تحسين بعض الصفات الدمية لفروج اللحم بأستخدام نسب مختلفة من الحامض الاميني التربتوفان في العليقة

*مهند منذر جواد** *سجى حسين الربيعي** *احمد حسين خطار**
*تهاني سلمان العزاوي***

استلام البحث 2، اذار، 2009
قبول النشر 27، شباط، 2011

الخلاصة:
أستخدم في تنفيذ هذه الدراسة (60)فرخ لحم بعمر يوم واحد قسمت الى ثلاث مجموعات متساوية واعطيت الاولى عليقة اعتيادية (مجموعة السيطرة) واعطيت المجموعتان الثانية والثالثة عليقة اعتيادية مضاف اليها 0.01% و0.02%من التربتوفان على التوالي. استمرت التجربة مدة (7)اسابيع.
بينت النتائج ان الطيور التي اضيف التربتوفان الى عليقتها اظهرت ارتفاعا معنويا في تركيز الغلوبيولين وفي نسبة الخلايا اللمفية /المتغايرة وكذلك في عدد خلايا الدم الحمر وتركيز خضاب الدم والنسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوص .
نستدل من هذه النتائج الى ان اضافة التربتوفان الى عليقة فروج اللحم تعمل على تحسين بعض الصفات الدموية لدى الافراخ من خلال زيادة نسبة الخلايا اللمفية والتي تعتبر الخط الدفاعي الاول في الطيور ، وكذلك زيادة تركيز الغلوبيولين وهذا واضح من الحالة الصحية الجيدة للطيور وقلة الهلاكات.

الكلمات المفتاحية : فروج اللحم ،تربتوفان ،الصفات الدمية

المقدمة:

أن الحامض الاميني ل_تربتوفان من الاحماض الامينية قليلة الوجود في المواد العلفية النباتية والحيوانية وعلى هذا الاساس اعتمدت بعض الشركات على تصنيعه لاستخدامه كأضافة علفية لتحسين كفاءة الحيوان المناعية والغذائية .يعد التربتوفان المصدر الاساس لعدد من المركبات داخل الجسم مثل السيروتونين والميلاتونين [1]و للنياسين والالنين و للطاقة [2].
وقد ثبت ان هذا الحامض الاميني يعمل على خفض تركيز السكر في الدم من خلال تأثيره في مستوى السيروتونين وفي خفض مستوى الكولستيرول في المصل [3]وهذا ما اكده [4].
ونظرا لقلة الابحاث حول تأثير هذا الحامض الاميني في افراخ اللحم صمم هذا البحث لدراسة تأثيراته المناعية في الطيور من خلال حساب عدد الخلايا اللمفية/ المتغايرة وكمية الغلوبيولين وعدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم كريات الدم المرصوص ،وذلك من أجل النهوض بواقع الدواجن الصحي والمناعي مما ينعكس ايجابيا على الصفات الاقتصادية لفروج اللحم .

المواد وطرائق العمل:

أجري البحث في كلية الطب البيطري /جامعة بغداد / الوحدة الخاصة بقسم الفسلجة حيث تم فيها استخدم (60)فرخ لحم بعمر يوم واحد من سلالة فاوبرو وقد قسمت الى ثلاث مجاميع هي :

1_مجموعة السيطرة وتضم (20)فرخ تم تغذيتها على عليقة اعتيادية (كما موضح في الجدول رقم 1)
2_مجموعة المعاملة (1) وتضم (20)فرخ تم تغذيتها على عليقة اعتيادية + 0.01 % تربتوفان
3_مجموعة المعاملة (2) وتضم (20)فرخ تم تغذيتها على عليقة اعتيادية + 0.02 % تربتوفان
غذيت الافراخ على العلائق بصورة حرة *ad.libitum*طول مدة التجربة التي استمرت لمدة سبعة اسابيع

جدول (1) مكونات العليقة الاعتيادية التي تم تغذيتها للحيوانات

المكونات	البادئ%	النهائي%
ذرة صفراء	45	45
حنطة	19	24
كسبة فول الصويا	25	20
مركز بروتيني	10	10
كلس	0.7	0.7
ملح	0.3	0.3
البروتين الكلي	23.415	18.88
الطاقة الممثلة	3174kcal	3169kcal

المعاير الدموية Blood Parameters
جمعت نماذج الدم في نهاية الاسابيع الثاني والرابع والسادس والسابع بطريقة السحب المباشر من القلب

*وزارة العلوم والتكنولوجيا ، بغداد ،ص.765
** مركز كلية الطب البيطري .

