تحقیقات تولیدات دامی

سال هشتم/شماره سوم/پاییز ۱۳۹۸ (۱۱-۱)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر مکمل غنی از نوکلئوتید بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی

مونا حیدری[۱]، مهرداد محمدی[۲*]، مازیار محیطی اصلی[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۲)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی با پنج گروه آزمایشی، پنج تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی شامل جیره پایه بدون مواد افزودنی (گروه شاهد)، پروبیوتیک کلوستات و ۴۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ گرم در تن مکمل غنی از نوکلئوتید بودند. مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در پایان هر دوره اندازه‌گیری شد. ایمنی هومورال با تزریق داخل عضلانی گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) و ایمنی سلولی با تزریق فیتوهماگلوتینین در پوست بال مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد تمام سطوح مکمل غنی از نوکلئوتید میزان مصرف خوراک روزانه را کاهش داده (به ترتیب ۸۹/۷، ۸۳/۳ و ۷۹/۴ در مقابل ۹۸/۲ گرم) و سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک (به ترتیب ۱/۶۷، ۱/۶۲ و ۱/۶۲ در مقابل ۱/۹۳) شدند (P<۰/۰۵). در روز ۲۸ دوره پرورش، گروه‌های پروبیوتیک کلوستات، ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن مکمل غنی از نوکلئوتید عیار پادتن علیه SRBC کل (به ترتیب ۵/۲۰، ۶/۶۰ و ۶/۹۰ در مقابل ۳/۲۰) و IgM (به ترتیب ۲/۶۰، ۳/۲۰ و ۲/۲۰ در مقابل ۰/۹۰) بالاتری داشتند (P<۰/۰۵). در روز ۳۵ دوره پرورش، گروه‌های ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن مکمل غنی از نوکلئوتید عیار پادتن بالاتری علیه SRBC کل (۶/۶۰ و ۶/۱۰ در مقابل ۳/۸۰ و ۴/۵۰)، IgG (۳/۵۰ و ۳/۳۰ در مقابل ۲/۱۰ و ۲/۵۰) و IgM (۳/۱۰ و ۲/۸۰ در مقابل ۱/۷۰ و ۲/۰۰) نسبت به گروه شاهد و پروبیوتیک کلوستات داشتند (P<۰/۰۵). اثر گروه‌های آزمایشی بر میزان پاسخ ایمنی سلولی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در نهایت بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان بیان کرد استفاده از ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن مکمل غنی از نوکلئوتید در جیره آثار مفیدی بر عملکرد و پاسخ-های ایمنی در جوجه‌های گوشتی دارد.

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی، جوجه‌های گوشتی، عملکرد، نوکلئوتید

* نویسندهٔ مسئول: mohammadi@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2019.13016.1402

مقدمه

در دهه‌های گذشته در صنعت طیور، از انواع آنتی بیوتیک‌ها به منظور پیشگیری، حفظ سلامت، جلوگیری از بیماری‌ها، جلوگیری از ناهنجاری‌های ناشی از آلودگی‌های محیطی و همچنین به عنوان محرک رشد استفاده شده است. امروزه مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، مشکلاتی از قبیل مقاومت باکتریایی، بر هم زدن تعادل میکروبی دستگاه گوارش، بیماری‌های مزمن، آلایندگی محیط زیست و تهدید سلامت مصرف‌کنندگان را به وجود آورده است. این امر سبب شده تا متخصصین تغذیه به دنبال جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (اکبری و همکاران، ۱۳۸۳). بیماری‌های عفونی در سراسر جهان به خاطر تلفات زیاد در حیوانات اهلی و طیور باعث نگرانی شده‌اند. در نتیجه استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی می‌تواند یکی از راه-حل‌های بهبود ایمنی و کاهش ابتلا به بیماری‌های عفونی در حیوانات باشد (Kabir *et al.*, 2014). تاکنون مواد گوناگونی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد معرفی شده‌اند که از جمله آنها می‌توان به پروبیوتیک و پری‌بیوتیک اشاره کرد (Salehimanesh *et al.*, 2015). یکی دیگر از ترکیباتی که مد نظر قرار گرفته است نوکلئوتیدها هستند. نوکلئوتیدها سبب بهبود ویژگی‌های خوراک از راه توسعه روده‌ای، بهبود سیستم ایمنی و بهبود عملکرد در حیوانات جوان می‌شوند (Gardiner *et al.*, 1995).

