پاسخ‌های ایمنی متناسب با نوع

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی در طول دوره تخمگذاری (۵۰-۲۶ هفتگی)

Table 1. Composition of the experimental diets throughout the laying period (26 to 50 week)

Item (%)	Different levels of crude protein in percent of diet					
	17.5	16	14.5	13	11.5	10
Corn	33	41.7	49.46	49.46	51.3	54
Soybean meal	27.3	23.1	18.8	14.1	9.3	5
Barley	4.98	2.46	3.5	5.1	5.2	5
White wheat	20.75	20	16.11	20	20.5	20
Soybean oil	2.7	1.5	0.8	-	-	-
Wheat bran	-	-	-	-	2.46	4.71
Di calcium phosphate	1.37	1.45	1.45	1.5	1.5	1.52
Limestone	8.65	8.6	8.65	8.6	8.5	8.53
DL-Met	0.2	0.19	0.18	0.19	0.19	0.19
NaCl	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Vitamin Mix <sup>1</sup>	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Mineral Mix <sup>2</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Calculated values (%)						
AME (kcal/kg)	2731	2730	2738	2725	2731	2733
Lys	0.96	0.85	0.73	0.61	0.5	0.38
Met	0.46	0.44	0.41	0.4	0.38	0.36
Met+cys	0.77	0.72	0.67	0.64	0.59	0.55
Thr	0.71	0.65	0.59	0.53	0.46	0.4
Trp	0.23	0.21	0.18	0.16	0.14	0.12
Ca	3.67	3.66	3.67	3.66	3.66	3.66
Available phosphorus	0.42	0.43	0.42	0.42	0.42	0.42
Analyzed values (%)						
CP	17.32	15.91	14.62	13.09	11.21	10.04
P	0.4	0.41	0.43	0.5	0.52	0.47
Ca	3.7	3.62	3.66	3.54	3.71	3.71

1. Vitamin mixture provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 3600000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 800000 IU; vitamin E, 14400 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 1600 mg; riboflavin, 3300 mg; pantothenic acid, 4000 mg; thiamine, 12000 mg; pyridoxine hydrochloride, 1200 mg; folic acid, 500 mg; biotin, 2000 mg; vitamin B12, 400 mg; choline, 400 mg. Mineral mixture provided the following per kilogram of diet: Mn, 64 g; Zn, 44 g; Fe, 100 g; Cu, 16 g; I, 640 mg; Se, 8 g

2. Values of protein, calcium and phosphorus measured on AOAC (1990)

بال انجام شد. جهت بررسی پاسخ‌های ثانویه تزریق SRBC به روش اول و با همان مقدار، در ۱۲ روز بعد انجام شد. شش و ۱۲ روز پس از تزریق ثانویه، نمونه‌های خون جهت بررسی میزان پادتن بر علیه SRBC جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون، سرم مربوطه جدا و تا روز تعیین تیترا پادتن در فریزر با دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تیترا پادتن بر علیه SRBC به روش HI<sup>۱</sup> (مهیار هموگلوبیناسیون) مطابق با روش Van der zijpp and Leenstra (1980) انجام شد. به این صورت که ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سرم نمونه با ۵۰ میکرولیتر فسفات بافر نمکی (PBS) در داخل میکروپلیت رقیق شد و سپس رقت‌های سریالی سرم خون جوجه‌ها از ۱/۲ تا ۱/۲۵۶ میلی‌لیتر

به‌تنهایی توزین شد. از آغاز آزمایش، هر دو هفته یکبار تعداد ۱۶ تخم‌مرغ از هر تکرار بطور تصادفی انتخاب و به جوجه‌کشی منتقل شد و میزان درصد جوجه درآوری تخم‌ها به دست آمد. بعد از تفریح و خشک شدن، وزن جوجه‌ها به طور انفرادی ثبت شد و نسبت وزن جوجه به وزن اولیه تخم مرغ محاسبه شد. مرغان در طول دوره آزمایش آب و غذا را آزادانه در اختیار داشتند و از ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی استفاده شد. در هفته ۴۶ آزمایش، چهار مرغ تخمگذار از هر تکرار انتخاب و به هر یک از آنها ۰/۵ میلی‌لیتر محلول پنج درصد SRBC<sup>۱</sup> در عضله سینه تزریق شد (Van der zijpp and Leenstra, 1980). شش و ۱۲ روز بعد، خون‌گیری از طریق ورید زیر