ومن الوريد الجناحي في انابيب اختبار حاوية على مانع التخثر واخرى خالية من مانع التخثرلغرض فصل المصل واجراء الفحوص الكيموحيوية

1_حساب عدد خلايا الحمر Red blood cells count

بحسب الطريقة المذكورة في [5] وباستخدام محلول التخفيف Natt and Herrick solutionوباستخدام الشريحة الخاصة بالعد Heamocytometer وحسبت الخلايا في المربعات الخمس الخاصة بخلايا الدم الحمر ثم طبقت المعادلة الآتية :

$$\text{عددالخلايا الحمر} = \frac{\text{عدد الخلايا المحسوبة} \times \text{معامل التخفيف} \times \text{معامل العمق}}{\text{عدد المربعات المحسوبة}}$$

2- قياس تركيز خضاب الدم Hemoglobin Concentrsyion (g/dl)

وتعتمد الطريقة على تحويل خضاب الدم الى Cyanomethemoglobin وذلك بأضافة 0.02 مل من الدم الى 5مل من محلول Drabkin"s ثم وضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة عشر دقائق ،بعد ذلك تقرأ النتيجة على طول موجي 540 بواسطة جهاز المطياف الضوئي [5] ثم طبقت المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز خضاب الدم} = \frac{\text{تركيز الخضاب القياسي}}{1000} \times \text{معامل التخفيف} \times \frac{\text{قراءة النموذج}}{\text{قراءة الخضاب القياسي}}$$

3_حجم الخلايا المرصوص Packed cell volume

استعملت طريقة المايكروهيماتوكرت اذ سحب الدم بواسطة انابيب شعرية وغلق احد طرفيها بالطين الاصطناعي ووضعت في خهاز الطرد المركزي (Microhematocrit centrifuge)لمدة خمس دقائق (2000 دورة /دقيقة)ثم قرأت النتائج بواسطة المسطرة الخاصة بالجهاز [5].

4_العد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential count for W.B.C

استخدمت الشرائح الزجاجية لعمل المسحات الدموية وذلك بأخذ قطرة من الدم ووضعها على احد طرفي الشريحة وسحبها على طول الشريحة بواسطة شريحة ثانية ،تترك هذه الشرائح لتجف بدرجة حرارة الغرفة ثم تثبت بواسطة الكحول وذلك بوضع قطرات منه على الشرائح لمدة خمس دقائق ، تغطس الشرائح في وعاء خاص مليء بصبغة Wright لمدة خمس دقائق ثم تترك لتجف وتحفظ لحين قرائتها بواسطة المجهر الضوئي Olymps وبالعدسة الزيتية وتحسب عدد انواع كريات الدم البيض كلا على حدا .[6]

5_قياس مستوى الغلوبيولين في المصل Globulin concentration

قيس مستوى الغلوبيولين بطريقة غير مباشرة وذلك بعد قياس مستوى الالبومين في المصل وطرحه من البروتين الكلي بطريقة Biured method [7]والتي تعتمد على تفاعل ايونات النحاس الموجودة في كاشف بايوريت مع ببتيدات البروتين في وسط قاعدي وتكوين معقد ملون ،وتتلخص الطريقة بالجدول الاتي :

جدول (2) قياس مستوى البروتين الكلي في مصل الدم (g/dL)

	الاختبار	القياسي	Blank
ماء مقطر	_	_	0.02مل
المحلول القياسي	_	0.02 مل	_
مصل الدم	0.02 مل	_	_
كاشف بايوريت	1 مل	1 مل	1 مل