نوکلئوتیدها ترکیباتی با وزن مولکولی پایین هستند که از سه جزء بازهای نیتروژنی تک حلقه‌ای (پیریمیدین) یا دو حلقه‌ای (پورین)، قند پنتوز (دئوکسی ریبوز یا ریبوز) و یک یا چند گروه فسفات ساخته شده‌اند (Berg *et al.*, 2015). نوکلئوتیدها در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی درون سلولی شرکت می‌کنند (Lerner and Shamir, 2000). وجود نوکلئوتیدها برای سوخت و ساز سلول ضروری به نظر می-رسد، در بسیاری از فرآیندهای زیستی نقش کلیدی دارند و پیش‌ساز اسیدهای نوکلئیک، جزئی از کوآنزیم‌ها، منبع انرژی سلول و همچنین واسطه فعالیت هورمون‌ها هستند و در ایجاد DNA و RNA نیز شرکت می‌کنند (Berg *et al.*, 2015). نوکلئوتیدها می‌توانند به عنوان اجزای طبیعی در خوراک حیوانات استفاده شوند و با استفاده از آن‌ها، بدن مکانیسم‌هایی برای جذب و رساندن مواد مغذی به بافت‌ها فراهم می‌کند (Sanchez Pozo and Gil, 2002). استفاده از نوکلئوتید سبب افزایش رشد مخاط روده کوچک می‌شود (Geyra *et al.*, 2001). آثار توسعه روده‌ای ناشی از استفاده از نوکلئوتیدها نقش مهمی در سرعت رشد جوجه‌ها دارد (Geyra *et al.*, 2001). استفاده از نوکلئوتید در افزایش توسعه روده‌ای در انسان (Sanchez Pozo and Gil, 2002) و خوک (Martinez-Puig *et al.*, 2007) اثبات شده است.

سلول‌های سیستم ایمنی (لنفوسیت‌ها)، گلبول‌های قرمز، سلول‌های خون‌ساز و سلول‌های مخاطی روده به دلیل سوخت و ساز سلولی بالا، نیاز بیشتری به نوکلئوتیدها دارند، در حالی‌که ظرفیت آنها برای ساخت نوکلئوتیدها محدود است. بنابراین تأمین نوکلئوتید از یک منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آنها و سایر سلول‌هایی که قادر به ساخت میزان کافی نوکلئوتید برای سنتز DNA و RNA نیستند بسیار ضروری به نظر می‌رسد. آثار افزودن نوکلئوتیدها به جیره بر بلوغ، فعالیت و تکثیر، فاگوسیتوز ماکروفاژی، پاسخ‌های ایمنوگلوبولین و همچنین بیان ژنی سیتوکین‌های معین لنفوسیت‌ها در انسان و برخی حیوانات گزارش شده است (Gil, 2002). مکمل‌های نوکلئوتیدی به خصوص در تحقیقات کلینیکی تغذیه‌ای و تکوین غذاهای فراسودمند انسانی نیز بسیار حائز اهمیت هستند. با توجه به آثار ذکر شده برای نوکلئوتیدها و اطلاعات کمتر در ایران در مورد استفاده از آن در طیور، هدف از این تحقیق بررسی اثر نوکلئوتید بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج گروه آزمایشی مختلف انجام شد. برای هر گروه، پنج تکرار و برای هر تکرار نیز ۱۲ قطعه جوجه گوشتی نر در نظر گرفته شد. گروه‌های آزمایشی مورد ارزیابی شامل: (۱) شاهد (جیره پایه، بدون افزودنی)، (۲) جیره پایه + یک نوع پروبیوتیک رایج (کلوستات، ۵۰۰ گرم در تن)، (۳) جیره پایه + ۴۰۰ گرم مکمل غنی از نوکلئوتید در یک تن جیره، (۴) جیره پایه + ۵۰۰ گرم مکمل غنی از نوکلئوتید در یک تن جیره،

(۵) جیره پایه + ۶۰۰ گرم مکمل غنی از نوکلئوتید در یک تن جیره بودند. نوکلئوتید استفاده شده با نام تجاری Augic-15 (ساخت برزیل) منبع خالص و متراکم نوکلئوتیدهای استخراج شده از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بود. این مکمل غنی از نوکلئوتید دارای ۳۸ درصد پروتئین‌خام، ۱۵ درصد نوکلئوتید، ۷ درصد رطوبت، ۱ درصد فیبر خام و ۴ درصد خاکستر است. جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات گزارش شده به وسیله راهنمای جوجه گوشتی راس ۳۰۸ متوازن شدند (جدول ۱). وزن جوجه‌های گوشتی در پایان هر هفته به طور گروهی اندازه-گیری و خوراک مصرفی هر هفته تعیین شد. از این داده‌ها، میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. در روز ۴۲، از هر تکرار دو قطعه پرنده انتخاب و پس از توزین، ذبح شدند و وزن لاشه، چربی محوطه شکمی، سینه، ران، بال، تیموس و بورس فابریسیوس اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال در روزهای ۸ و ۲۲ پرورش، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی در PBS با استفاده از سرنگ انسولین به عضله سینه تمام جوجه‌ها در همه واحدهای آزمایشی تزریق شد (Grasman, 2010) و خون‌گیری از جوجه‌ها جهت اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش انجام گرفت. برای اندازه‌گیری عیار Anti-SRBC، ۲۵ میکرولیتر از محلول ۰/۲۵ درصد گلبول قرمز به همه چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. نتیجه مثبت زمانی است که حداقل در ۵۰ درصد از SRBC، آگلوتیناسیون مشاهده شود (Grasman, 2010). برای اندازه-گیری عیار ایمونوگلوبولین G ابتدا مانند مراحل ذکر شده، سیستم کمپلمان غیرفعال شده و سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه سرم جوجه با ۲۵ میکرولیتر محلول ۰/۲ مولار ۲-مرکاپتواتانول به مدت یک ساعت انکوبه شد. از آن جایی که ایمونوگلوبولین M به ۲- مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود با افزودن این ماده می‌توان ایمونوگلوبولین M را حذف کرده و عیار مشاهده شده نشان-دهنده میزان ایمونوگلوبولین G است. سایر مراحل مانند محاسبه عیار Anti-SRBC انجام شد. از تفاضل عیار ایمونوگلوبولین G از عیار Anti-SRBC، عیار ایمونوگلوبولین M بدست آمد. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی سلولی در روز ۱۶ پرورش، دو جوجه از هر قفس به طور تصادفی انتخاب و پس از رنگ‌آمیزی بال، مقدار ۰/۱ سی‌سی از محلول ۰/۲ درصد PHA-P که قبلاً با PBS رقیق شده بود به وسیله سرنگ انسولین در چین پوستی بال سمت چپ جوجه‌ها تزریق شد. به عنوان شاهد، مقدار ۰/۱ سی‌سی از محلول PBS نیز به چین پوستی بال سمت راست جوجه‌ها تزریق شد و بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت، تورم ناشی از تزریق به وسیله دستگاه کولیس اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از فرمول، شاخص تحریک اندازه‌گیری شد (Grasman, 2010).

