# بررسی تأثیر طول زمان مصرف روغن ماهی بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید خون و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

**حسین ایروانی[1*]، محمد امیر کریمی ترشیزی[2]، بابک خیرخواه[2]**

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بافت، گروه علوم دامی، بافت، ایران
۲. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه پرورش طیور، تهران، ایران
** نویسنده مسئول مکاتبات: hi_iravani@yahoo.com*
**(دریافت مقاله: ۹۰/۲/۱۲، پذیرش نهایی: ۹۰/۵/۱۰)**

## چکیده

**به منظور تعیین مناسب‌ترین فاصله زمانی تغذیه جوجه‌های گوشتی با روغن ماهی و اثر آن بر سیستم ایمنی و کلسترول و تری‌گلیسیرید خون، آزمایشی به مدت ٤٩ روز با استفاده از ٥ درصد روغن ماهی که در زمان‌های مختلف تغذیه شدند، انجام گردید. بدین منظور از ٦٠٠ جوجه یک روزه گوشتی سویه راس در ٦ گروه آزمایشی، که هر گروه آزمایشی دارای ٤ تکرار بود، استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل: جیره بدون روغن ماهی و دارای ٥ درصد روغن ذرت (گروه شاهد) و تغذیه روغن ماهی از ۲، ۳، ٤، ٥ و ٦ هفتگی بود. غلظت کلسترول و تری گلیسرید در سنین ۳۷ و ٤٤ روزگی تعیین شد. تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC)، متعاقب ایمن سازی در روزهای ۳۰ و ۳۷ روزگی، ۷ روز پس از هر تزریق تعیین شد. مصرف روغن ماهی، غلظت کلسترول سرم را تحت تاثیر قرار نداد اما غلظت تری‌گلیسرید سرم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p$<۰/۰۱). عیار IgG علیه SRBC در تزریق اول تحت تاثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت ($p$<۰/۰۱) و بیشترین پاسخ ایمنی در گروه شاهد و تیماری که ۲ هفته از روغن ماهی تغذیه نموده بود مشاهده گردید. به عبارتی افزایش بیشتر زمان مصرف روغن پاسخ ایمنی را کاهش داد. عیار IgM در تزریق دوم تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت و تیمارهایی که ۲ تا ٤ هفته از روغن ماهی تغذیه نمودند پاسخ ایمنی بالاتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($p$<۰/۰۵).**
*مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۹۰، دوره ۵، شماره ۱، پیاپی ۱۷، صفحات: ۱۱۰۱-۱۰۹۳.*
**کلید واژه‌ها:** پاسخ ایمنی، اسیدهای چرب امگا ۳، روغن ماهی، جوجه گوشتی، طول مصرف

## مقدمه

تعدیل سیستم ایمنی به اعمال برخی تغییرات فیزیولوژیکی اشاره داشته که در نهایت باعث تشدید یا تضعیف فعالیت‌های این سیستم می‌شوند (۱۷). جیره یکی از چندین فاکتور مؤثر بر سیستم ایمنی در طیور می‌باشد (۱۳ و ۱۸). اثر تغذیه بر روی سیستم ایمنی می‌تواند به صورت اختصاصی یا غیر اختصاصی باشد. بعضی از موادی که اثر غیر مستقیم دارند و باعث تقویت و تحریک سیستم ایمنی می‌شوند شامل اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) ( Poly unsaturated fatty acids) می‌باشد (۱۸).

اسیدهای چرب غیر اشباع با چندین پیوند دوگانه می‌توانند از طریق استقرار در غشاء فسفولیپیدی سلول‌های بافت‌های لنفوئیدی باعث تعدیل فعالیت سیستم ایمنی شوند (۸). اغلب

روغن‌های گیاهی غنی از اسید چرب n-۶ مثل لینولئیک اسید هستند، در حالی‌که روغن ماهی غنی از اسید چرب n-۳ می‌باشند. EPA (Eicosapentaenoic acid) و DHA (Docosa hexaenoic acid) اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسیدهای چرب n-۳ در روغن ماهی می‌باشد. روغن ماهی به لحاظ دارا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع می‌تواند میزان و نوع آیکوزانوئیدها (برخی واسطه‌های سیستم ایمنی از قبیل پروستاگلندین‌ها و لوکوترین‌ها که از اسیدهای چرب غشای فسفولیپیدی سلول‌ها منشاء می‌گیرند) را تغییر دهد و سبب بهبود سیستم ایمنی طیور گردد (۶).