بین تیمار مذکور و تیمار حاوی ۱۷/۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). علاوه بر تقسیم‌بندی‌های زمانی ذکر شده، نتایج حاصل از دو نیمه دوره پرورش و کل دوره، نیز اطلاعات فوق را تایید می‌کند (جدول ۲) به طوری که در کل دوره نیز، بالاترین درصد جوجه درآوری مربوط به تیمار حاوی ۱۷/۵ درصد است. مطابق اطلاعات ارائه شده، درصد جوجه درآوری در کل دوره، بین تمام تیمارها، تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). Lesson and Lopez (1994b) نشان دادند که سطوح مختلف پروتئین خام جیره (۱۴، ۱۶، ۱۸ و ۲۰ درصد) بر قابلیت جوجه درآوری تاثیر معنی‌داری نداشتند. با این وجود Lesson and Lopez (1994a) اظهار کردند که با مصرف جیره حاوی پروتئین خام بالا، قابلیت جوجه درآوری کاهش می‌یابد. همچنین Herron and Pearson (1982) گزارش کردند که مرغ‌های تغذیه شده با پروتئین بالا بخصوص هنگام مصرف جیره با انرژی پایین، کاهش درصد جوجه درآوری را نشان می‌دهند که این مهم ناشی از افزایش درصد تلفات جنینی در هفته دوم جوجه‌کشی و افزایش تعداد تخم مرغ‌های معیوب در انتهای جوجه‌کشی است. آنها اظهار داشتند که تلفات جنین در این سن احتمالاً به دلیل کمبود مواد مغذی در تخم مرغ است به نحوی که سطوح بالای پروتئین خام نیز این کمبود را مرتفع نکرد. سطوح بالای پروتئین خام در جیره نیاز به تعدادی از ویتامین‌ها مانند ویتامین B<sub>12</sub> را بالا می‌برد زیرا پروتئین زیاد باعث تخریب این ویتامین در تخم مرغ شده و در نتیجه بر قدرت جوجه درآوری تاثیر می‌گذارد (Patel and McCinnis, 1977). از آنجایی که حدود ۷۰ درصد ترکیبات بدن جوجه، بر حسب ماده خشک، از پروتئین خام تشکیل شده است، پروتئین نقش مهمی در توسعه جنینی و تولد جوجه سالم دارد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری وزن اولیه جوجه و همچنین درصد نسبت وزن بدن جوجه به وزن تخم مرغ در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشخص است، بالاترین میانگین در هر دو صفت اندازه‌گیری شده و در سنین مختلف دوره پرورش به تیمار حاوی ۱۶ درصد پروتئین خام جیره تعلق داشت. به طوریکه این تیمار در اغلب دوره‌های سنی پرنده و بین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری را با سایرین نشان داد ( $P < 0.05$ ). نتایج نشان داد که یک رابطه خطی معنی‌دار بین کاهش پروتئین جیره

تهیه شد. در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر از محلول سوسپانسیون دو درصد SRBC به هر گوده اضافه شد و برای مدت چهار الی پنج ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. تیتراژ بر اساس لگاریتم در مبنای دو بیشترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان داد بیان شد. پادتن مقاوم به ۲-مرکاپتوانانل<sup>۱</sup> (IgG) بدین صورت تعیین شد که ابتدا ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم خون جوجه‌ها با ۵۰ میکرولیتر PBS حاوی ۰/۲ مول ۲-مرکاپتوانانل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوباسیون شد. سپس رقت‌های سریالی از آن تهیه و ۵۰ میکرولیتر محلول سوسپانسیون دو درصد SRBC به هر گوده اضافه شد. پادتن حساس به ۲-مرکاپتوانانل (IgM) به وسیله کسر پادتن مقاوم به ۲-مرکاپتوانانل از کل تیتراژ پادتن بر علیه SRBC به دست آمد. دو روز بعد از اتمام آزمایشات SRBC جهت بررسی ایمنی سلولی مطابق با روش (Klasing and Leshchinsky 2001) ۱۰۰ میکروگرم از PHA<sup>۴</sup> (فیتوهم‌آگلوتینین) در ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول سرم ۰/۸۵ درصد نمکی حل شد و سپس بین پرده انگشت دو و سه پای چپ سه مرغ در هر تکرار تزریق شد و همین عمل در پای راست به وسیله سرم فیزیولوژیکی تکرار شد. اختلاف تورم ناشی از پای چپ و راست بعد از ۲۰ و ۲۴ ساعت به عنوان CBH<sup>۵</sup> بررسی شد. به منظور مقایسه میانگین‌ها، از برنامه SAS (۱۹۹۶) با رویه خطی تعمیم یافته (GLM) و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

## نتایج و بحث

بررسی نتایج اثر سطوح مختلف پروتئین بر درصد جوجه درآوری نشان داد که بالاترین و پایین‌ترین درصد جوجه درآوری به ترتیب به جیره‌های حاوی ۱۷/۵ و ۱۰ درصد پروتئین تعلق داشت ( $P < 0.05$ ). در طول تمام دوره‌های تفکیک شده به جز سن ۴۲ هفتگی، بالاترین درصد جوجه درآوری مربوط به تیمار حاوی ۱۷/۵ درصد پروتئین جیره بود. اما در سن ۴۲ هفتگی، این رتبه به تیمار حاوی ۱۶ درصد تعلق گرفت. البته در این دوره هم

1. 2- Mercaptoethanol
2. Immunoglobulin G
3. Immunoglobulin M
4. Phytohaemagglutinine
5. Cutaneous Basophil Hypersensitivity

جدول ۲- اثرات تیمارهای آزمایشی (بر مبنای درصد پروتئین جیره) بر میزان جوجه درآوری در دوره آزمایشی.  
Table 2. Effects of dietary treatments (based on protein percentage of diet) on hatchability throughout the experiment

