دور كبريتات الزنك المائية في تحسين مستوى بروتينات الدم والاستجابة المناعية لمرض النيوكاسل في فروج اللحم تحت ظروف الاجهاد الحراري

The Role of Zinc Sulfate in improving the blood proteins and immune response to Newcastle disease in broiler under heat stress

سجى حسين الربيعي رعد حاتم رزوقي بشرى محمد واثق محمد جبار احمد عقيل عبد الله رزوقي
وزارة العلوم والتكنولوجيا
Al-Rubaee S.H. Razooqee R.H. Watheq B.M. Ahmad M.J. Razooqee A.A.
Ministry Of Science and Technology

المستخلص

استهدفت الدراسة معرفة تأثير اضافة كبريتات الزنك وبتراكيز مختلفة على المستوى المناعي لفروج اللحم المربى تحت ظروف الاجهاد الحراري حيث استخدم 120 فرخ فروج لحم نوع روز محلي وبمتوسط وزن ابتدائي 38 غم/فرخ ، وزعت الافراخ عشوائيا"الى خمس معاملات تغذوية 24 طير/معاملة وبواقع ثلاث مكررات/ معاملة 8 طير/ مكرر وكانت المعاملات كالآتي :
T1: غذيت على عليقة اعتيادية بدون اضافات (معاملة السيطرة) ، T2: غذيت على عليقة اعتيادية + 30 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف ، T3: غذيت على عليقة اعتيادية + 45 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف،
T4: غذيت على عليقة اعتيادية + 60 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف ، T5: غذيت على عليقة اعتيادية + 75 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف . جمعت عينات الدم خلال مدة التجربة بعمر 5، 15، 25، 42 يوم لقياس تراكيز الزلال البعدي Post Albumin والكلوبيولين المناع ي γ- Globulin ومعيار الاجسام المضادة في المصل ضد مرض النيوكاسل ، وقد اظهرت النتائج تفوقا"معنويا" P≤0.05 للمعاملتين T2،T3 في تركيز الكلوبيولين المناعي ومعيار الاضداد لمرض النيوكاسل وانخفاضا" معنويا" P≤0.0 في تركيز الزلال البعدي مقارنة مع باقي المعاملات. من هذا نستنتج اهمية الزنك في تحسين الحالة المناعية ومقاومة فروج اللحم المربى تحت ظروف الاجهاد الحراري .

الكلمات المفتاحية : كبريتات الزنك ، بروتينات الدم ، معيار الاجسام المضادة ، الاجهاد الحراري ، فروج اللحم

Abstract

The study aimed to determine the effect of zinc sulfate supplementation in different levels on blood proteins and immune status in broilers, (120) broiler chicks one day old were used with (38) gr. Initial weight divided randomly into (5) treatment groups (24 chick/each) with 3 replicates (8 chick /each) . The dietary treatment groups were:
T1: ordinary diet (control), T2: ordinary diet +30 mg/kg Zinc sulfate, T3: ordinary diet +45 mg/kg Zinc sulfate, T4: ordinary diet +60 mg/kg Zinc sulfate, T5: ordinary diet +75 mg/kg Zinc sulfate. The blood samples were collected at 5, 15, 25, 42 day of study for detecting the post albumin, γ_ globulin, and antibody titration for Newcastle disease in serum. The results showed that there were significant increase P≤0.05 in γ_ globulin and antibody titration for ND in the serum of T2, and T3 and with significant decrease P≤0.05 in post albumin compared with the rest treatments. Hence the study showed that the zinc sulfate is important for improving immune status and disease resistance in broiler under heat stress.