مطالعات نشان می‌دهند که پروستاگلندین $E_2$ ($PGE_2$) موجب کاهش پاسخ اولیه تولید آنتی‌بادی در مرغان تخم‌گذار می‌شود (۲۹). تولید آنتی‌بادی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی روغن ماهی و یا کتان (غنی از اسیدهای چرب n-۳) افزایش معنی‌داری در مقایسه با سایر منابع روغن نشان داد (۱۳ و ۳۱). با وجود این، برخی از پژوهشگران با استفاده از روغن ماهی در جیرهٔ غذایی بهبود معنی‌داری در پاسخ ایمنی هومورال مشاهده نکردند (۱۲ و ۱۹). به‌طورکلی، بررسی پژوهش‌های انجام شده در زمینه تأثیر اسیدهای چرب جیرهٔ غذایی بر سیستم ایمنی بیانگر عدم یکنواختی در نتایج به دست آمده است (۳). پراکنش قابل ملاحظه‌ای در ترکیب اسیدهای چرب روغن های استخراج شده از گونه‌های مختلف ماهی دیده می‌شود. Korver و Kelasing (۱۹۹۷) گزارش کردند که تزریق لیپوپلی ساکارید (LPS) باکتریایی به جوجه‌های گوشتی باعث ظهور واکنش التهابی در آنها شد، که به نوبهٔ خود کاهش وزن جوجه ها را به همراه داشت. آنها با به‌کارگیری روغن ماهی در جیرهٔ غذایی اثرات نامطلوب واکنش التهابی بر رشد را کاهش دادند، ولی این تأثیر تنها با استفاده از روغن ماهی در جیره‌های حاوی گندم دیده شد، در حالی‌که در جیره‌های پایه ذرت تأثیر روغن ماهی معنی‌دار نبود. این محققین چنین نتیجه‌گیری کردند که احتمالاً علت این امر وجود سطوح پایین‌تر اسیدهای چرب غیر اشباع n-۶ از جمله اسید لینولئیک در جیره‌های بر پایه گندم در مقایسه با ذرت می‌باشد (۱۹). پیله ور و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که در نیمچه-های تخم‌گذار IgG پس از تزریق SRBC تحت تأثیر درصد اسید چرب n-۳ قرار گرفت و سطح پایین اسید چرب n-۳ تیتر آنتی‌بادی را افزایش داد (۲). چربی لاشه پرندگان جوان در طی تغییر جیره بعد از ۱۲ روز به تعادل ظاهری می‌رسد (۲۱). ذخیره و تجمع n-۳ در لاشه متناسب با غلظت اسید چرب مورد استفاده در جیره، نوع منبع n-۳ و مدت زمان استفاده از منبع می‌باشد. این تغییر در لاشه جوجه گوشتی یک فرآیند تدریجی می‌باشد. بر اساس این گزارش، افزایش میزان LNA (Linolenic acid) با جیره‌های حاوی کتان، ۵ هفته زمان نیاز دارد. درحالی‌که ( Long Chain Omega-3 Fatty Acids) LC-PUFAs:n-3 در زمان کمتر و در حدود ۲ هفته غنی‌سازی امکان پذیر می‌باشد (۲۲).

اسیدهای چرب LC-PUFAs:n-3 به راحتی در بافت‌ها ذخیره می‌گردند، در حالی‌که LNA نیاز به زمان طولانی‌تری برای ذخیره شدن در بافت‌ها دارد. اسیدهای چرب LC-PUFAs:n-3 و LNA در گوشت سیاه (ران) و گوشت سفید (سینه) به ترتیب قرار می‌گیرند (۲۰). لذا هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثرات روغن ماهی و طول زمان مصرف روغن ماهی برغلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی است.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق بر اساس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی متعادل ۶ ۲ انجام گرفت. آزمایش در ۶ گروه آزمایشی و هر گروه آزمایشی دارای ۴ تکرار بود و هر تکرار شامل ۲۵ جوجه بود. گروه‌های آزمایشی شامل: گروه شاهد که از یک روزگی تا انتهای دوره از جیره پایه با ۵٪ روغن ذرت تغذیه شد و گروه های ۲ تا ۶ به ترتیب از هفته‌های ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ به جای روغن ذرت از روغن ماهی تغذیه شدند.

جیره‌های آزمایشی، در جدول ۱ آمده است. جیرهٔ غذایی مورد نیاز جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف آزمایش شامل آغازین (۱۴-۱ روزگی)، میان دوره (۳۴-۱۴ روزگی) و پایانی (۴۹-۳۵ روزگی) با استفاده از جداول راهنمای NRC (۲۱) استخراج گردید. جیره‌های مراحل مختلف از نظر انرژی و پروتئین و اجزا خوراک یکسان بود و فقط روغن ماهی بر حسب نوع گروه آزمایشی از زمان‌های مختلف به جای روغن ذرت بکار برده شد. روغن ماهی بکار برده شده در آزمایش از شرکت تهیه تن ماهی واقع در بندر انزلی تهیه گردید. از روغن ذرت مورد استفاده در آشپزی نیز برای بکار بردن روغن ذرت در جیره استفاده شد. آنالیز اسیدهای چرب جیره ها، روغن ذرت و روغن ماهی در جدول ۲ آمده است.

**جدول ۱**- جیره‌های آزمایشی

| مواد مغذی | جیره آغازین (۱۴-۱ روزگی) ٪ | جیره میان دوره (۳۵-۱۴ روزگی) ٪ | جیره پایانی (۴۹-۳۵ روزگی) ٪ |
|---|---|---|---|
| انرژی متابولیسمی (kcal/kg) | ۲۹۰۰ | ۳۰۰۰ | ۳۱۰۰ |
| پروتئین خام (درصد) | ۲۱/۵ | ۱۹/۵ | ۱۷/۵ |
| کلسیم (درصد) | ۱ | ۰/۹ | ۰/۸ |
| فسفر قابل دسترس (درصد) | ۰/۴۵ | ۰/۳۵ | ۰/۳ |
| لیزین (درصد) | ۱/۱ | ۱ | ۰/۸۵ |
| متیونین (درصد) | ۰/۵ | ۰/۳۸ | ۰/۳۲ |
| اجزاء تشکیل دهنده جیره | | | |
| ذرت | ۳۸/۸۵ | ۴۹/۰۴ | ۶۳/۸۶ |
| کنجاله سویا | ۳۶/۵۱ | ۳۱/۳۸ | ۲۷/۴ |
| گندم | ۱۵ | ۱۰/۵ | --- |
| روغن ذرت یا روغن ماهی | ۵ | ۵ | ۵ |
| صدف | ۱/۳۸ | ۱/۴۳ | ۱/۳ |
| دی کلسیم فسفات | ۱/۶۶ | ۱/۱۵ | ۱ |
| مکمل ویتامینی | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ |
| مکمل معدنی | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ |
| نمک طعام | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ |
| DL- متیونین | ۰/۲ | ۰/۱ | ۰/۰۴ |
| جمع | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |

-پیش مخلوط ویتامینی اضافه شده به جیره مقادیر: ۷۰۴۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین $D_3$، ۸/۸ واحد بین المللی ویتامین E، ۱/۷۶ میلی‌گرم ویتامین $K_3$، ۱/۲ میلی‌گرم ویتامین $B_1$، ۳/۲ میلی‌گرم ویتامین $B_2$، ۶/۴ میلی‌گرم ویتامین $B_3$ (کلسیم پنتوتنات)، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین $B_5$ (نیاسین)، ۱/۹۷ میلی‌گرم ویتامین $B_6$، ۰/۳۸ میلی‌گرم ویتامین $B_9$ (فولیک اسید)، ۰/۰۰۸ میلی‌گرم ویتامین $B_{12}$، ۰/۱۲ میلی گرم ویتامین $H_2$ (بیوتین) و ۳۲۰ میلی‌گرم کولین کلراید را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود. ۲- پیش مخلوط معدنی اضافه شده به جیره مقادیر: ۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰ میلی‌گرم آهن، ۵۱/۷۴ میلی‌گرم روی، ۴/۸ میلی‌گرم مس، ۰/۶۹ میلی‌گرم ید و ۰/۱۶ میلی‌گرم سلنیوم را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود.

**جدول ۲**- آنالیز اسید چرب جیرهای پایه، روغن ذرت و روغن ماهی (میلی‌گرم اسید چرب در گرم جیره)

| | C14:0 | C16:0 | C16:1 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 | C20:4 | EPA | DPA | DHA | SFA | MUFA | PUFA | N-3 | N-6 | N-6/N-3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| آغازین | ۰/۰ | ۱/٤٥ | ۰/۰۳ | ۰/۱۹ | ۲/۲۰ | ۳/۰۱ | ۰/۰۹ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۱/٦٤ | ۲/۲۳ | ۳/۱۰ | ۰/۰۹ | ۳/۰۱ | ۳۳/٤٤ |
| رشد | ۰/۰ | ۱/٦۳ | ۰/۰٤ | ۰/۲۲ | ۲/٤٦ | ۳/۱۲ | ۰/۱۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۱/۸٥ | ۲/٥۰ | ۳/۲۲ | ۰/۱۰ | ۳/۱۲ | ۳۲/۰۱ |
| پایانی | ۰/۰ | ۱/۷٦ | ۰/۰٥ | ۰/۲٤ | ۲/٦٦ | ۳/۲٦ | ۰/۰۸ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۲/۰۰ | ۲/۷۱ | ۲/۳۳ | ۰/۰۸ | ۳/۲٦ | ٤۱/٦٦ |
| روغن ذرت | ۰/۱۷ | ۸٤/۸۷ | ۲/۰٥ | ۱۰/۰۸ | ۱٦۹/٥۳ | ۲۷۳/٤۳ | ۲/۷۱ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۹٥/۱۳ | ۱۷۱/٥۸ | ۲۷٦/۱٤ | ۲/۷۱ | ۲۷۳/٤۳ | ۱۰۰/۹٥ |
| روغن ماهی | ٤/۹٦ | ۲۳/٤۳ | ۷/۷۹ | ٤/۳۷ | ۱/۸۲ | ۱/۸۲ | ۱/۳۱ | --- | ٥/۷٤ | ۳/٥ | ۱٤/٥٥ | ۳۲/۷٦ | ۳۹/٥۷ | ۲٦/۸۷ | /۰٥ ۲٥ | ۱/۸۲ | ۰/۰۷ |

هر عدد میانگین سه تکرار می‌باشد

برای اندازه‌گیری میزان کلسترول و تری‌گلسیرید در روزهای ۳۷ و ٤٤ پرورش جوجه‌های گوشتی از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه پرنده انتخاب شده و از آنها از طریق ورید بال، خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون به مدت ٤ تا ٦ ساعت در دمای اتاق برای جدا شدن سرم از لخته نگه‌داری شده و بعد از گذشت این زمان سرم در داخل میکروتیوب ریخته شد. در آزمایشگاه برای اطمینان از عدم باقی ماندن لخته در پلاسما توسط سانتریفیوژ در دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. کلسترول موجود در نمونه‌های سرم با استفاده از روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری شرکت پارس آزمون تعیین شد. همچنین تری گلیسرید با روشGPO-PAP با استفاده از کیت تجاری تعیین گردید (۲٦). متوسط غلظت کلسترول سرم و تری گلیسرید هر دو پرندهٔ یک واحد، برای تجزیهٔ آماری استفاده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار Excel پردازش و توسط رویه ANOVA نرم افزار SAS آنالیز آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند مشاهده‌ای دانکن انجام گرفت (۲۸).