Protein (%)	Age (week)								
	30	34	38	42	46	50	26-38	38-50	26-50
17.5	94.25 <sup>a</sup>	88.9 <sup>a</sup>	83.9 <sup>a</sup>	83.46 <sup>a</sup>	85.1 <sup>a</sup>	79.28 <sup>a</sup>	89.02 <sup>a</sup>	83.32 <sup>a</sup>	85.76 <sup>a</sup>
16	82.5 <sup>b</sup>	87.5 <sup>a</sup>	76.4 <sup>ab</sup>	87.62 <sup>a</sup>	87.02 <sup>b</sup>	75.22 <sup>b</sup>	82.14 <sup>b</sup>	82.06 <sup>a</sup>	82.08 <sup>b</sup>
14.5	86.3 <sup>b</sup>	76.5 <sup>b</sup>	77.8 <sup>ab</sup>	66.52 <sup>b</sup>	74.58 <sup>b</sup>	67.92 <sup>c</sup>	80.18 <sup>b</sup>	68.76 <sup>b</sup>	73.68 <sup>c</sup>
13	72.1 <sup>c</sup>	72 <sup>b</sup>	66.8 <sup>c</sup>	63.74 <sup>b</sup>	60.64 <sup>c</sup>	75.5 <sup>b</sup>	70.3 <sup>d</sup>	67.28 <sup>b</sup>	68.56 <sup>c</sup>
11.5	75 <sup>c</sup>	78.9 <sup>b</sup>	72.5 <sup>bc</sup>	67.24 <sup>b</sup>	63.54 <sup>c</sup>	69.94 <sup>c</sup>	75.48 <sup>c</sup>	67.24 <sup>b</sup>	70.76 <sup>d</sup>
10	39.37 <sup>d</sup>	49.5 <sup>c</sup>	52.5 <sup>d</sup>	56.62 <sup>c</sup>	55.12 <sup>d</sup>	53.87 <sup>d</sup>	48.52 <sup>c</sup>	55.04 <sup>c</sup>	52.24 <sup>f</sup>
Pooled SEM	2.21	2.08	2.34	1.29	1.47	0.10	1.23	0.63	0.67

<sup>a-c</sup> Mean values within a column not sharing a common superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ )

جدول ۳- اثرات تیمارهای آزمایشی (بر مبنای درصد پروتئین جیره) بر وزن اولیه جوجه و درصد نسبت وزن بدن به تخم مرغ جوجه‌های مرغان بومی در دوره آزمایشی

Table 3. Effects of dietary treatments (based on protein percentage of diet) on initial weight of chickens and the ratio of chicken weight to egg weight of native birds throughout the experiment

Protein (%)	Age (week)											
	30		34		38		42		46		50	
	EW <sup>1</sup> (%)	CW <sup>2</sup>	EW (%)	CW	EW (%)	CW	EW (%)	CW	EW (%)	CW	EW (%)	CW
17.5	64.8 <sup>b</sup>	33.3 <sup>b</sup>	63 <sup>bc</sup>	33.1 <sup>b</sup>	64.6 <sup>b</sup>	34.36 <sup>b</sup>	63.6 <sup>bc</sup>	33.82 <sup>a</sup>	65 <sup>bc</sup>	35.68 <sup>ab</sup>	63.8 <sup>c</sup>	34.86 <sup>b</sup>
16	67.8 <sup>a</sup>	34.72 <sup>a</sup>	67.6 <sup>b</sup>	35.12 <sup>a</sup>	68 <sup>b</sup>	36.2 <sup>a</sup>	66.8 <sup>a</sup>	35.66 <sup>a</sup>	67.6 <sup>a</sup>	36.14 <sup>a</sup>	68.6 <sup>a</sup>	36.94 <sup>a</sup>
14.5	64.8 <sup>b</sup>	33.3 <sup>b</sup>	64.2 <sup>b</sup>	33.32 <sup>b</sup>	65.6 <sup>b</sup>	34.8 <sup>b</sup>	64.8 <sup>ab</sup>	34.4 <sup>a</sup>	66.6 <sup>ab</sup>	35.04 <sup>b</sup>	65.6 <sup>b</sup>	34.86 <sup>b</sup>
13	64.4 <sup>b</sup>	32.74 <sup>b</sup>	63.8 <sup>bc</sup>	32.78 <sup>b</sup>	65 <sup>b</sup>	34.4 <sup>b</sup>	64.4 <sup>ab</sup>	34.28 <sup>a</sup>	64 <sup>c</sup>	33.6 <sup>c</sup>	64.8 <sup>bc</sup>	34.72 <sup>b</sup>
11.5	64.2 <sup>b</sup>	33.2 <sup>b</sup>	63.6 <sup>bc</sup>	33.62 <sup>b</sup>	64.8 <sup>b</sup>	34.64 <sup>b</sup>	64.4 <sup>ab</sup>	34.12 <sup>a</sup>	64.8 <sup>bc</sup>	34.86 <sup>b</sup>	65.8 <sup>b</sup>	35.3 <sup>b</sup>
10	62.2 <sup>c</sup>	31.24 <sup>c</sup>	61.8 <sup>c</sup>	31.4 <sup>c</sup>	62 <sup>c</sup>	31.8 <sup>c</sup>	61 <sup>c</sup>	31.4 <sup>b</sup>	63.8 <sup>c</sup>	32.74 <sup>c</sup>	59.8 <sup>d</sup>	30.8 <sup>c</sup>
Pooled SEM	0.30	0.33	0.60	0.32	0.50	0.29	0.8	0.56	0.60	0.29	0.40	0.29