وضعت الانابيب في حمام مائي لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة25-20 م ثم قرأت على طول موجي 540 نانومتر وطبقت المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز البروتين الكلي} = \frac{\text{قراءة النموذج}}{\text{قراءة القياسي}} \times 6$$

6= التركيز القياسي

جدول (3) قياس مستوى الالبومين في مصل الدم (g/dL)

الاختبار	القياسي	Blank
0.2مل مصل +5.5مل سلفات الصوديوم 28%+1مل ايثر	2مل من المحلول القياسي +5مل كاشف البايوريت	2مل ماء مقطر + 5مل منكاشف البايوريت
وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي مدة 10 دقائق واخذ 2مل من الرائق واضيف له 5مل من كاشف بايوريت		

وضعت الانابيب في حمام مائي بدرجة 37 م لمدة10 دقائق ثم قرأت على طول موجي 540 نانومتر وطبقت المعادلة الاتية:

$$\text{تركيز الالبومين} = \frac{\text{اختبار_Blank}}{\text{القياسي_Blank}} \times 0.01 \times \frac{100}{3/0.5}$$

تركيز الغلوبيولين = تركيز البروتين الكلي _تركيز الالبومين

النتائج والمناقشة:

1_عدد خلايا الدم الحمر

يلاحظ وجود ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم الحمر في طيور مجموعتي المعاملة مقارنة مع طيور مجموعة السيطرة ($p<0.01$) وكما موضح في جدول (4).

قد يكون هذا الارتفاع في عدد كريات الدم الحمر متأتيا من التأثير المباشر للتربتوفان او غير المباشر (من خلال تأثيره في رفع مستوى الميلاتونين)على هرمون الدرقين [8]والذي يؤثر في تسريع تصنيع خلايا الدم الحمر من نخاع العظم (Erythropoiesis) وهذا ما اشار اليه [9] كما اشارت[10] الى ان تجريع الافراخ بالميلاتونين ادى الى نحسين الصورة الدموية لديها ،وقد اشار [11]الى ان العوامل المؤثرة في عدد خلايا الدم الحمر بشكل سلبي او ايجابي فأنها تؤثر وبنفس الاسلوب على تركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص وهذا ما يشير اليه الجدولان (5)و(6)حيث يلاحظ وجود ارتفاع معنوي في كل من تركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص في نهاية فترة التجربة .

جدول (4)عدد خلايا الدم الحمرلفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان (خلية ×10 /لتر)

المجموعة الاسبوع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الرابع	b 2.54 A + 0.19	a 3.45 A + 0.15	a 3.50 A + 0.27
السابع	b 2.97 B + 0.18	a 3.56 B + 0.15	a 3.62 B + 0.15

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياسي
الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p<0.01) بين المجاميع .
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين الاسابيع .

جدول (5) تركيز خضاب الدم لفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان(g/dL)

المجموعة الاسبوع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الرابع	a 7.22 A + 0.37	a 8.10 A + 0.36	a 8.60 A + 0.47
السابع	b 9.87 B + 0.11	a 10.97 B + 0.16	a 10.93 B + 0.06

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياسي
الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p<0.01) بين المجاميع .
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين الاسابيع .

جدول (6) حجم خلايا الدم المرصوص (P.C.V.%) لفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان

المجموعة الاسبوع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الرابع	c 24.5 A + 1.5	b 26.7 A + 1.4	a 28.3 A + 1.6
السابع	c 32.0 B + 1.5	b 36.3 B + 1.3	a 39.3 B + 1.3

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياس الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين المجاميع
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين الاسابيع .

2_ العد التفريقي لكريات الدم البيض

يوضح الجدول (7)النسبة المئوية للخلايا اللمفية في الدم ويلاحظ ارتفاعها في مجموعتي المعاملة بالتربتوفان مقارنة بمجموعة السيطرة لكنه غير معنوي في الاسبوعين الثاني والرابع (p<0.01) ويكون معنويا في الاسبوعين السادس والسابع .