Key words: Zinc Sulfate, blood proteins, ND abs titration, heat stress, broiler

المقدمة

يعتبر الاجهاد الحراري من المشاكل الحقيقية التي تواجه صناعة الدواجن حيث يتسبب بكثير من العواقب الوخيمة التي تؤدي في النهاية الى الكثير من الخسائر المادية غير المتوقعة ، والاجهاد الحراري هو انعدام قدرة الطائر على تنظيم درجة حرارة الجسم مما يتناسب مع الحالة الطبيعية مما يعرض الطائر الى ضغط كبير ينتج عنه بشكل عام انخفاض مناعة الطائر بالاضافة الى تغييرات فيزيولوجية اخرى خطيرة على الحالة العامة للطائر .تعتبر العناصر المعدنية ضرورية جداً من اجل الفعالية المناعية ومقاومة الامراض [1] ومن هذه المعادن الزنك حيث يعتبر من العناصر الحرجة المهمة في فعالية الجسم [2] وتتركز اهمية الزنك الحيوية في المقام الاول على الدور الذي يلعبه في نشاط الانزيمات الحيوية فقد وجد [3] ان الزنك ضروري لفعالية اكثر من 70 انزيم من الانواع المختلفة والتي تشمل على الاقل واحداً من كل تقسيم رئيسي للانزيمات مثل Alcohol and glutamic dehydrogenase, Carbonic anhydrase, Alkaline phosphatase, Carboxy peptidase فضلا" عن ذلك فأن للزنك دوراً فعالاً في أيض الاحماض النووية وتكوين البروتينات [4]. ويعد عنصر الزنك من المعادن الضرورية التي تدخل العديد من مسارات الايض المهمة للنمو والحياة [1] حيث اشارت [5] الى ان احتياج دجاج اللحم من الزنك هي 40PPM. كما يدخل الزنك في تطوير الجهاز المناعي للحيوانات [6] حيث ان نقصه يسبب انخفاض المناعة الخلوية مع انخفاض تطور الغدة التوثية (Thymus) والطحال (Spleen) وإنتاج Interleukins [7] كما ان نقصه يسبب اصابات بكتيرية وطفيلية وفقر الدم المنجلي. [2] كما اشار [8] الى ان نقص الزنك في العليقة يؤدي الى تقليل استجابة الخلايا اللمفية نوع T للمسببات المرضية كما قد يسبب نقصه آفات في الاعضاء اللمفية في جسم الطائر مع تغيير في الخلايا

اللمفية [9] لذلك يعمد المربين الى اضافة الزنك الى العليقة من اجل تحسين الحالة المناعية للطيور حيث يعمل على زيادة الخلايا التوتية وخلايا اللمفية نوع T [10] ويعمل على زيادة انتاج خلايا العدلة والاجسام المناعية وزيادة فعالية الخلايا البلعمية [11]. الهدف من هذا البحث هو تحديد تأثير كبريتات الزنك المائية في تحسين مستوى بروتينات الدم والاستجابة المناعية لمرض النيوكاسل في فروج اللحم تحت ظروف الاجهاد الحراري.

مواد وطرائق العمل

اجريت الدراسة في حقل الدواجن التابع لمركز الثروة الحيوانية والسمكية/ دائرة البحوث الزراعية في وزارة العلوم والتكنولوجيا وللفترة من2011/8/5 ولغاية 2011/9/18 واستخدم فيها 120 فرخ دجاج لحم نوع Rose المحلي بعمر يوم واحد تم تقسيمها الى خمس معاملات 24 طير وبواقع ثلاث مكررات 8 طير للمكرر الواحد للمعاملة الواحدة ووضعت في اقفاص مساحة كل قفص 1×1 م^2 ووزعت المعاملات عشوائياً على الاقفاص وكانت معاملات التجربة كالآتي:

T1: غذيت على عليقة اعتيادية بدون اضافات (معاملة السيطرة).

T2: غذيت على عليقة اعتيادية +30 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف.

T3: غذيت على عليقة اعتيادية + 45 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف.

T4: غذيت على عليقة اعتيادية + 60 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف.

T5: غذيت على عليقة اعتيادية + 75 ملغم من كبريتات الزنك المائية /كغم علف.