## یافته‌ها، بحث و نتیجه‌گیری

در جدول ۳ نتایج ارزیابی سیستم ایمنی مشاهده می‌شود. در بررسی سیستم ایمنی، مقادیر ذکر شده برای نوبت اول بیان کنندهٔ پاسخ ایمنی اولیه و مقادیر نوبت دوم خونگیری مربوط به پاسخ ایمنی ثانویه می‌باشند. عیار IgG ($p$<۰/۰۱) و پادتن کل ($p$<۰/۰٥) علیه گلبول قرمز گوسفند در نوبت اول تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری را نشان داد. گروه شاهد و گروه ٦ دارای بیشترین پاسخ ایمنی و گروه ۲ دارای کمترین پاسخ ایمنی بود و این نتایج نشان می‌دهد که مصرف روغن ذرت بیشتر از مصرف روغن ماهی باعث افزایش پاسخ ایمنی شده است و با افزایش مدت مصرف روغن ماهی پاسخ ایمنی کمتر شد. عیار IgM علیه گلبول قرمز گوسفند در نوبت اول تحت تاثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفت.

عیار IgM علیه گلبول قرمز گوسفند در نوبت دوم تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p$<۰/۰٥). گروه ۵ بالاترین و گروه شاهد و گروه‌های ۲ و ۳ دارای پایین‌ترین پاسخ ایمنی اولیه بودند. اما عیار پادتن کل و IgG علیه گلبول قرمز گوسفند در نوبت دوم تحت تأثیر

گروه‌های آزمایشی قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این نشان می‌دهد که بعد از تزریق دوم ایمنی بالاتری در گروه‌هایی که روغن ماهی خوردند نسبت به روغن ذرت وجود داشت که بیانگر تداوم بیشتر ایمنی در جوجه‌هایی که روغن ماهی خوردند، می‌باشد. البته سطح ایمینوگلوبولین‌ها از نظر عددی بعد از تزریق دوم کمتر از تزریق اول بود. که در خصوص سطح کل ایمنوگلوبولین‌ها این کاهش معنی‌دار نبود اما کاهش پاسخ ایمنی در خصوص IgM ($p<۰/۰۵$) و IgG ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار بود.

تغذیه جوجه‌های جوان در حال رشد، با روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب n-۳، باعث افزایش پاسخ سیستم ایمنی هومورال در اثر تزریق SRBC شده است، اما میزان تکثیر لمفوسیتی را متوقف کرد. تأثیر این دستکاری‌های جیره‌ای بیشتر در سطوح بالاتر از نیاز دیده می‌شود و میزان قابل توجهی مقاومت نسبت به بیماری‌های عفونی را دستخوش تغییر می‌کند (۱۸). برای تعیین پاسخ اولیه برای بررسی سیستم ایمنی طیور گوشتی با استفاده از جیره‌های کتان و روغن ماهی، آزمایشی با جیره‌های با انرژی و پروتئین یکسان انجام شد. جیره‌های حاوی ۲/۲۵ درصد روغن ماهی بیشترین پاسخ آنتی بادی علیه SRBC، در مقایسه با سطوح پائین‌تر روغن ماهی و سطوح در نظر گرفته برای کتان نشان دادند (۳۰).

در آزمایشی مشاهده شد که عیار پادتن علیه عفونت برونشیت، در سطح ۲ درصد روغن ماهی در جیره بیشترین مقدار می‌باشد. در مورد کوکسیدیوز، چنانچه کوکسیدیواستات به جیره افزوده نشود، سطوح ۵ درصد در بین روزهای ۱٤ تا ۲۱ روزگی، بیشترین اثرگذاری را دارد و با افزودن کوکسیدیواستات به جیره سطوح ۱ تا ۲ درصد بیشترین کارآیی را نشان داده است. بهبود سیستم ایمنی احتمالاً به علت تأثیر روغن ماهی بر میزان ایکوزانوئیدها (لوکوترین‌ها) و انیترلوکین‌ها باشد (۱٦).

Fritsche و Cassity (۱۹۹۲) تأثیری بر عیار پادتن ضد SRBC جوجه‌های گوشتی تغذیه شده به وسیله ۷ درصد روغن ماهی و کتان مشاهده نکردند (۱۲) در حالی‌که در مطالعه قبلی خود بر روی نیمچه‌های تخم‌گذار تغذیه شده با ۷ درصد روغن ماهی افزایش پاسخ عیار پادتن ضد SRBC در آنها را به‌دست آوردند و نتیجه گرفتند که سیستم ایمنی طیور گوشتی متفاوت از تخم‌گذار است (۱۳). همچنین برخی دیگر از پژوهشگران با بکارگیری جیره‌های غذایی حاوی روغن ماهی، بهبود معنی‌داری در پاسخ اولیه و ثانویه تولید آنتی‌بادی در جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش مشاهده نکردند (۱۹).

Delhanty و Salmon (۱۹۹٦) گزارش کردند که پاسخ ایمنی جوجه‌ها به طور چشمگیری در طول عمر آنها تغییر می‌کند. پراکنش موجود در نتایج آزمایش‌های گوناگون احتمالاً ناشی از بکارگیری جوجه‌ها در سنین مختلف می‌باشد (۹). به علاوه، آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز در روش HA برای تعیین تیتر آنتی‌بادی سرم، تا حدود زیادی متأثر از غلظت و نیز حجم سوسپانسیون SRBC تزریق شده می‌باشد (۱۵).