به منظور بررسی نتایج اثر سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر عملکرد (مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن و ضریب تبدیل) و پاسخ ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد و نتایج بدست آمده با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین گروه‌ها برای صفات مورد نظر از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید در مقایسه با شاهد و پروبیوتیک کلوستات بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. خوراک مصرفی روزانه در تمام گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده مکمل نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد و پروبیوتیک کلوستات کمتر بود ($P<۰/۰۵$). افزودن نوکلئوتید و پروبیوتیک کلوستات اثر معنی‌داری بر میانگین افزایش وزن روزانه نداشت ($P>۰/۰۵$). همه گروه‌هایی که مکمل نوکلئوتید دریافت کردند ضریب تبدیل خوراک کمتری نسبت به گروه شاهد و پروبیوتیک داشتند ($P<۰/۰۵$).

در آزمایش حاضر، خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی با افزایش سطح افزودن نوکلئوتید به جیره کاهش یافت. در حالی که قبلاً گزارش شده است که افزودن سطوح ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ گرم در تن

نوکلئوتید اثری بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در سنین ۷، ۲۱ و ۴۲ روزگی ندارد (Pelicia *et al.*, 2010). همچنین در آزمایشی دیگر هیچ اثری از افزودن نوکلئوتید به جیره بر افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی مشاهده نشد (Jung and Batal, 2012). بر خلاف یافته‌های آزمایش حاضر، برخی محققین نشان دادند که استفاده از نوکلئوتیدها سبب افزایش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی شد (Rutz *et al.*, 2006). برخی تحقیقات نشان داده است سطوح مختلف پروبیوتیک بر مصرف خوراک روزانه در جوجه‌های گوشتی تاثیر نداشت (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Abudabos *et al.*, 2013). در آزمایش حاضر نیز گروه آزمایشی دریافت‌کننده پروبیوتیک کلوستات عملکردی مشابه با گروه شاهد نشان داد. در مقابل، تحقیق دیگری نشان داده است گروه‌هایی که پروبیوتیک کلوستات (CFU/ton $۱۰^{۸}$ و $۱۰^{۹}$) دریافت کرده بودند مصرف خوراک کمتری داشتند (Teo and Tan, 2007). تفاوت در نتایج گزارش‌های محققین مختلف در مورد پروبیوتیک ممکن است مربوط به تفاوت سویه میکروبی استفاده شده و اختلاف شرایط مدیریتی و محیطی آزمایش‌های مختلف باشد. پیشنهاد شده است که در شرایط محیطی مساعد اثر چنین افزودنی‌هایی ممکن است ناچیز باشد (Biggs *et al.*, 2007). عوامل متعددی می‌توانند بر میزان مصرف خوراک پرنده تأثیرگذار باشند که از آن جمله می‌توان به عوامل فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای، سلامت، میزان تولید و نوع پرنده اشاره کرد. از جمله عوامل تغذیه‌ای مؤثر بر مصرف خوراک می‌توان به عواملی مانند افزودنی‌های خوراکی، انرژی و پروتئین جیره، رنگ، بو و بافت جیره اشاره کرد (Blair *et al.*, 2008).

جدول ۱- اجزا و ترکیب جیره غذایی جوجه‌های گوشتی

Table 1. Ingredients and composition of broilers' diet

Ingredients (%)	Starter (1-10 days)	Growth (11-24 days)	Finisher (25-42 days)
Corn	54.04	57.08	62.56
Soybean meal	39.08	35.54	30.14
Dicalcium phosphate	2.03	1.81	1.65
Vegetable oil	2.33	3.29	3.49
Calcium carbonate	1.04	0.94	0.86
Common salt	0.23	0.27	0.25
Sodium bicarbonate	0.15	0.10	0.13
Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25
Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25
DL- Methionine	0.30	0.26	0.23
L- Lysine HCl	0.21	0.16	0.16
L- Threonine	0.09	0.05	0.04
Total	100	100	100
Calculated analysis			
Metabolizable energy (kcal/kg)	2780	3000	3100
Crude protein (%)	22	20.8	18.9
Digestible Arginine (%)	1.37	1.21	1.08
Digestible Lysine (%)	1.34	1.13	1.00
Digestible Methionine (%)	0.63	0.57	0.52
Digestible Methionine + Cysteine (%)	0.99	0.85	0.78
Digestible Threonine	0.82	0.75	0.67
Calcium (%)	0.96	0.87	0.78
Available phosphorus (%)	0.48	0.44	0.39
Na (%)	0.15	0.16	0.16
Cl (%)	0.22	0.24	0.24