جدول (7) النسبة المئوية للخلايا اللمفية لفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان

المجموعة الاسابيع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الثاني	a 74.6 A + 2.4	a 79.3 A + 1.2	a 80.6 A + 1.7
الرابع	a 79.3 AB + 3.7	a 83.0 A + 1.5	a 84.0 AB + 2.3
السادس	b 82.6 BC + 1.7	a 88.3 B + 0.8	a 90.6 BC + 0.6
السابع	b 85.0 C + 1.5	a 90.3 B + 1.3	a 92.3 C + 1.4

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياسي
الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين المجاميع .
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا (p< 0.01) بين الاسابيع .

اما النسبة المئوية للخلايا المتغايرة فقد لوحظ انخفاض نسبتها في مجموعتي المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا ما يوضحه الجدول (8).

جدول (8) النسبة المئوية للخلايا المتغايرة لفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان

المجموعة الاسابيع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الثاني	a 22.6 A + 1.2	a 20.6 A + 1.2	b 18.6 A + 0.3
الرابع	a 19.3 A + 0.3	b 15.6 B + 0.6	b 14.3 B + 0.8
السادس	a 15.6 B + 1.7	b 11.33 BC + 0.8	b 10.0 C + 0.5
السابع	a 12.0 C + 1.1	b 8.0 C + 1.1	b 7.6 C + 0.8

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياسي
الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا ($p< 0.01$) بين المجاميع .
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا ($p< 0.01$) بين الاسابيع .

وقد يكون هذا الارتفاع في عدد الخلايا اللمفية ناتج عن زيادة متأيضات التربتوفان في الجسم اذ ان الخلايا البيض هي المسؤلة عن نقل هذه المتأيضات الى الاعضاء المستهدفة وقد وجد ان 30%من السيروتونين يحمل على سطوح الخلايا اللمفية [13,12] وقد تعود الزيادة في الخلايا اللمفية الى تأثير التربتوفان في زيادة انتاج(- Interleukin 5(IL-5 [14]الذي يعمل على زيادة تكاثر الخلايا اللمفية من نوع B [15] مما يدعم ما توصل اليه البحث في تأثير التربتوفان في زيادة الخلايا اللمفية في الدم على حساب باقي انواع الخلايا البيض لاسيما المتغايرة.

وكما هو معروف فأن الخلايا اللمفية لها دور في زيادة المناعة الخلطية في الجسم من خلال تكوينها للاجسام المضادة(Antibodies) وزيادتها في طيور مجموعتي المعاملة تعني ان هذا الحامض الاميني يؤدي دورا مهما في زيادة مناعة الجسم[16]

3_**تركيز الغلوبيولين في المصل** : يوضح الجدول (9)وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$)في تركيز الغلوبيولين في طيور مجموعتي التربتوفان مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذا الارتفاع قد يعود الى تأثير الحامض في زيادة في مستوى هرمونات الدرقية [8] وهي التي تنقل في الدم مرتبطة مع بروتين الغلوبيولين مما دفع الجسم الى زيادة تصنيعه أو قد يعود السبب في الارتفاع هو ارتفاع نسبة الخلايا اللمفية حيث ان قسما منها تحمل على سطوحها جزيئات من الغلوبيولين المناعي .

جدول(9) :تركيز الكلوبيولين في المصل (g/dL) لفروج اللحم لمجموعة السيطرة و المجموعتين المعاملتين بالتربتوفان

المجموعة الاسبوع	السيطرة	المعاملة بالتربتوفان	
		%0.01	%0.02
الرابع	c 0.167 A + 0.007	b 0.224 A + 0.023	a 0.529 A + 0.007
السابع	b 0.366 B + 0.023	b 0.668 B + 0.036	a 0.722 B + 0.01

الارقام تمثل المعدل +الخطأ القياسي
الاحرف الصغيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا ($p< 0.01$) بين المجاميع .
الاحرف الكبيرة المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي احصائيا ($p< 0.01$) بين الاسابيع .