1. EW: Egg Weight

2. CW: Chicken Weight

<sup>a-d</sup> Mean values within a column not sharing a common superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ )

شده است. این نتایج پیشنهاد می‌کند که مصرف اسیدهای آمینه و پروتئین برای حداکثر اندازه تخم مرغ محدودکننده است. به نظر می‌رسد که وقتی مصرف پروتئین پایین است، پرندگان بیشتر تمایل به ثابت نگهداشتن تولید نسبت به وزن تخم مرغ‌ها دارند (Lopez and Leeson, 1994c). Caston and Lesson (1996) گزارش کردند که با وجود یکسان بودن مصرف اسیدهای آمینه محدودکننده، وزن تخم مرغ و جیره حاوی درصد پایین‌تر پروتئین، جوجه‌های با وزن کمتر مشاهده شد. آنها این وزن کمتر تخم مرغ را به عدم تامین نیازهای پروتئینی حیوان نسبت دادند. با این وجود برخی از تحقیقات اثر معنی‌داری را در وزن جوجه با استفاده از تغذیه جیره‌های کم پروتئین نشان ندادند (Lopez and Leeson, 1994a; Khajali et al., 2008). این تفاوت‌های آرایه شده در وزن تخم مرغ و وزن جوجه می‌تواند به علت تفاوت در مصرف اسیدهای آمینه باشد

و وزن جوجه و نسبت وزن آن به تخم مرغ وجود دارد. به طوریکه کمترین سطح پروتئین (۱۰ درصد) باعث کمترین وزن جوجه در هنگام تولد شد. نکته قابل توجه آن است که سطح ۱۶ درصد پروتئین خام، درصد وزنی و وزن بالاتری را نسبت به سطح ۱۷/۵ درصد پروتئین خام نشان داده است. سطح بالاتر پروتئین و تا حدودی شاید بیش از حد نیاز حیوان، موجب تحمیل متابولیسم اضافی به حیوان می‌شود. این متابولیسم اضافی توأم با مصرف انرژی و دفع ازت ناشی از دریافت اضافه پروتئین است. بنابراین احتمالاً پروتئین اضافی منجر به کاهش انرژی لازم جهت رشد و توسعه جنین می‌شود. برخی از پژوهش‌ها رابطه مثبتی بین اندازه تخم مرغ و اندازه جوجه گزارش کرده‌اند (Morris, 1968). Leeson And Lipez (1994b) نشان دادند که تخم مرغ‌های حاصل از پرندگان تغذیه شده با پروتئین کمتر، کوچکتر بود و در نتیجه باعث کاهش در وزن اولیه جوجه

جدول ۴- اثرات تیمارهای آزمایشی (بر مبنای درصد پروتئین جیره) بر میزان تیتر پادتن تام اولیه (بر مبنای  $\log_2$ ) بر علیه SRBC در دوره آزمایشی

Table 4. Effects of dietary treatments (based on protein percentage of diet) on primary SRBC<sup>1</sup> titer ( $\log_2$ ) throughout the experiment

Protein (%)	6 days after injection			12 days after injection		
	SRBC	IgM	IgG	SRBC	IgM	IgG
17.5	10.62 <sup>a</sup>	8.74 <sup>a</sup>	1.88 <sup>a</sup>	5.6 <sup>a</sup>	2.78 <sup>a</sup>	2.82 <sup>a</sup>
16	10.36 <sup>a</sup>	8.5 <sup>a</sup>	1.86 <sup>a</sup>	5.26 <sup>ab</sup>	2.84 <sup>a</sup>	2.42 <sup>b</sup>
14.5	8.3 <sup>b</sup>	6.72 <sup>c</sup>	1.58 <sup>b</sup>	3.82 <sup>c</sup>	1.97 <sup>b</sup>	1.85 <sup>c</sup>
13	8.92 <sup>b</sup>	7.62 <sup>b</sup>	1.3 <sup>c</sup>	4.66 <sup>b</sup>	2.44 <sup>a</sup>	2.22 <sup>bc</sup>
11.5	8.56 <sup>b</sup>	7.34 <sup>bc</sup>	1.22 <sup>c</sup>	3.9 <sup>c</sup>	1.98 <sup>b</sup>	1.92 <sup>c</sup>
10	6.94 <sup>c</sup>	5.76 <sup>d</sup>	1.18 <sup>c</sup>	2.36 <sup>d</sup>	1.28 <sup>c</sup>	1.08 <sup>d</sup>
Pooled SEM	0.22	0.24	0.07	0.20	0.13	0.12

<sup>a-d</sup> Mean values within a column not sharing a common superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ )

1. Sheep red blood cell

جدول ۵- اثرات تیمارهای آزمایشی (بر مبنای درصد جیره) بر میزان تیتر پادتن تام ثانویه (بر مبنای  $\log_2$ ) بر علیه SRBC در دوره آزمایشی