غذيت الافراخ بصورة حرة طيلة فترة الدراسة على عليقة بادئ Starter Diet من عمر يوم واحد إلى عمر 21 يوماً تحتوي على 20.15% بروتين خام وطاقة ممثلة 2950 كيلوسعرة/كغم علف. عليقة نهائية Finisher Diet من عمر 22 يوماً إلى عمر 42 يوماً، تحتوي على 18% بروتين خام وطاقة ممثلة 3152.2 كيلوسعرة/كغم علف. جدول (1) يوضح النسب المئوية للمواد المستخدمة في عليقة التجربة والتركيب الكيميائي المحسوب.

جدول (1): النسب المئوية للمواد الداخلة في عليقة التجربة والتركيب الكيميائي المحسوب.

المادة العلفية	عليقة البادئ%	عليقة النهائي%
ذرة صفراء	64.750	73.4
كسبة فول الصويا	31	23
بريمكس	3	3
زيت الذرة	0.250	0.5
كلس	0.7	0.7
ملح	0.3	0.3
المجموع الكلي	100	100

عند وصول الأفراخ في الصناديق وقبل توزيعها عشوائياً إلى الأكنان لقحت الأفراخ بلقاح الالتهاب الشعبي المعدي IB نوع H120 عن طريق الرش ثم وزعت عشوائياً على المعاملات. واتبع البرنامج الوقائي والصحي المعمول به في العراق. تم قياس درجات الحرارة الساعة الثامنة صباحا" والثامنة مساءا" بواسطة محارير خاصة وزعت في اماكن مختلفة من القاعة بشكل يومي وتم استخراج معدل درجة الحرارة اسبوعيا"طيلة فترة التجربة وكانت درجات الحرارة كما موضحة في جدول (2) .

جدول (2): معدل درجات حرارة القاعة خلال مدة التجربة (مo)

درجة الحرارة / الاسبوع	نهاراً	ليلاً
الاول	45±1.3	40±1.4
الثاني	42±1.05	39±1.9
الثالث	41±1.6	39.7±1.5
الرابع	40±0.9	37.8±1.9
الخامس	38.4±0.75	35.7±1.9
السادس	36.5±1.8	33.4±0.8

الارقام تمثل المعدل ±الخطأ القياسي

عينات الدم

تم جمع عينات الدم من الافراخ بعمر 25,15,5, 42 من الوريد الجناحي باستخدام المحقنة الطبية سعة 5مل وتم الحصول على المصل وذلك باستخدام جهاز الطرد المركزي لاستخدامها في الفحوص الاتية:

1- قياس مستوى بروتينات مصل الدم بتقنية الترحيل الكهربائي **Electrophoresis**

فصلت بروتينات مصل الدم بطريقة الهجرة الكهربائية باستخدام هلام ذي تركيزين 7،3% من مادة متعدد الاكرليمايد وباستخدام Disc-gel electrophoresis، وتم تحضير محاليل للهلام باتباع طرق الفصل الموصوفة من قبل الشركة المجهزة لمنظومة الفصل. وبعد ذلك قرأت تراكيز ونسب الحزم باستخدام جهاز Densitometer نوع Debsitron PAN-EV وتم الحصول من قراءة الجهاز على نسب كل حزمة (بروتين).

2-أختبار الممتز المناعي المرتبط بالانزيم (الاليزا)**Enzyme Linked Immnnosorbent Assay (ELISA)**

استخدمت الطريقة غير المباشرة Indirect لفحص الاليزا لقياس الاضداد في المصل ، يعتمد هذا الفحص على قدرة العديد من المستضدات على الارتباط مع البلاستك Polystyrene اذ وصفت الطريقة باسهاب من قبل [12] استخدمت في هذا الاختبار عدة اختبار خاصة لقياس اضداد مرض نيوكاسل Newcastle disease antibody test kit جهزت من قبل مختبرات Idexx Laboratory Inc. U.S.A واجري الفحص حسب تعليمات الشركة المنتجة .