المصادر:

1-Al –Azawi, T.S.; Al-Rubaee, S.H. 2008: Effect of dietary tryptophan supplementation on broiler .Vet. Research .1(2):71-78 .

2-Hamilton,E.M.; Gropper,S. A.1987 :Thebiochemistry of human nutrition. 2nd. ed. Westpublishing company.

3-Aviram,M.; Cogan, U.;Mokady,S. 1991:Excessive dietary tryptophan enhances plasma lipid peroxidation in rats:Atherosclerosis.88(1):29-34.

4-Al- Rubaee,S.H.2000: Effectof L-Tryptophan supplementation to the broiler diet on some productional and physiological characters .Msc thesis.Coll .of Vet. Med. Uni.Of Baghdad.Iraq.

5-Campbell,T.W., Thrall,M.N.,Baker, D.C., 2004 :Vetrinary haematology and clinical chemistry 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins .

6-Coles,E.H.1986:Veterinary clinical pathology.4th ed. WB.saunders company.

7-Wootton,I.D. 1964 :Micro-analysis :Medical biochemistry.4th ed. Jand. A. Chuchill, Ltd. London WI.

8-Herichova, I.; Veselovesky, J.; Zeman, M.1998 :Effect of tryptophan administration on melatonin concentration ib pineal gland,plasma and gastrointestinal tract of chickens .Acta. Veter., 67(2):89-95.

melatonin. J. PinealRes.,18(2):84-89.
14-Yamaoka,K.A.; Miyasaka,N.; Inuo, G.; Saito, I.1994: 1,1-Ethylidenebis (Tryptophan) (peak E) induces functional activation of human eosinophils and interleukin-5 production from T-lymphocytes :association of eosinophilia-myalagia syndrom with L – Tryptophan contaminant. J.Uin .Immunol., 14(1):50-60.
15-Davison, T.F.; Morris,T.R.; Payne,L.N.2005:Poultry immunology. 2nd ed. Carfax publishing company .U.K.
16-Toivanen,A.;and Toivanen,P. 1987 :Avian Immunology:basis and practic.Vol.1 CRC press.
9-Al-azawi, T.S., Radhi,A.K.J. 2001 :Influence of heat stress on blood pictureand some plasma constituentin laying hen .The Veterinarian. 6 (1);29-37.
10-Habib,A.A ;Al-Azawi,T.S.S. and Radi,A.A.W.2003: The role of melatonin maintenance of blood picture.I.J.Vet.Med. 27 (1):208-215.
11-Sturkie, P.D. 2000 :Avian physiology. 5th ed. Springer velag .NewYork .Inc.
12-Finocchiaro,L.M.; Nahmod,V.E.; Launary, J.M. 1994: Melatonin biosynthesis and metabolism in peripheral blood mononuclear leukocytes. Biochemical J. 280(8):727-731.
13-Maestroni, G.J. 1995 :T-helper-2lymphocutes aperipheral targt of

Improvement of the blood characteristics of the broiler chickens by addition tryptophan acid supplement levels in ration

Muhannad Munthir Jwad* ***Sjaa Haussin AL-Ruby****
Ahmad Hussien Kutar* ***Tahanee Salman AL-Azawi*****

*Ministry of technology and science.
**College veterinery medicine, University of Baaghdad

Abstract:

This study were implemented on (60) broiler chick with one day age divided into three equal groups , first one was given basal diet while group two and three given adiet contain 0.01% ,0.02% tryptophan respectively for 7 weeks .
The results show that the chicks recevd the tryptophan have asigneficant increasment in hemoglobin concentration, red blood cells count, packed cell volume and increased the level of globuline concentration and lymphocyte % which mean that the addition of tryptophan improve blood picture charactores and the immunity of the broiler chickens and this evident from the good health state and decrease the mortality among birds .