Table 5. Effects of dietary treatments (based on protein percentage of diet) on second SRBC titer ( $\log_2$ ) throughout the experiment

Protein (%)	6 days after injection			12 days after injection		
	SRBC	IgM	IgG	SRBC	IgM	IgG
17.5	10.88 <sup>a</sup>	3.72 <sup>a</sup>	7.16 <sup>a</sup>	8.28 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	6.48 <sup>a</sup>
16	11.14 <sup>a</sup>	3.48 <sup>ab</sup>	7.66 <sup>a</sup>	6.98 <sup>b</sup>	1.64 <sup>a</sup>	5.34 <sup>b</sup>
14.5	8.62 <sup>b</sup>	2.94 <sup>bc</sup>	5.68 <sup>b</sup>	5.42 <sup>c</sup>	1.1 <sup>b</sup>	4.32 <sup>c</sup>
13	8.52 <sup>b</sup>	2.86 <sup>bcd</sup>	5.66 <sup>b</sup>	4.92 <sup>cd</sup>	0.92 <sup>cb</sup>	4 <sup>cd</sup>
11.5	7.48 <sup>bc</sup>	2.3 <sup>cd</sup>	5.18 <sup>b</sup>	4.06 <sup>de</sup>	0.7 <sup>c</sup>	3.36 <sup>de</sup>
10	6.72 <sup>c</sup>	2.16 <sup>d</sup>	4.56 <sup>b</sup>	3.68 <sup>e</sup>	0.82 <sup>bc</sup>	2.86 <sup>e</sup>
Pooled SEM	0.44	0.21	0.38	0.3	0.11	0.28

<sup>a-e</sup> Mean values within a column not sharing a common superscript letter were significantly different ( $P < 0.05$ )

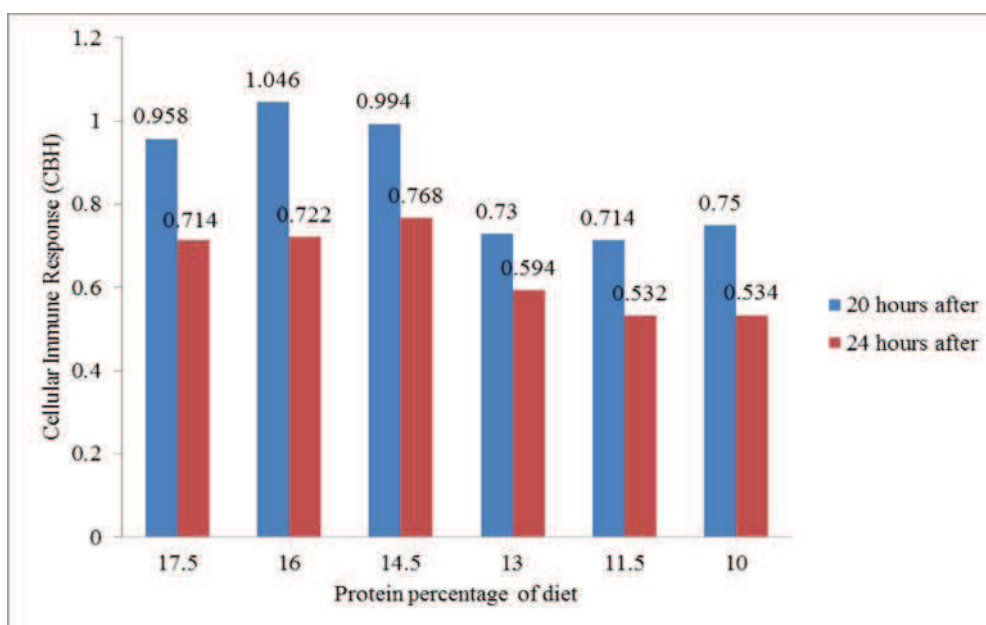


Fig. 1. Effects of dietary treatments (based on protein percentage of diet) on cellular immune response (CBH) throughout the experiment

شکل ۱- اثرات تیمارهای آزمایشی (درصد پروتئین جیره) بر پاسخ‌های ایمنی سلولی (CBH) در دوره آزمایشی