Broughton و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که اثر اسیدهای چرب n-۳ بر تولید واسطه‌های سیستم ایمنی بستگی به مقدار کل اسیدهای چرب غیراشباع و همچنین نسبت اسیدهای چرب n-۳ به n-٦ جیره دارد (۷). Friedman و Sklan (۱۹۹۵) گزارش کردند که تولید آنتی‌بادی در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح پایین اسید لینولئیک (اسید چرب n-٦) با سرعت بیشتری به بالاترین سطح رسید و تداوم مطلوب‌تری در مقایسه با سایر گروه‌ها نشان داد (۱۲). در مطالعهٔ دیگر، آنها دریافتند که تولید آنتی بادی در بوقلمون‌ها رابطه درجه دوم با غلظت اسید لینولئیک و کل اسیدهای چرب n-٦ سرم دارد (۱۱). Parmentier و همکاران (۱۹۹۷) دریافتند که بین لاین و جیرهٔ غذایی در زمینهٔ تولید آنتی‌بادی اثر متقابل وجود دارد، به‌طوری‌که در لاین اصلاح شده به منظور تولید آنتی‌بادی بالا علیه SRBC، پاسخ اولیه تولید آنتی‌بادی در جوجه‌های تغذیه شده با جیرهٔ غنی از اسید لینولئیک بیشتر بود (۲٤).

Wang و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که غلظت IgG سرم در جوجه‌های گوشتی که ۵ درصد روغن ماهی دریافت کرده بودند ۷۳، ٤۰ و ۳۷ درصد بیشتر از جوجه‌هایی بود که به ترتیب روغن آفتابگردان، روغن کتان و روغن حیوانی دریافت کرده بودند (۳۱). در یک مطالعه Zaki و Hady (۱۹۹۵) اثرات روغن کتان را با پیه (غنی از اسیدهای چرب اشباع) بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی مقایسه کردند. آنها مشاهده نمودند که جیره‌های حاوی روغن کتان باعث بهبود پاسخ تولید آنتی‌بادی علیه SRBC و واکنش ازدیاد حساسیت تأخیری (شاخصی برای ارزیابی ایمنی سلولی) گردید (۳۲).

Saleh و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که گروه‌های آزمایشی حاوی روغن ماهی نسبت به گروه شاهد، پاسخ ایمنی بالاتری را در جوجه‌های گوشتی داشتند. (۲۷) در مطالعه‌ای دیگر، با استفاده از جیره‌های غنی از اسیدهای چرب غیراشباع n-۳ در موش‌های آزمایشگاهی نتایج مشابهی به لحاظ پاسخ ایمنی هومورال به‌دست آمد (۲٤). تأثیر جیره‌های غنی از اسیدهای چرب n-۳ بر پاسخ ایمنی هومورال با توجه به مطالعات Fritsche و همکاران (۱۹۹۱b) قابل بررسی است. آنها مشاهده کردند که غلظت اسید آراشیدونیک (اسید چرب ۲۰ کربنی از گروه n-٦) در سرم و بافت‌های سیستم ایمنی جوجه‌هایی که از جیره‌های غنی از اسیدهای چرب n-۳ تغذیه کردند، ۵۰ تا ۷۰ درصد کاهش یافت (۱٤).

از طرفی پژوهشگران نشان داده‌اند که $PGE_2$ (مشتق شده از اسید آراشیدونیک) باعث کاهش تکثیر لنفوسیت‌ها و تولید آنتی‌بادی می‌گردد. بنابراین، ممکن است اسیدهای چرب n-۳ از طریق کاهش تولید $PGE_2$ موجب افزایش تولید آنتی‌بادی گردند (۲۹).

**جدول ۳**- اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی

| زمان مصرف روغن ماهی | عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند (عکس لگاریتم آخرین چاهکی که هماگلوتیناسیون داده است) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | نوبت اول (۳۷ روزگی) | | | نوبت دوم (٤٤ روزگی) | | |
| | پادتن کل | IgG | IgM | پادتن کل | IgG | IgM |
| (شاهد) | ٦/۰۰$^{a}$ | ۵/٦۲$^{a}$ | ۰/۳۸ | ٤/۳۸ | ۳/۸۷ | ۰/۵$^{a}$ |
| ٦ | ۳/۷۵$^{b}$ | ۳/۱۳$^{b}$ | ۰/٦۲ | ۳/۰۰ | ۲/۵ | ۰/۵$^{a}$ |
| ۵ | ۵/۷۵$^{a}$ | ٤/۷۵$^{ab}$ | ۱/۰۰ | ٤/۲۵ | ۳/۸۷ | ۰/۳۸$^{a}$ |
| ٤ | ٤/۳۸$^{ab}$ | ٤/۰۱$^{ab}$ | ۰/۳۷ | ٤/۳۸ | ۳/۰۰ | ۱/۳۸$^{b}$ |
| ۳ | ۵/۰۰$^{ab}$ | ٤/۵$^{ab}$ | ۰/۵ | ۵/۷۵ | ۳/۷۵ | ۲/۰۰$^{b}$ |
| ۲ | ٦/۱۲$^{a}$ | ۵/۷٤$^{a}$ | ۰/۳۸ | ٤/۲۵ | ۲/۷۵ | ۱/۵$^{b}$ |
| SEM | ۰/۲۹ | ۰/۲۸ | ۰/۱۲ | ۰/۳۸ | ۰/۳ | ۰/۱۸ |
| P value | ۰/۰۸ | ۰/۰۳ | ۰/٦۷ | ۰/۵٤ | ۰/٦۸ | ۰/۰۳ |
| نوبت تزریق | پادتن کل | IgG | IgM | | | |
| نوبت اول | ۵/۱۷ | ٤/۷۱$^{a}$ | ۱/۰٤$^{a}$ | | | |
| نوبت دوم | ٤/۳۳ | ۳/۲۹$^{b}$ | ۰/۵٤$^{b}$ | | | |
| P value | ۰/۰۸ | ۰/۰۰۰۹ | ۰/۰۱۵ | | | |
| تیمار*نوبت | ۰/۵٤ | ۰/٤۸ | ۰/۰۲ | | | |