[1] Vitamin premix provide Vitamin A 9000 IU/g. Vitamin E 18 IU/g. Vitamin K_3 2 mg, Vitamin B_1 1.8 mg, Vitamin B_2 6.6 mg. Vitamin B_3 30 mg. Vitamin B_6 3 mg, Vitamin B_7 0.1 mg, Vitamin B_{12} 0.015 mg, Choline chloride 500 mg, Ca pantothenate 10 mg and Folic acide 1 mg in one kilogram diet. [2] Mineral premix provide Mn (Mno_4) 100 mg, Zn (ZnO) 100 mg, Cu ($CuSo_4$) 10 mg, I (CaI) 1 mg, Se 0.2 mg and Fe ($FeSo_4$) 50 mg in one kilogram diet.

در تحقیقی گزارش شد که استفاده از پروبیوتیک کلوستات در افزایش وزن روزانه در دوره‌های پرورش اثری نداشت (Abudabos *et al.*, 2013). در نتایج تحقیق حاضر نیز گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک کلوستات در مقایسه با شاهد تفاوتی از نظر افزایش وزن از خود نشان نداد. هر چند در تحقیقی دیگر نشان داده شد که استفاده از نوکلئوتیدها سبب افزایش وزن بدن در جوجه‌های گوشتی شده است (Rutz *et al.*, 2006) و نیز در یک بررسی دیگر نشان دادند که گروه‌های آزمایشی مصرف‌کننده مکمل غنی از نوکلئوتید در مقایسه با گروه شاهد در جوجه‌های گوشتی افزایش وزن بیشتری از خود نشان دادند (Wang *et al.*, 2009). در مقابل برخی تحقیقات نشان داده است که استفاده از ۵۰۰ گرم در تن نوکلئوتید در جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر افزایش وزن نداشت (Pelicia *et al.*, 2010). یکی از دلایل احتمالی کاهش رشد و مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف نوکلئوتید در آزمایش حاضر می‌تواند به بالا رفتن مقادیر نوکلئوتیدهای اضافی در بدن مربوط باشد. محصول نهایی کاتابولیسم اسیدهای نوکلئیک در بدن، اسید اوریک و مقداری آلانتیون است که جزء مواد دفعی از بدن هستند و پرنده جهت دفع این مواد به خارج از بدن خود احتیاج به صرف انرژی دارد. بنابراین با افزایش سطح نوکلئوتید در جیره ممکن است بار متابولیکی زیادی بر بدن وارد شده و هزینه انرژی در بدن افزایش یابد.

تحقیقات نشان داده است استفاده از پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی بر ضریب تبدیل خوراک اثری نداشت (Abudabos *et al.*, 2013). نتایج تحقیقاتی دیگر نشان داد جوجه‌های گوشتی که با جیره‌های حاوی نوکلئوتید که از عصاره مخمر تغذیه شده بودند دارای ضریب تبدیل بهتری بودند (Tipa, 2002). گزارشات دیگر، بهبود ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی را تائید کردند و علت آن را به تاثیر مفید نوکلئوتیدهای موجود در عصاره مخمر نسبت دادند (Rutz *et al.*, 2006). در تحقیقات دیگری گزارش شده است که در جوجه‌های گوشتی، گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده مکمل حاوی نوکلئوتید در قیاس با گروه شاهد در دوره پایانی و همچنین کل دوره ضریب تبدیل بهتری داشتند (Wang *et al.*, 2009). عصاره مخمر علاوه بر نوکلئوتیدها مواد مغذی دیگری مانند آمینواسید، ویتامین و مواد معدنی دارد که ممکن است به بهبود ضریب تبدیل کمک کنند (Rutz *et al.*, 2006). گزارش شده است که *ساکارومایسس سرویزیه* با تحریک میکروب‌های مفید دستگاه گوارش، استفاده از مواد غذایی را بهبود می‌بخشد (Kocher *et al.*, 2004). نوکلئوتیدها سبب بهبود ویژگی‌های خوراک از راه توسعه روده، بهبود سیستم ایمنی و بهبود عملکرد در حیوانات جوان می‌شوند (Gardiner *et al.*, 1995). تحقیقات نشان داده است استفاده از نوکلئوتید در افزایش توسعه روده در انسان (Sanchez Pozo and Gil, 2002) و خوک (Martinez-Puig *et al.*, 2007) موثر بوده است. از آنجایی که ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر دو عامل افزایش وزن و خوراک مصرفی است، با توجه به نتایج تحقیق حاضر که مصرف خوراک روزانه در گروه‌هایی که نوکلئوتید دریافت کرده بودند کمتر بود، در نتیجه این گروه‌ها دارای ضریب تبدیل کمتری بودند.