نشان می‌دهد که کمبود پروتئین و یا اسیدهای آمینه ضروری منجر به تغییراتی در تولید پادتن در جوجه‌ها می‌شود (Konashi et al., 2000). (Bhargava et al., 1971) مشاهده کردند که کمبود پروتئین و به ویژه اسیدهای آمینه والین و ترئونین، تولید پادتن بر علیه بیماری‌ها، مانند نیوکاسل، را کاهش می‌دهد. ولی برعکس، Takahashi et al. (1994) گزارش کردند مقدار کم یا زیاد پروتئین و اسیدهای آمینه بر تولید پادتن اولیه در مقابل SRBC تاثیری نداشت. در پاسخ‌های اولیه، میزان Igm بیشتر است. که در اکثر پاسخ‌های ایمنی این روند قابل مشاهده است. IgG با توجه به ساختار بزرگتر و کارایی بیشتر در پاسخ‌های ایمنی اولیه، احتمالاً نسبت به کاهش پروتئین جیره حساس‌تر است و به علت کاهش دریافت پروتئین در خوراک همچنین ممکن است بر پاسخ ایمنی سلولی نیز تاثیر بگذارد. هر اسیدآمینه‌ای، مستقل از مصرف خوراک، احتمالاً اثر ویژه‌ای بر پاسخ سلولی دارد. به عنوان مثال، لوسین به طور قابل ملاحظه‌ای در گلوبولین نسبت به بافت‌ها بیشتر است. بنابراین، این احتمال وجود دارد که با افزایش در تولید کتون‌ها در طول دوره مصرف محدود پروتئین و کمبود اسیدآمینه‌های فراهم شده از جیره و بافت، سنتز گلوبولین‌ها و وزن اندام‌های لنفوی کاهش یابد (Bhargava et al., 1971). (Golian et al., 2010) نشان دادند که سطوح مختلف پروتئین باعث بروز تفاوت معنی‌داری در تیترا SRBC، IgG و Igm در جوجه‌های گوشتی نشده است. (Lee and Chao 2001) وابستگی بین سطح گلوبولین‌ها و عملکرد تولیدمثلی و یا ایمنی را بررسی کردند. آنها دریافتند که سطوح بالای گلوبولین سرم به صورت ژنتیکی با باروری پایین همراه است. بر طبق نظر Herron and Pearson (1982) مصرف پروتئین بالا، راندمان باروری و قابلیت جوجه‌داری را کاهش می‌دهد که این اظهارات با نتایج ما مغایرت دارد.

بررسی پاسخ‌های ایمنی سلولی به وسیله آزمون CBH نشان داد که ۲۰ و ۲۴ ساعت پس از تزریق PHA بالاترین میزان تورم و یا به عبارت دیگر بیشترین پاسخ ایمنی سلولی در گروه دریافت کننده ۱۶ درصد پروتئین خام و با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) که مقداری با پاسخ‌های ایمنی همورال متفاوت است. در پاسخ‌های ایمنی همورال بیشترین پاسخ تیترا آنتی

(Khajali et al., 2008). درصد جوجه‌داری پایین و کم بودن وزن اولیه جوجه، یکی از مشکلات شایع در مزارع مرغ بومی کشور است، به نحوی که گزارش‌ها نیز نشان می‌دهند که وزن جوجه‌های بومی در حدود ۳۵ گرم است (غیور و همکاران، ۱۳۸۹). پژوهش حاضر نشان داد که وزن اولیه جوجه تحت تاثیر پروتئین خام جیره غذایی است به نحوی که اختلاف بین وزن اولیه جوجه در تیمارهای مختلف حدود سه گرم است.

در پژوهش حاضر اثر پروتئین جیره بر پاسخ‌های ایمنی مرغان بومی، ایمنی همورال اولیه و ثانویه و ایمنی سلولی ارزیابی شد (جدول ۴ و ۵ و شکل ۱). به طور کلی در هر دو نوع ایمنی و در سنین مختلف با افزایش سطح پروتئین جیره، پاسخ‌های ایمنی بهتری در بین تیمارها مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). به طوریکه بالاترین پاسخ‌ها را تیمارهای حاوی ۱۶ و ۱۷/۵ درصد پروتئین و پایین‌ترین پاسخ را تیمار حاوی ۱۰ درصد پروتئین نشان دادند ( $P < 0.05$ ). در پاسخ ایمنی اولیه نسبت به SRBC، میان تیمار ۱۶ و ۱۷/۵ درصد پروتئین خام، تفاوتی مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ), ولی روند معنی‌دار افزایش پاسخ‌های ایمنی در پاسخ به افزایش سطوح پروتئین خام جیره مشاهده شد. پاسخ‌های مرغان بومی نسبت به مرغان تجاری در مقابل پادگن‌هایی از قبیل SRBC، در حد قابل توجهی بالاتر است و شاید یکی از دلایل آن، مقاومت‌های بالاتری است که در این مرغان مشاهده می‌شود به نحوی که این مهم در پژوهش‌های قبل نیز مشاهده شد (حسابی نامقی و همکاران، ۱۳۸۹). عیار پادتن بر علیه SRBC به میزان ۱۰/۶ در تیمار ۱۷/۵ درصد پروتئین خام با توجه به درصد و مقدار تزریق SRBC حدود ۷۰ درصد بیش از پاسخ‌های مرغان صنعتی است که بیان کننده قدرت بالای سیستم ایمنی در مرغان بومی است. بطور مثال نتایج پژوهش Mashaly and Alodan (1990) نشان دادند مرغان صنعتی "های‌لین" با سن ۸۰ هفته با تزریق ۰/۲ میلی‌لیتر پادگن ۹ درصد SRBC حداکثر پاسخ پادتن را در حد ۸/۶ نشان می‌دهند. در پژوهشی دیگر در مرغان تخمگذار یک ساله با توان ایمنولوژیکی بالا، حداکثر عیار پادتن مشاهده شده ۶/۸ بود. این در حالی بود که همین تیترا در مرغان با توان ایمنولوژیکی کم، حدود ۳/۵ گزارش شد (Mashaly et al., 2000). همانطور که مشخص است در هر دو نوع ایمنی، تفاوت‌های بین تیمارهای مختلف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ). نتایج برخی مطالعات

فاقد این غده متفاوت گزارش شد. این نوع آزمون در انسان نیز جهت سنجش عملکرد سیستم ایمنی سلولی استفاده می‌شود (Sung and Meydani, 1999).