Torki و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که با ایجاد تغییراتی در جیرهٔ غذایی به لحاظ ترکیب اسیدهای چرب می‌توان پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار داد. افزایش نسبت اسیدهای چرب n- ۳ به n- ٦ در جیرهٔ غذایی در اثر مکمل سازی با روغن ماهی باعث ایجاد روند افزایشی تولید آنتی‌بادی علیه SRBC گردید، به‌طوری‌که بهترین پاسخ ایمنی هومورال اولیه علیه SRBC در گروه‌های غذایی حاوی بالاترین سطح n-۳ به n-٦ دیده شد، ضمن اینکه تغییری بر رشد و وزن بدن جوجه‌ها به همراه نداشت. در این مطالعه نسبت‌های متوسط اسیدهای چرب n- ۳ به n- ٦ موجب بروز پاسخ آنتی‌بادی مطلوبتری علیه نیوکاسل شدند (۳۰).

در مورد لوکوترین‌ها، EPA منبعی مناسب برای تشکیل $LTB_5$ می‌باشد. $LTB_5$ تولیدشده دارای فعالیت کمتری نسبت به $LTB_4$ تولید شده از اسید آراشیدونیک در تحریک تجمع نوتروفیل‌ها، کیموتاکسی و آزاد شدن آنزیم‌های لیزوزومی از نوتروفیل‌هاست و در نتیجه منجر به کاهش واکنش‌های التهابی می‌شود (٦).

رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون چربی باعث کاهش کارآیی سیستم ایمنی هومورال می‌گردد (۱). با افزایش روغن ماهی با توجه به شاخص TBA اندازه‌گیری شده، میزان اکسیداسیون و در نتیجه رادیکال‌های آزاد افزایش پیدا می‌کند. احتمالاً یکی از دلایل کاهش میزان پاسخ ثانویه سیستم ایمنی علیه SRBC درگروه‌های آزمایشی که مدت بیشتری روغن ماهی خورده‌اند افزایش بیشتر رادیکال‌های آزاد که در پی افزایش اسیدهای چرب n-۳ به‌وجود می‌آید، می‌باشد.

در این تحقیق، غنی‌سازی جیره با روغن ماهی باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی هومورال در پاسخ به تزریق SRBC نشد که با نتایج به دست آمده توسط Fritche و همکاران (۱۲) و Korver و Klasing (۱۹) همخوانی دارد. همچنین با توجه به نتایج حاصله از تحقیق حاضر افزودن روغن ماهی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به دلیل افزایش قابل توجه اسیدهای چرب امگا-۳ و طولانی‌تر نمودن پاسخ ایمنی توصیه می‌شود. اما لازم نیست از ابتدای دوره پرورش از روغن ماهی استفاده شود بلکه استفاده از روغن ماهی در ۲ هفته پایانی پرورش برای حصول نتایج فوق کافی است.

اثر تیمارهای آزمایشی بر کلسترول و تری گلیسیرید سرم در جدول ٤ آمده است. در نوبت اول خون‌گیری (۳۷ روزگی) و در نوبت دوم (٤٤ روزگی) گروه‌های آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری را بر میزان کلسترول پلاسما نشان ندادند. در نوبت اول خونگیری، گروه‌های آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری را بر میزان تری‌گلیسیرید پلاسما نشان دادند ($p<$۰/۰۱) که بیشترین مقدار تری گلیسیرید متعلق به گروه شاهد بود که از روغن ماهی استفاده نمی‌کرد و کمترین مقادیر مربوط به گروه‌هایی بود که چندین هفته از روغن ماهی تغذیه نموده بودند. اما در نوبت دوم خونگیری تفاوت معنی‌داری در میزان تری گلیسیرید پلاسما در گروه‌های آزمایشی مختلف وجود نداشت.

جیره‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-٦ سبب کاهش میزان کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما در مقایسه با جیره‌های حاوی اسیدهای چرب اشباع می‌گردند. این تغییرات ممکن است به دلیل تغییر سیالیت (Fluidity)، ترکیب درصد سلولی غشای پلاسما باشد. با افزودن ۲ و ٤ درصد روغن ماهی علی‌رغم کاهش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول و LDL تفاوت معنی‌داری در مقایسه با جیره‌های حاوی SFA، نشان داده نشد. میزان HDL در سطوح بالای روغن ماهی افزایش پیدا می‌کند این تغییرات ممکن است به دلیل وجود روغن ماهی و غنی بودن جیره از اسیدهای چرب امگا-۳ باشد (٤).