التحليل الاحصائي:

استعمل التصميم العشوائي الكامل Complete random Design CRD في دراسة تاثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختيار اقل فرق معنوي Lest Significant differences LSD واستخدم البرنامج [13] في التحليل الاحصائي.

النتائج والمناقشة

يشير جدول (4) الى مستوى الالبومين الكلي و post albumin(pa) الكلوبيولين الكلي ونسبة الكلوبيولين γ وهو الكلوبيولين المناعي في مصل الدم ويلاحظ من النتائج تفوق المعاملتين الثانية 30 ملغم زنك والثالثة 45ملغم زنك معنوياً $P\leq0.05$ على المعاملتين الرابعة 60ملغم زنك والخامسة 75ملغم زنك والمعاملة الاولى السيطرة في مستوى الكلوبيولين الكلي والكلوبيولين المناعي اما مستوى الالبومين الكلي والالبومين البعدي فيلاحظ وجود انخفاض معنوي في مستواهما $P\leq0.05$ في مصل الدم للمعاملتين الثانية والثالثة مقارنة مع الرابعة والخامسة ومجموعة السيطرة.

جدول (4): تأثير اضافة مستويات مختلفة من كبريتات الزنك على تركيز الكلوبيولين الكلي والكلوبيولين المناعي والالبومين الكلي والالبومين البعدي في فروج اللحم المربى تحت ظروف الاجهاد الحراري .

المعاملة	الكلوبيولين الكلي	الكلوبيولين المناعي	الالبومين الكلي	Post albumin
T1	26.007±1.05 b	7.701±0.51 b	73.94 ±5.8 a	34.73±3.75a
T2	50.108±2.067 a	17.708±1.092 a	45.83±2.63 b	10.870±1.65b
T3	46.682±1.947 a	17.266±1.107 a	50.86±3.69 b	18.272±2.09b
T4	36.951±2.021 b	16.796±2.006 b	61.46±4.73b	28.580±2.58b
T5	34.580±1.983 b	7.130±1.009 b	60.63±3.97b	29.445±3.006b

الارقام تمثل المعدل ±الخطأ القياسي ، الاحرف المختلفة تشير الى وجود اختلاف معنوي($P\leq0.05$)

هناك العديد من العوامل الخلوية والمركبات الفعالة التي لها دور فعال في تنظيم تطور الخلايا اللمفية ,تصنيع DNA والانقسام الخلوي [9] ومن هذه العوامل الزنك حيث اشار[14] الى ان نقص الزنك يؤدي الى نقص الخلايا اللمفية والتي لها دور مهم في المناعة الخلوية وقد يعود هذا الى تأخر تطورها من الطور الاولي Go/G1 الى الطور الثانوي (S) وقد يكون ذلك متعلق بنقصان IL-2 المسؤول عن تطور الخلايا اللمفية من G1 الى S [15]. يؤثر نقص الزنك على تطور الخلايا اللمفية بواسطة ثلاث ميكانيكيات هي:

1- كبح انتاج البروتينات المسؤولة عن التطور والتي هي ------,IL-1,IL-2 .

2- التداخل مع عمل المستضدات Ag والمهمة في تكوين الخلايا اللمفية Lymphocyte blastogensis .

3- فقدان الخلية لعملها التخصصي .

وهذا بالتالي يؤثر على مستوى الكلوبيولين الكلي والكلوبيولين المناعي كون هذا النوع من البروتينات يحمل على سطوح الخلايا اللمفي [16]. اما بروتين Post-albumin بروتين الاجهاد يحصل له ارتفاع في حالات الاجهاد مقارنة بالظروف الاعتيادية [17] ولكن زيادته مع الزيادة الحاصلة للالبومين أمر طبيعي لكونه احد الالبومينات التي تشكل نسبة كبيرة منها ولكن النتائج تشير إلى وجود فروقات معنوية ذات اهمية حيث يلاحظ انخفاض تركيزه معنوياً $P\leq0.05$ في مصل معاملات الزنك مقارنة مع السيطرة الا ان الانخفاض الاكثر كان في المعاملتين الثانية والثالثة.