### نتیجه گیری

بر اساس یافته‌ها و نتایج حاصل از پژوهش حاضر، می‌توان گفت افزایش سطح پروتئین جیره تا ۱۷/۵ درصد پروتئین خام، اثرات مطلوبی بر توان ایمنی همورال و خصوصیات جوجه درآوری مرغان بومی دارد، اما وزن اولیه جوجه و ایمنی سلولی در سطح ۱۶ درصد پروتئین خام جیره، پاسخ بهتری را نشان داد.

بادی اولیه در تیمار حاوی ۱۷/۵ درصد پروتئین خام، اما بیشترین پاسخ تیترا آنتی بادی ثانویه در گروه ۱۶ درصد و مشابه پاسخ ایمنی سلولی یافت شد. در پاسخ‌های ایمنی وابسته به سلول نیز در سطح ۱۱/۵ درصد پروتئین خام، افت پاسخ ایمنی مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) به نحوی که این پاسخ‌ها از گروه شاهد نیز کمتر بود (جدول ۶). همچنین در سطح بالاتر از ۱۶ درصد (۱۷/۵ درصد پروتئین خام) با وجود افزایش پروتئین جیره، پاسخ ایمنی سلولی کاهش یافت. (Schat and Sharma (1991) عنوان نمودند که PHA بهترین نوع محرک برای لنفوسیت‌های T در محیط زنده بدن است. آنها عنوان نمودند که سنجش حساسیت زیر پوستی می‌تواند به عنوان یک شاخص عملکرد ایمنی سلولی مطرح شود زیرا پاسخ در مرغان دارای تیموس و

### فهرست منابع

- حسابی نامقی ع. ر.، شوریده ا. ر.، میرزایی ر. ا. و اردلان دوست ا. ا. ۱۳۸۹. ارزیابی اسید آمینه متیونین بر وزن تخم مرغ، جوجه درآوری و پاسخ ایمنی در مرغان بومی استان خراسان. مجله تحقیقات دامی ایران، ۳ (۳): ۲۲۹-۲۳۵.
- غیور پ.، قیصری ا. و اقبال سعید ش. ۱۳۸۹. اثرات سطوح متفاوت کنجاله کلزای جیره بر عملکرد، جوجه درآوری و خصوصیات کیفی تخم مرغ در مرغان مادر بومی. مجموعه مقالات چهارمین کنفرانس علوم دامی. ۲۰۳-۲۰۶.
- Alodan M. A. and Mashaly M. M. 1999. Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. *Poultry Science*, 78: 171– 177.
- Bhargava K. K., Hanson R. P. and Sunde M. L. 1971. Effects of threonine on growth and antibody production in chickens infected with Newcastle disease virus. *Poultry Science*, 50: 710– 713.
- Bnuer F., Tullett S. G. and Wilson H. R. 1990. Effects of setting eggs small end up on hatchability and pthatching performance of broilers. *British Poultry Science*, 31: 715- 724.
- Bowmaker J. E. and Gous R. M. 1991. The response of broiler breeder hens to dietary lysine and methionine. *British Poultry Science*, 32: 1069- 1088.
- Brake J., Garlich J. D. and Baughman G. R. 1989. Effect of lighting program during the growing period and dietary fat during the laying period on broiler breeder performance. *Poultry Science*, 68: 1185- 1192.
- Chambers J. R., Smith A. D. and Friars G. W. 1974. Some reasons of normal and dwarf broiler breeder hens. *Poultry Science*, 53: 864- 870.
- Chao C. H. and Lee Y. P. 2001. Relationship between reproductive performance and immunity in Taiwan country chickens. *Poultry Science*, 80: 535– 540.
- Golian A. M., Azghadi A. and Pilevar M. 2010. Influence of various levels of energy and protein on performance and humoral immune responses in broiler chicks. *Global Veterinaria*, 4 (5): 434- 440.
- Humphrey B. D. and Klasing K. C. 2004. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. *Journal od World's Poultry Science*, 60: 90– 100.
- Khajali F. E., Khoshouie A., Dehkordi S. K. and Hematian M. 2008. Production performance and egg quality of Hy-Line W36 laying hens fed reduced-protein diets at a constant total sulfur amino acid:lysine ratio. *Journal of Applied Poultry Research*, 17: 390- 397.
- Kirk S., Emmans G. C., McDonald R. and Amof D. 1980. Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. *British Poultry Science*, 21: 37- 53.
- Klasing K. C., and Austic R. E. 1984. Changes in protein synthesis due to an inflammatory challenge. *Biology Medician*, 176: 285– 291.
- Konashi S., Takahashi K. and Akiba Y. 2000. Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 83: 449- 459.
- Leeson S. and Caston L. J. 1996. Response of laying hens to diets varying in crude protein or available phosphorous. *Journal Applied Poultry Resesrch*, 5: 289– 296.
- Leeson S., and Summers J. D. 1983. Consequence of increased feed allowance for growing broiler breeder pullets as a means of stimulating early maturity. *Poultry Science*, 62: 6- 11.