**جدول ٤**- اثر تیمارهای آزمایشی بر کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

| زمان مصرف روغن ماهی | کلسترول (۳۷ روزگی) | کلسترول (٤٤ روزگی) | تری‌گلیسیرید (۳۷ روزگی) | تری‌گلیسیرید (٤٤ روزگی) |
|---|---|---|---|---|
| (شاهد) | ۱۳۷/۳۵ | ۱۲۳/۱۵ | ۱٦۲/۵۲[a] | ۱۵۵/۲۱ |
| ٦ | ۱۲۷/۵۷ | ۱۳۲/۷۲ | ۱٤۵/۸۸[a] | ۱۵۷/۷۰ |
| ۵ | ۱۱۷/۹ | ۱۲۳/۷٦ | ۱۲۰/۰۵[b] | ۱۳۸/۷۲ |
| ٤ | ۱۱۷/۸ | ۱۳۳/۲۳ | ۱۳۱/۰٤[ab] | ۱٤٤/۷۹ |
| ۳ | ۱۳۸/۷۸ | ۱۳۳/٤۳ | ۱۲۸/٤٦[ab] | ۱۳۹/۹۷ |
| ۲ | ۱۳۸/۵۸ | ۱۳۸/۰۷ | ۱۱٦/۰۹[b] | ۱۵۳/۵۰ |
| SEM | ۳/۳۲ | ۲/۵۰ | ٤/٤۳ | ۳/٦۸ |
| P value | ۰/۱۷ | ۰/٤۸ | ۰/۰۰۷ | ۰/۵۷ |

## سپاسگزاری

این مقاله در سال ۱۳۸۹ از طرح پژوهشی انجام شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بافت استخراج گردیده است که از حمایت‌های مسئولین این دانشگاه قدردانی می‌گردد.

## منابع


۱. پوررضا، ج. صادقی، ق. و مهری، م. ۱۳۸۵. تغذیه مرغ. (ترجمه)، تالیف: اسکات، ا. چاپ اول، انتشارات ارکان اصفهان، صفحات: ۲۷-۱٦.

۲. پیله ور، م. آرشامی، ج. گلیان، ا. و باسامی، م. ۱۳۸۹. اثر منابع و مقادیر مختلف اسید چرب n-۳ بر سیستم ایمنی و تولید مثلی نیمچه‌های تخم‌گذار. مجموعه مقالات چهارمین کنگره علوم دامی ایران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، صفحات: ۳۹۳۱-۳۹۲۸.

3. Alexander, J.W. 1998. Immunonutrition: The role of ω-3 fatty acids. Nutrition. 14: 627-633.
4. Alparslan, G. and Özdogan, M. 2006. The effects of diet containing fish oil on some blood parameters and the performance values of broilers and cost efficiency. Int. J. Poult. Sci. 5(5): 415-419.
5. Boa-Amponsem, K., Price, S.E.H., Dunnington, E.A. and Siegel, P.B. 2001. Effect of route of inoculation on humoral immune response of white leghorn chickens selected for high or low antibody response to sheep red blood cells. J. Poult. Sci. 80: 1073-1078.
6. Bor-Chun, W. 2002. Immunomodulation by Dietary lipids: Soybean oil, Menhaden fish oil, Chicken fat, and Hydrogenated soybean oil in Japanese quail (Coturnix coturnix japonica) and Bobwhite quail (Colinus virginianus). Ph.D Thesis Virginia Polytechnic Institute and State University.
7. Broughton, K.S., Whelan, J. Hardardottir, R. and Kinsella, J.E. 1991. Effects of the increasing thedietary (n-3) to (n-6) polyunsaturated fatty acid ration on murine liver and peritoneal cell fatty acids and eicosanoid formation. J. Nut. 121: 155-164.
8. Calder, P.C. 1998. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. Brza. J. Med. Biol. Res. 31: 467-490.
9. Delhanty, J. and Salmon, S. 1966. The nature of antibody to goat's erythrocyte in the developing chicken. Immunology. 11: 103-113.