اما جدول (5) فيشير الى مستوى الاجسام المضادة في مصل الدم لمرض النيوكاسل ويلاحظ من النتائج تفوق المعاملتين الثانية والثالثة معنوياً $P\leq0.05$ على المعاملتين الرابعة والخامسة وكذلك تفوق المعاملات كافة معنوياً $P\leq0.05$ على معاملة السيطرة .

جدول (5): تأثير اضافة مستويات مختلفة من كبريتات الزنك على معدل معيار الاجسام المضادة لمرض النيوكاسل (فحص الاليزا) في فروج اللحم المربى تحت ظروف الاجهاد الحراري .

العمر(يوم) / المعاملة	5	15	25	42
T1	1244±273b	2696±482b	5332±605 b	7208±810 b
T2	1986±752a	3157±328a	5789±784a	7824±375a
T3	1978±685a	3127±254a	5817±691a	7853±458a
T4	1366±260b	2879±487b	5469±606b	7359±420b
T5	1365±195b	2870±369b	5345±750b	7324±470b

الارقام تمثل المعدل ±الخطأ القياسي ،الاحرف المختلفة في العمود تشير الى وجود اختلاف معنوي($P\leq0.05$)

ان وجود الاجسام المضادة في الايام الاولى قبل التلقيح قد يعود الى المناعة الامومية والتي قد يكون الزنك حسنها وأبقاها في مستويات جيدة وعمل على زيادة وقت بقاءها في الجسم [1] في حين اشار[18] الى ان المناعة الامومية قد تتداخل وتعادل المناعة الناتجة من اللقاح الاول والثاني. كما اشار [19] الى ان اضافة الزنك الى عليقة فروج اللحم بنسبة 40ppm يزيد من انتاج الاجسام المضادة ضد مرض النيوكاسل في حين لاحظ [20] الى ان الافراخ الناتجة من امهات مغذاة على عليقة ذات مستويات عالية من الزنك اظهرت استجابة مناعية اعلى من غيرها، كما لاحظ [21] الى ان اضافة مستويات عالية من النحاس مع مستويات منخفضة من الزنك يؤدي الى زيادة مقاومة الافراخ للامراض وتحسين الحالة المناعية , كما ان الزنك يؤدي الى تقليل الهلاكات والهلاكات الناتجة عن الحبن Ascites [22]. ان عدم استجابة الافراخ المغذاة على المعدلات العالية من الزنك في العليقة مناعياً قد يعود الى التركيب الوراثي للافراخ وظروف التجربة [23].