نتایج نشان داد که اثر گروه‌های آزمایشی مختلف بر صفات لاشه و اندام‌های داخلی بدن معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). تحقیقات نشان داده است که استفاده از پروبیوتیک کلوستات در جوجه‌های گوشتی بر وزن قطعات لاشه و اندام‌های داخلی بدن اثری نداشت (Abudabos *et al.*, 2013). گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی که از عصاره مخمر همراه با نوکلئوتیدها تغذیه شدند بهبود عملکرد لاشه و افزایش وزن ران و بال داشتند (Rutz *et al.*, 2006). عصاره مخمر علاوه بر نوکلئوتیدها مواد مغذی دیگری مانند آمینواسید، ویتامین و مواد معدنی دارد که ممکن است به بهبود عملکرد لاشه کمک کنند (Rutz *et al.*, 2006). نوکلئوتیدها مواد مغذی هستند که در بهبود عملکرد روده، عضلات اسکلتی و قلب نقش دارند (Grimble and Westwood, 2000). بر خلاف این گزارشات، در تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری در لاشه و

اندام‌های داخلی بدن مشاهده نشد. نوکلئوتیدها در شکل غیرآزاد و یا در شکل اسید نوکلئیک تمایل دارند پایدار باشند و به سختی هضم می‌شوند (Borda *et al.*, 2003). تفاوت در نتایج مربوط به آثار نوکلئوتیدها در جیره بر عملکرد رشد یا لاشه جوجه‌های گوشتی می‌تواند با سایر ترکیبات موجود در این مکمل‌ها مرتبط باشد. در خصوص پروفیل اسیدهای آمینه این محصول اطلاعاتی وجود ندارد. همچنین بخشی از اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌های با منشا میکروبی به فرم اسیدهای آمینه D هستند، در حالی که تنها اسیدهای آمینه فرم L می‌توانند در بدن موجودات زنده به راحتی هضم و جذب شده و مورد استفاده بدن قرار بگیرند (Sanchez Pozo and Gil, 2002).

نتایج مربوط به اثر پروبیوتیک کلوستات و سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر میانگین عیار Anti-SRBC کل، IgG و IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش نشان داد که در روزهای ۲۱ و ۴۲ پرورش، عیارهای Anti-SRBC کل، IgG و IgM تحت تاثیر گروه‌های آزمایشی مختلف قرار نگرفت (P>۰/۰۵، جدول ۴).

در روز ۲۸ پرورش، گروه‌های آزمایشی پروبیوتیک کلوستات و۴۰۰ و ۵۰۰ گرم نوکلئوتید دارای عیار پادتن کل علیه SRBC بیشتری نسبت به گروه شاهد بودند (P<۰/۰۵). عیار IgG در گروهی که ۵۰۰ گرم در تن نوکلئوتید دریافت کرده بود نسبت به گروه‌های شاهد و ۶۰۰ گرم در تن نوکلئوتید بالاتر بود (P<۰/۰۵)، ولی نسبت به گروه پروبیوتیک کلوستات اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در همین روز، گروه‌های آزمایشی پروبیوتیک کلوستات و ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن نوکلئوتید، عیار IgM بالاتری داشتند (P<۰/۰۵). در ۳۵ روزگی، گروه‌های آزمایشی ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن نوکلئوتید، نسبت به بقیه گروه‌ها دارای عیار پادتن کل علیه SRBC، IgG و IgM بالاتری بودند (P<۰/۰۵).

جدول ۲- اثر پروبیوتیک کلوستات و سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of probiotic CloSTAT and different levels of enriched nucleotide supplement on performance of broilers

Treatments	Average daily feed intake (g)	Body weight gain (g)	Feed conversion ratio
Control	98.2[a]	50.7[ab]	1.93[a]
Probiotic CloSTAT	99.8[a]	51.1[ab]	1.95[a]
Nucleotide (400 g/ton)	89.7[b]	53.4[a]	1.67[b]
Nucleotide (500 g/ton)	83.3[bc]	51.4[ab]	1.62[b]
Nucleotide (600 g/ton)	79.4[c]	49.0[b]	1.62[b]
SEM	2.18	0.40	0.035
P-value	0.001	0.004	0.001

Means within the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

جدول ۳- اثر پروبیوتیک کلوستات و سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر درصد اجزای لاشه جوجه های گوشتی

Table 3. Effect of probiotic CloSTAT and different levels of enriched nucleotide supplement on carcass compartments of broilers

Treatments	Carcass efficiency	Thigh	Breast	Wing	Abdominal fat	Bursa of Fabricius	Thymus
Control	61.65	31.32	37.55	8.45	1.31	0.12	0.22
Probiotic CloSTAT	61.32	30.29	38.62	8.21	1.19	0.13	0.25
Nucleotide (400 g/ton)	63.13	31.04	38.64	8.64	1.12	0.11	0.38
Nucleotide (500 g/ton)	62.48	31.07	39.06	8.53	0.96	0.14	0.35
Nucleotide (600 g/ton)	61.81	32.02	37.66	8.52	1.21	0.13	0.27
SEM	0.28	0.21	0.32	0.09	0.04	0.006	0.01
P-value	0.75	0.47	0.67	0.17	0.11	0.08	0.06

جدول ۴- اثر پروبیوتیک کلوستات و سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر پاسخ‌های ایمنی بر علیه SRBC در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش

Table 4. Effect of probiotic CloSTAT and different levels of enriched nucleotide supplement on antibody responses to sheep red blood cell (SRBC) on days 21, 28, 35 and 42 of age

Treatments	Day 21	Day 28	Day 35	Day 42
		Total Anti-SRBC		
Control	1.00	3.20[c]	3.80[b]	2.40
Probiotic CloSTAT	1.10	5.20[b]	4.50[b]	2.20
Nucleotide (400 g/ton)	1.60	6.60[a]	6.60[a]	2.80
Nucleotide (500 g/ton)	1.60	6.90[a]	6.10[a]	2.40
Nucleotide (600 g/ton)	1.20	3.40[c]	3.60[b]	1.70
SEM	0.21	0.25	0.19	0.12
P-value	0.33	0.0001	0.0001	0.48
		IgG		
Control	0.30	2.30[b]	2.10[bc]	1.5
Probiotic CloSTAT	0.50	2.60[ab]	2.50[b]	0.9
Nucleotide (400 g/ton)	0.40	3.40[ab]	3.50[a]	1.5
Nucleotide (500 g/ton)	0.40	4.70[a]	3.30[a]	1.3
Nucleotide (600 g/ton)	0.40	1.70[b]	1.60[c]	0.5
SEM	0.11	0.26	0.12	0.11
P-value	0.45	0.03	0.001	0.11
		IgM		
Control	0.70	0.90[c]	1.70[c]	0.90
Probiotic CloSTAT	0.60	2.60[ab]	2.00[bc]	1.30
Nucleotide (400 g/ton)	1.20	3.20[a]	3.10[a]	1.30
Nucleotide (500 g/ton)	1.20	2.20[ab]	2.80[ab]	1.10
Nucleotide (600 g/ton)	0.80	1.70[bc]	2.00[bc]	1.20
SEM	0.13	0.17	0.12	0.11
P-value	0.57	0.02	0.003	0.41

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

میزان آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه SRBC نشان‌دهنده وضعیت سیستم ایمنی هومورال است (Grasman, 2010). افزایش ایمونوگلوبولین‌های خون می‌تواند نشان‌دهنده پاسخ ایمنی بهتر جوجه‌های گوشتی باشد (Yang *et al.*, 2012). تغییرات عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تاثیر روش تزریق آنتی‌ژن، سن و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها باشد (Yang *et al.*, 2012). گزارش شده است که پروبیوتیک‌های بر پایه *باسیلوس سوبتلیس* عملکرد جوجه‌های گوشتی را از راه مکانیسم‌هایی مانند تحریک سیستم ایمنی بهبود بخشند (Teo and Tan, 2007). تحقیق دیگری نشان داد ۰/۱ درصد پروبیوتیک کلوستات در جوجه‌های گوشتی سبب بهبود پاسخ ایمنی شد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۴). گزارش شده است که نوکلئوتیدها سبب بهبود سیستم ایمنی بدن در انسان و خوک می‌شوند (Grimble and Westwood, 2000). نوکلئوتیدها سبب بهبود ویژگی‌های خوراک از راه توسعه روده‌ای، بهبود سیستم ایمنی و بهبود عملکرد در حیوانات جوان می‌شوند (Gardiner *et al.*, 1995). نتایج این آزمایش با تحقیقات پیشین منطبق است. گزارش‌هایی نیز مبنی بر افزایش تاثیر محصولات مخمری بر سیستم ایمنی گونه‌های مختلف طیور مثل بوقلمون (Cetin *et al.*, 2005)، جوجه-های گوشتی (Gao *et al.*, 2009) و مرغ‌های تخم‌گذار (Lensing, 2012) وجود دارد. بسیاری از محصولات مشتق شده از مخمر در صنعت طیور استفاده می‌شوند. محصولات مشتق شده مخمر عمدتاً حاوی اجزای دیوار سلولی مانند بتا ۱،۳، بتا ۱، ۶ گلوکان، مانان‌الیگوساکارید (MOS) یا نوکلئوتیدها هستند (Klis *et al.*, 2006). عملکرد نوکلئوتیدها بر ایمنی به وضوح مشخص نیست، اما شواهدی

وجود دارد مبنی بر اینکه مکمل نوکلئوتیدی، کان‌کاناوالین A و تکثیر سلول‌های طحال را در مقابل آنتی‌ژن‌ها در موش افزایش می‌دهد (Adjei *et al.*, 1999). سلول‌های مهم دستگاه ایمنی مثل لوکوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و سلول مخاطی روده با توجه به سوخت و ساز سلولی و حجم بالای واکنش سریع، همچنین نیاز بالای آن‌ها به نوکلئوتید، ظرفیت بسیار محدودی برای ساخت نوکلئوتید دارند. تهیه نوکلئوتید در این سلول‌ها از منبع خارجی برای انجام وظایف طبیعی آن‌ها بسیار مهم است (Burrells *et al.*, 2001).