10. Friedman, A. and Sklan, D. 1995. Effect of dietary fatty acids on antibody production and fatty acid composition of lymphoid organs in broiler chicks. Poult. Sci. 74: 1463-1469.
11. Friedman, A. and Sklan, D. 1997. Effect of dietary fatty acids on humoral immune response of turkey. Br. Poult. Sci. 37: 342-348.
12. Fritsche, K.L. and Cassity, N.A. 1992. Dietary n-3 fatty acids reduce antibody – dependent cell cytotoxicity and alter eicosanoid release by chicken immune cells. Poult. Sci. 71: 1646-1657.
13. Fritsche, K.L., Cassity, N.A. and Haung, S.C. 1991a. Effect of dietary fat source on antibody production and lymphocyte proliferation in chickens. Poult. Sci. 70: 611-617.
14. Fritshce, K.L., Cassity, N.A. and Haung, S.C. 1991b. Effect of dietary fats on the fatty acid compositions of serum and immune tissues in chickens. Poult. Sci. 70: 1213-1222.
15. Glick, B., Day, E.J. and Thompson, D. 1981. Calorie- protein deficiencies and the immune response of the chicken. I. Humoral Immunity. Poult. Sci. 60: 2494-2500.
16. Kidd, M.T. 2004. Nutritional modulation of immune function in broiler, J. Poult. Sci. 83: 650–657.
17. Klasing, K.C. 1998. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. Poult. Sci. 77: 1119-1125.
18. Klasing, K.C. 1997. Interactions between nutrition and infectious disease. PP: 73-80. In: Calnek, B.W. (ed.) Diseases of Poultry. Third Edition. Iowa State University Press. Ames. IOW.
19. Korver, D.R. and Klasing, K.C. 1997. Alterations in specific and inflammatory immune responses in chicks fed fish oil. J. Nutr. 127: 2039-2046.
20. Lopez-Bote, J.C., Sans, M., Flores, A. and Carmana, S. 2000. Effect of the inclusion time of dietary saturated and unsaturated fats before slaughter on the accumulation and composition of abdominal fat in female broiler chicken. J. Poult. Sci. 79: 1320-1325.
21. Lopez-Ferrer, S., Baucells, M.D., Barroeta, A.C. and Grashorn, M.A. 1999. N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: Alternative substitution with rapeseed and linseed oils. J. Poult, Sci. 78: 356-365.
22. Lopez-Ferrer, S., Baucells, M.D., Barroeta, A.C. and Grashorn, M.A. 2001. N-3 Enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: fish oil. J. Poult. Sci. 80: 741-732.
23. National Research Council (NRC). 1994. Nutrient Requirements of Poultry. National Academy Press. Washington. D.C. USA. 9$^{Th}$ Edition.
24. Parmentier, H.K., Nieuwland, M.G.B., Barwegen, M.W., Kwakkel, R.P. and Chrama, J.W. 1997. Dietary unsaturated fatty acids affect antibody responses and growth of chickens divergently selected for humoral responses to sheep red blood cells. Poult. Sci. 76: 1164-1171.
25. Prickett, J.D., Robinson, D.R. and Block, K.J. 1982. Enhanced production of IgE and IgG antibodies, associated with a diet enriched in eicosapentaenoic acid. Immunology. 46: 819-826.
26. Richmond, W. 1973. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia sp*. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. Clinic. Chem. 19: 1350-1356.
27. Saleh, H., Rahimi, S. and Karimi, M.A. 2009. The effect of diet that contained fish oil on performance, serum parameters, the immune system and the fatty acid composition of meat in broilers. Int. J. Vet. Res. 3 (2): 69-75.
28. SAS Institute. 1999. SAS 6.01. SAS Institute Inc. Cary. NC.
29. Sijben, J.W.C., Schrama, J.W., Nieuwland, M.G.B. and Parmentier, H.K. 2000. Immunomodulatory effect of indomethacin and prostaglandin E2 on primary and secondary antibody response in growing laying hens. Poult. Sci. 79: 949-955.
30. Torki, M., Golian, A., Arshami, J. and Tavakkoli, J. 2000. Effect of dietary fat source and fatty acid composition on immune responses of male growing broiler chicks. PSA Annual Meeting.
31. Wang, Y.W., Field, C.J. and Sim, J.S. 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset propotion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chiks. Poult. Sci. 79: 1741-1748.
32. Zaki, M.M. and Hady, M.M. 1995. Impact of different dietary fat sources on performance and immune response of broiler chickens. Vet. Med. J. Giza. 43: 183-192.
33. Zollitsch, W., Knaus, W., Aichinger, F. and Lettner, F. 1997. Effects of different dietary fat sources on performance and carcass characteristics of broiler. Animal Feed Science Technology. 66: 63-73.

*Vet. J. of Islamic Azad Uni. Tabriz Branch. 5, 1:1093-1101, 2011*

# Study on the effect of consumption period of fish oil on serum concentration of cholesterol and triglyceride and antibody response in broiler chicks

**Iravani, H.[1*], Karimi Torshizi, M.A.[2], Khierkhah, B.[3]**

1- Department of Animal Science, Baft Branch, Islamic Azad University, Baft, Iran
2-Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

[*]***Corresponding author's email:*** *hi_iravani@yahoo.com*

**(Received: 2011/5/2, Accepted: 2011/7/27)**

## Abstract

The aim of the present study was to determine the optimal time of fish oil inclusion in broiler feed formulation on antibody response and concentration of serum cholesterol and triglyceride. A 49 day study was conducted on 600 one-day old chicks from a commercial hybrid (Ross) which were randomly allocated to 6 groups. The control group was fed a diet containing 5 % corn oil and in experimental groups the fish oil was substituted for corn oil from 2,3,4,5 and 6 weeks. Serum concentration of cholesterol and triglyceride were determined on days 37 and 44. Titer of antibody against sheep red blood cells (SRBC) were determined 7 days after immunization on days 30 and 37. Supplementation of diet by fish oil did not affect concentration of serum cholesterol. However, concentration of serum triglyceride decreased significantly ($p$<0.01). Titer of IgG against SRBC was affected in first injection ($p$<0.01) and the maximum antibody response was seen in control group and chickens feeding fish oil for 2 weeks, and antibody response decreased with increase of consumption length of fish oil. Titer of IgM in the second injection ($p$<0.05) were affected by dietary treatments. Chickens which were fed fish oil for 2, 3 and 4 weeks had higher antibody response than other treatments.

**Keywords**: Omega-3 fatty acid, Antibody response, Fish oil, Broiler, Length of consumption