المصادر

1. ALSP, C., Albuquerque, R., and Tessari, E.N. (2006). Humoral immunological response in roilers vaccinated against Newcastle disease and supplemented with zinc and vit. E. Rev. Bras. Cienc. (2):214-221.
2. Burrell, A.L., Dozier, W.A. and Davi, A.J. (2004). Responses of broiler to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. Br. Poult.Sci.45:255-263.
3. Barlett, J.R. and Smith, M.O. (2003). Effects of different levels of zinc on performance and immune competence of broilers under heat stress. Poult. Sci. 75:3195-3205.
4. خورشيد، فاتن عبد الرحمن . (2012). الزنك كعنصر نادر خطورة نقصه وسمية زيادته ، الهيئة العالمية للاعجاز العلمي في القرآن والسنة، العدد 26 .
5. National Research Council. (1994). Nutrient Requirements of poultry. 9th ed. Natl. Acad. Press. Washington, DC.
6. Cui, H., Xi, P., and Yang, Guang. (2004). Pathology of lymphoid organs in chickens fed adiet deficient in zinc . Avian Path. 33(5):519-524.
7. **V**irden,W.S.,Yeatman, J.B., Barber, S.J. and Kidd, M.T. (2004). Immune system and cardiac functions of progeny chicks from dam fed differing in zinc and manganese level and source.Poult.sci. 83:344-351.
8. Fang, J., Cui, H.M. and Peng, X. (2003). Effect of zinc toxicity on the structure and function of immune system in duckling's. Acta. Nutriment Sinica. 25.79-82.
9. Cui, H.M., Fang, J. and Peng, X. (2003). Pathology of the Thymus, Spleen and Bursa of fabricius in zinc deficient ducklings. Avian pathology. 32,259-264.
10. Kidd, M.T., Qureshi, M.A., Ferket, R.P. and Thomse, L.N. (2000). Turkey hen zinc source affects progeny immunity and disease resistance. J.Appl. Poult. Res.9:414-423.
11. Sunder, G.S., Panda, A.K., Gopinath, N.C.S., and Vijay Kumar, C. (2008). Effect of higher levels of zinc supplementation on performance mineral availability and immune competence in broiler chickens. J. Appl. Poult. Res. 17:79-86.
12. Voller, A., Bidwell, D.E. and Bartlett, A. (1977). The enzyme linked immunosorbent assay. Flowline, Guernsey.
13. Spss. 2008. Statistical package for Social Science. User's Guide for statistics.
14. Bonham, M., OConnor, J.M., Hannigan, B.M. and Strain, J.J. (2002). The immune system as hysiological indicator of marginal copper status. British J. of Nutrition. 87,383-403.
15. Kidd, M.T., Ferket, P.R. and Qureshi, M.A. (1996). Zinc metabolism with special reference to its role in immunity .Worlds Poult. Sci. J. 52:309-323.
16. Flynne, A. (1984). Control of *in vitro* lymphocyte proliferation by copper, magnesium and zinc deficiency. The J. of Nutrition.114, 2034-2042.
17. Mahmood, S.K. (2006). Effect of Nigella & Marjoram on the immune response and the efficiency of mass production in broilers. PhD thesis, Vet. Medicine, Baghdad Uni., Iraq.
18. زاهد، عبد الامير حسين، كاظم، لطيف ابراهيم، علي خضير، الصافي. (2011). تداخل لقاح التهاب القصبات المعدي (عترة 4191 and MA5). مع الاستجابة المناعية للقاحي النيوكاسل والانفلاونز، مجلة الزراعة البحثية. 16(2):225-231 .
19. Hamidi, H., Jahaniam, R., and Pourreza, J. (2010). Effect of dietary betain on performance, immunocompetence and gut contents osmolarity of broilers challenged with a mixed coccidial infection. Asian J. Anim. Vet. Adv. 5:193-201.
20. Kidd, M.T., Anthony, N.B., Newberry, L.A., and Lee, S.R. (1993). Effect of supplemental zinc in either acorn –soybean or amilo and corn-soybean meal diet on the performance of young broiler breeders and their progeny. Poultry Sci. 72(8):1492-1499.
21. Hosseini, S., Arshami, J., and Torshizi, M.E. (2011). Viral antibody titer and leukocyte subset to graded copper and zinc in broiler chicks. Asian J. Anim.Vet. 6(1):80-87.
22. Rapp, C, Arce, M.J., Avila, G.E. and Ward, L. (2001). Effect of zinc and manganese amino acid complex on ascites in broilers. Page 338-339 in Proceedings of the 13th European Symposium on poultry nutrition. WRSA, Blanken berge Belgium.
23. Swain, B.K., Johri, T.S. and Jumdar, S.M. (2000). Effect of supplementation of vit.E, selenium and their different combinations on performance and immune response of broilers. Br. Poult. Sci. 41(3):287-292.