نتایج حاصل از آثار سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر میزان پاسخ ایمنی سلولی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق زیرجلدی PHA-P در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی داده‌های مربوط به حساسیت پوستی نسبت به PHA-P نشان داد که اثر گروه‌های آزمایشی بر میزان پاسخ ایمنی سلولی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). گزارش شده است که مخمرهای همراه نوکلئوتیدها سبب بهبود دستگاه گوارش و سیستم ایمنی سلولی در ماهی شده است (Lin *et al.*, 2009; Shiau *et al.*, 2015). نتایج این تحقیقات با نتایج آزمایش حاضر در مورد پاسخ ایمنی سلولی در طیور مطابقت ندارد. این اثر متفاوت می‌تواند به علت تفاوت در گونه حیوانی مورد مطالعه باشد. همچنین در آزمایش حاضر، تحریک ایمنی یا تنشی برای جوجه‌های گوشتی وجود نداشت. برای درک بهتر آثار مکمل نوکلئوتیدی بر عملکرد و ایمنی پرنده لازم است آزمایشات بیشتری صورت گیرند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی می‌توان گفت تمام سطوح نوکلئوتید بکار رفته در این تحقیق سبب کاهش مصرف خوراک روزانه و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد، اما روی اجزای لاشه و اندام‌های داخلی اثر معنی‌داری نداشت. سطوح نوکلئوتید استفاده شده بر ایمنی سلولی بی‌اثر بود، اما سطوح ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن مکمل غنی از نوکلئوتید در جیره سبب تقویت سیستم ایمنی هومورال شد.

جدول ۵- اثر پروبیوتیک کلوستات و سطوح مختلف مکمل غنی از نوکلئوتید بر پاسخ پوست بال به تزریق داخل پوستی فیتوهماگلوتینین

Table 5. Effect of probiotic CloSTAT and different levels of enriched nucleotide supplement on PHA-P stimulation index

	Stimulation index (mm)*	Stimulation index (mm)
	24 h	48 h
Control	0.26	0.32
Probiotic CloSTAT	0.41	0.32
Nucleotide (400 g/ton)	0.42	0.36
Nucleotide (500 g/ton)	0.26	0.39
Nucleotide (600 g/ton)	0.33	0.26
SEM	0.03	0.03
P-value	0.60	0.30

فهرست منابع

اکبری م.، کرمانشاهی ح.، و کلیدری غ. ۱۳۸۳. بررسی افزودن اسید استیک در آب آشامیدنی بر عملکرد، شاخص‌های رشد و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۳۷: ۱۳۹-۱۴۶.

سلطانی م.، مظهری م.، و اسماعیل‌پور ا. ع. ۱۳۹۴. اثر سطوح گوناگون پروبیوتیک کلوستات بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی در دوره پایانی. تولیدات دامی، ۱۷(۲): ۲۹۱-۳۰۰.

Abudabos A., Alyemni A. and Al Marshad B. A. 2013. *Bacillus subtilis* PB6 based-probiotic (CloSTAT^{TM}) improves intestinal morphological and microbiological status of broiler chickens under *Clostridium perfringens* challenge. International Journal of Agricultural Biology, 6: 978-982.

Adjei A. A., Jones J. T., Enriquez F. J. and Yamamoto S. 1999. Dietary nucleosides and nucleotides reduce *cryptosporidium parvum* infection in dexamethasone immunosuppressed adult mice. Experimental Parasitology, 92(3): 199-208.

Berg J. M., Tymoczko J. L., Gatto G. J. and Stryer L. 2015. Biochemistry. 8th Ed. WH Freeman., New York.

Biggs P., Parsons C. M. and Fahey G. C. 2007. The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. Poultry Science, 86(11): 2327-2336.

Blair R. 2008. Nutrition and feeding of organic poultry. CAB International, Wallingford, Oxford shire.

Borda E., Martinez-Puig D. and Cordoba X. 2003. A balanced nucleotide supply makes sense. Feed Mix, 11, 24-26.

Burrells C., Williams P. D. and Forno P. F. 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. (1) Effects on resistance to disease in salmonids. Aquaculture, 199: 159-169.

Cetin N., Guclu B. and Cetin B. 2005. The effect of probiotic and mannanoligosaccharide on some haematological and immunological parameters in turkeys. Journal of Veterinary Medicine Series A, (52): 263-267.

Cosgrove M. 1998. Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. Nutrition, 14: 748-751.

Gao J., Zhang H. J., Wu S. G., Yu S. H., Yoon I., Moore D., Gao Y. P., Yan H. J. and Qi G. H. 2009. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on immune functions of broilers challenged with *Eimeria tenella*. Poultry Science, 88(10): 2141-2151.

Gardiner K. R., Kirk S. J. and Rowlands B. J. 1995. Novel substrates to maintain gut integrity. Nutrition Research Reviews, 8: 776-782.

Geyra A., Uni Z. and Sklan D. 2001. Enterocyte dynamic and mucosal development in the posthatch chick. Poultry Science, 80(6): 776-782.

Gil A. 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. European Journal of Clinical Nutrition, 56 Suppl. 3: S1-S4.

Grasman K. A. 2010. *In vivo* functional tests for assessing immunotoxicity in birds. In: RR. dietert (Ed.), Immunotoxicity Testing, Methods and Protocols, Methods in Molecular biology. 1st edn. Humana press. New York, pp. 387-397.

Grimble G. and Westwood O. M. 2001. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 4: 57-64.

Jung B. and Batal A. B. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. British Poultry Science, 53(1): 98-105.

Kabir S. M. L., Rahman M. M, Rahman M. B, Rahman M. M, and Ahmed S. U. 2014. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science, 3: 361-364.