- Leshchinsky T. V. and Klasing K. C. 2001. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, 80: 1590- 1599.
- Lopez G. and Leeson S. 1994a. Response of older broiler breeders to medium- high intakes of protein. *Journal of Applied Poultry Research*, 3: 157- 163.
- Lopez G. and Leeson S. 1994b. Egg weight and offspring performance of older broiler breeders fed low-protein diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 3: 164- 170.
- Lopez G. and Leeson S. 1994c. Nutrition and breeder performance: a review with emphasis on response to diet protein. *Journal of Applied Poultry Research*, 3: 303- 311.
- Mashaly M. M., Heetkamp M. J. W., Parmentier H. K. and Schrama J. W. 2000. Influence of genetic selection for antibody production against sheep blood cells on energy metabolism in laying hens. *Poultry Science*, 79: 519– 524.
- McDankl G. R., Brake J. and Bushong R. D. 1981b. Factors affecting broiler performance. Relationship of daily feed intake level to reproductive performance of pullets. *Poultry Science*, 60: 307- 312.
- McDankl G. R., Brake J. and Echnnn M. K. 1981a. Factors affecting broiler breeder performance. 4. The inter relationship of some reproductive traits. *Poultry Science*, 60: 1792- 1797.
- Mercier S., Breuille D., Mosoni L., Obled C. and Patureau Mirand P. 2002. Chronic inflammation alters protein metabolism in several organs of adult rats. *Journal of Nutrition*, 132: 1921– 1928.
- Morris R. H., Hessels D. F. and Bishop R. J. 1968. The relationship between hatching egg weight and subsequent performance of broiler chickens. *British Poultry Science*, 9: 305- 315.
- Morris T. R. 1968. The effect of dietary energy level on the volunta calorie intake of laying birds. *British Poultry Science*, 9: 285- 295.
- Patel M. B. and McCinnis J. 1977. The effect of level of protein and vitamin in hen diets on eggs production and hatchability of egg and on livability and growth of chickens. *Poultry Science*, 56: 45- 53.
- Payne C. J., Scott T. R., Dick J.W. and Glick B. 1990. Immunity to *Pasteurellamultocida* in protein-deficient chickens. *Poultry Science*, 69: 2134– 2142.
- Pearson R. A. and Herron K. M. 1981. Effects of energy and protein allowances during layer the reproductive performance of broiler breeder hens. *British Poultry Science*, 22: 227- 239.
- Pearson R. A. and Herron K. M. 1982. Effects of maternal energy and protein intakes on the incidence of malformations and time of death during incubation. *British Poultry Science*, 23: 71- 77.
- Sharma J. M. and Schat K. A. 1991. Natural immune functions. *Avian Cellular*, 23: 52- 66.
- Sung N. H. and Meydani S. N. 1999. Vitamin E and infectious in the aged. *Journal of Nutrition*, 58: 697- 705.
- Takahashi K., Konashi S., Akiba Y. and Horiguchi M. 1994. Effects of dietary threonine level on antibody production in growing broilers. *Animal Science and Technology*, 65: 956– 960.
- Tsiagbe V. K., Good M. E., Harper A. E. and Sund M. L. 1987. Efficacy of cysteine in replacing methionine in the immune responses of broiler chickens. *Poultry Science*, 66: 1138– 1146.
- Van der Zijpp A. J., and Leenstra F. R. 1980. Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poultry Science*, 59: 1363– 1369.

## Evaluation of different levels of dietary crude protein on hatchability, chick weights, and immune response of khorasan's native hens

A. R. Hessabi Nameghi<sup>1\*</sup>, S. Sharbatdar<sup>2</sup>

1. Assistant professor, Agricultural and Natural Resources Research Center, Khorasan Razavi

2. Former M. Sc. Student, Department of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Received: 18-3-2013- Accepted: 16-9-2013)

### Abstract

This experiment was conducted to evaluate the effects of different levels of dietary crude protein (CP) on reproductive performance of native hens at Khorasan stations using 300 hens, in a completely randomized design with 6 dietary treatments and 5 replicates and 10 hens in each replicate from 26 to 50 weeks of age. Treatments based on corn, soybean meal and wheat with different levels of protein, including 17.5, 16, 14.5, 13, 11.5, and 10% CP levels and another nutrient including the energy was equal as possible. Results showed that the initial weight of chickens and the ratio of chicken weight to egg weight increased with CP levels upto 16% from the beginning of experimental period to 50 weeks and decreased with 17.5% CP level. The highest hatchability percentage in all periods was related to the 17.5% CP diet that showed significant difference with other treatments ( $P<0/05$ ). Results on immune responses showed that treatment with 17.5 % CP, the highest titer of antibody against SRBC, IgG and IgM ( $P<0/05$ ). In relation to cellular immunity (Test CBH) the result was slightly different and the highest cellular immune response to treatments containing 16% CP and higher levels of CP (17.5%) education compared to the treatment (16%). Overall, the results showed that reproductive performance and humoral immune response of native birds improved with increasing levels of CP.

**Keywords:** Crude protein, Hatchability, Humoral and cell-mediated immunity responses, Native layer hens

---

\*Corresponding author: alireza\_hessabi@yahoo.com