Klis F. M., Boorsma A. and De Groot P. W. 2006. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast, 23(3): 185-202.

Kocher A., Canolly A., Zawadzki J. and Gallet D. 2004. The challenge of finding alternative to antibiotic growth promoters. International Society for Animal Hygiene-Saint Malo, 227-229.

Lensing M., van der Klis J. D.,Yoon I. and Moore D. T. 2012. Efficacy of *Saccharomyces cerecvisae* fermentation product on intestinal health and productivity of coccidian-challenged laying hens. Poultry Science, 91(7): 1590-1597.

Lerner A. and Shamir R. 2000. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. Israel Medical Association Journal, 2: 772-774.

Lin Y. H., Wang H. and Shiau S. Y. 2009. Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture Nutrition, 15: 117-122.

Martinez-Puig D., Manzanilla E. G., Morales J., Borda E., Perez J. F., Pineiro C. and Chetrit C. 2007. Dietary nucleotide supplementation reduces occurrence of diarrhoea in early weaned pigs. Livestock Science, 180: 276-279.

Pelicia V. C., Sartori J. R., Zavarize K. C., Pezzato A. C., Stradiotti A. C., Araujo P. C., Mituo M. A. O. and Madeira L. A. 2010. Effect of nucleotides on broiler performance and carcass yield. Brazilian Journal of Poultry Science, 12: 31-34.

Rutz F., Anciuti M. A, Rech J. L, Goncalves F. M, Delgado A. D, Rosa E. R, Zauk N., Ribeiro C. L. G, Silva R. R. and Dallmann P. R. 2006. Performance and carcass traits of broilers fed diets containing yeast extract. Ciencia Animal Brasileira, 7: 349-355.

Salehimanesh A., Mohammadi M. and Roostaei-Alimehr M. 2015. Effect of dietary probiotic, prebiotic and symbiotic supplementation on performance, immune responses, intestinal morphology and bacterial populations in broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100: 694-700.

Sanchez Pozo A. and Gil A. 2002. Nucleotides as semiessential nutritional components. British Journal of Nutrition, 87: 135-137.

Shiau S. Y.,Gabaudan J. and Lin Y. H. 2015. Dietary nucleotide supplementation enhances immune responses and survival to *Streptococcus iniae* in hybrid tilapia fed diet containing low fish meal. Aquaculture Reports, 2: 77-81.

Teo A. Y. L. and Tan H. M. 2007. Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broilers fed on corn-soy diets supplemented with *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT). Journal of Applied Poultry Research, 16: 296-303.

Tipa C. 2002. Production performance of broilers fed yeast extract as a partial or total replacement for fishmeal. DVM Thesis, Univ of Phillippines at Los Banos. Laguna.

Wang Z., Cerrate S., Coto C., Sacakli P., Yan F., Costa F. G. P. and Waldroup P. W. 2009. Evaluation of Nupro® yeast product in diets for broilers. International Journal of Poultry Science, 8: 515-520.

Animal Production Research

Vol. 8, No. 3, 2019 (1-11)

University of Guilan

Research paper

Effect of enriched nucleotide supplement on growth performance and immune responses in broilers

M. Heidari[1], M. Mohammadi[2]*, M. Mohiti-Asli[2]

1. MSc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 16-04-2019 – Accepted: 12-06-2019)

Abstract

This research was conducted to evaluate the effects of different levels of nucleotide supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens. An experiment was conducted as a completely randomized design using 300 day-old male chicks, were divided into five treatments with five replicates and 12 chicks in each replicate. The treatments consisted of the basal diet without additives (control), the basal ration + 500 g/ton of probiotic CloSTAT, basal diet + 400, 500 and 600 g/ton enriched nucleotide supplement, respectively. Daily feed intake, daily body weight gain and feed conversion ratio were measured at the end of each period. Humoral and cellular immunities were evaluated by intramuscular injection of sheep red blood cell (SRBC) and intradermal injection of phytohemagglutinin-P (PHA-P) in wing, respectively. The results indicated that all levels of the nucleotide reduced the daily feed intake (89.7, 83.3 and 79.4 *vs.* 98.2 g, respectively) and improved feed conversion ratio (1.67, 1.62 and 1.62 *vs.* 1.93, respectively; $P<0.05$). On day 28, probiotic CloSTAT and 400 and 500 g/ton of nucleotide had higher levels of total anti-SRBC (5.20, 6.60 and 6.90 *vs.* 3.20) and IgM (2.60, 3.20 and 2.20 *vs.* 0.90; $P<0.05$). On day 35, the treatments of 400 and 500 g/ton nucleotide have higher total anti-SRBC (6.60 and 6.10 *vs.* 3.80 and 4.50), IgG (3.50 and 3.30 *vs.* 2.10 and 2.50) and IgM (3.10 and 2.80 *vs.* 1.70 and 2.00) than the control group and probiotic CloSTAT ($P<0.05$). Cell immunity in response to PHA-P injection was not affected by treatment groups ($P>0.05$). It is concluded that consumption of 400 and 500 g/ton enriched nucleotide supplement in the diet has beneficial effects on performance and immune responses of broiler chicks.

Keywords: Immune response, Broiler chicks, Performance, Nucleotide

*Corresponding author: mohammadi@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2019.13016.1402