

پیش بینی پاسخ ایمنی همورال بر علیه گلبول قرمز گوسفندی بر اساس شمار گلبول های سفیدخونی در بلدرچین ژاپنی (*Coturnix japonica*)

- **بتول اصغری اسفدن***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **سعید زره داران**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ۹۱۷۳۵-۳۳۱
- **یوسف جعفری آهنگری**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **سعید حسنی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۹۱۳۸-۱۵۷۳۹
- **الیاس لطفی**: باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، صندوق پستی: ۷۱۷

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

چکیده

تقویت سیستم ایمنی در جلوگیری از تلفات و افزایش راندمان تولید موثر است. راه های مختلفی برای بالا بردن کارایی سیستم ایمنی وجود دارد و تحقیقات زیادی هم در این زمینه صورت گرفته است. بدین منظور در تحقیق حاضر با استفاده از اطلاعات مربوط به تعداد سلول های خونی از قبیل هتروفیل، لیمفوسیت، منوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل، ۱۹۶ بلدرچین ژاپنی (۹۸ عدد جنس ماده و ۹۸ عدد جنس نر) در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، تیتراستی بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) پیش بینی شد. پس از تهیه محلول SRBC، در روز ۲۸ دوره پرورش مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول ۵ درصد SRBC به عضله سینه تزریق شد و هفت روز بعد در روز ۳۵ دوره پرورش، خون گیری از سیاهرگ گردنی جهت شمارش سلول های خونی و تیتراستی بادی بر علیه SRBC انجام شد. تیتراستی بادی از روش هم‌آگلوتیناسیون جهت بررسی همبستگی بین میزان پیش بینی شده تیتراستی بادی و میزان اندازه گیری شده در واقعیت انجام شد. حدود ۰/۱ میلی لیتر خون جهت تهیه گسترش بر روی لام استفاده شد، گسترش با متانول ۹۹/۵ درصد تثبیت و در مجاورت هوا خشک شده و بعد از رنگ آمیزی با گیمسای رقیق شده و شستشو، آماده شمارش شد. باتوجه به نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش معنی داری در نسبت هتروفیل به لیمفوسیت در جنس ماده نسبت به جنس نر مشاهده شد ($P < 0/05$). برآورد تیتراستی بادی کل، تیتراستی بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیتراستی بادی حساس به مرکاپتواتانول (IgM) با استفاده از معادله رگرسیونی خطی چندگانه بر اساس تعداد سلول های خونی در جنس نر و در جنس ماده انجام شد. هم چنین همبستگی بین میزان برآورد شده و واقعی برای انواع تیتراستی بادی در دو جنس مثبت و معنی دار به دست آمد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: بلدرچین ژاپنی، سلول های خونی، گلبول قرمز گوسفندی (SRBC)، تیتراستی بادی



مقدمه

در سرولوژی به معنی تعیین تعداد مولکول‌های آنتی‌بادی در هر واحد از محلول می‌باشد. طرز عمل به این ترتیب است که غلظت‌های مختلف سرم را با میزان معینی از آنتی‌ژن مواجه می‌کنند. کم‌ترین رقتی که در آن آگلوتیناسیون مشاهده می‌شود به‌عنوان تیترا آنتی‌بادی مزبور خواهد بود (لیلوی و رعایایی، ۱۳۸۱). Demas و همکاران، (۲۰۱۱)؛ Moller و همکاران (1998)؛ Raberg و همکاران (۱۹۹۸)؛ Gustafsson و همکاران (1994) برای بررسی پاسخ ایمنی، از آنتی‌ژن‌های مصنوعی همانند گلبول قرمز خون گوسفندی در طیور استفاده کردند و ارتباط پاسخ ایمنی را با وزن بدن بررسی کردند. Krams و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق خود در گونه‌ای از پرندگان زینتی (*parus major*) دامنه تیترا آنتی‌بادی بر علیه بروسلا/برتوس را با استفاده از نسبت هتروفیل به لمفوسیت پیش‌بینی کردند. به‌طوری‌که افزایش دامنه تیترا آنتی‌بادی را با کاهش نسبت هتروفیل به لمفوسیت گزارش کردند با توجه به وجود ارتباط و همبستگی بین سلول‌های تخصص یافته خون و آنتی‌بادی تولید شده در مقابل سایر عوامل بیگانه، هدف از تحقیق حاضر، ارائه یک مدل رگرسیونی جهت پیش‌بینی تیترا آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC: Sheep red blood cell) با استفاده از اطلاعات مربوط به تعداد گلبول‌های سفید در جمعیتی از بلدرچین ژاپنی در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

معرفی اطلاعات مورد استفاده در این پژوهش طی یک دوره پرورشی ۳۵ روزه، در ایستگاه تحقیقاتی پرورش بلدرچین واقع در پردیس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در شهریور ماه سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد.

صفات مورد مطالعه: صفات اندازه‌گیری شده در این تحقیق عبارت‌اند از: اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفندی شامل تیترا آنتی‌بادی کل، تیترا مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیترا حساس به مرکاپتواتانول (IgM) ۲، شمارش سلول‌های خون (هتروفیل، لمفوسیت، منوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل)

روش تهیه محلول SRBC: برای تهیه محلول SRBC، ابتدا از یک گوسفند نژاد افشاری، خون‌گیری انجام شد و در لوله‌های حاوی EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic) قرار گرفت. سپس با دور ۲۵۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از این مرحله، مایع بالای

سیستم ایمنی پرندگان یک شبکه پیچیده از اندام‌ها و بافت‌ها می‌باشد که توسط خون و عروق لنفاوی متصل شده‌اند. خون شامل دو بخش سلولی و غیرسلولی است و عمده سلول‌های موجود در خون شامل دو گروه گرانولوسیت‌ها (هتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها) و غیرگرانولوسیت‌ها (لمفوسیت‌ها و منوسیت‌ها) می‌باشند. بخش غیرسلولی خون، مایعی به نام پلاسما است که ترکیبات عمده پلاسما، ایمنوگلوبین‌ها (آنتی‌بادی‌ها) هستند (Gisela، ۱۹۹۷). یکی از شاخص‌های فیزیولوژیکی مهم و قابل اعتماد برای پاسخ جوجه‌ها در برابر استرس، نسبت هتروفیل به لمفوسیت می‌باشد که این نسبت به دلیل در معرض قرار گرفتن عوامل استرس‌زا افزایش می‌یابد (Siegel و Gross، ۱۹۸۳). ائوزینوفیل‌ها قادر به فاگوسیتوز و تشکیل کمپلکس پادگن-پادتن هستند و چون می‌توانند واکنش‌هایی را که به فعال شدن بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها منجر می‌شود، تعدیل کنند، به‌عنوان یاخته‌های ضدالتهاب نیز شناخته شده‌اند. بازوفیل‌ها خاصیت جذب شیمیایی دارند و تا حدی جزئی از خود، بیگانه خواری بروز می‌دهند. گرانول‌های بازوفیل حاوی پراکسیداز، هیستامین و هپارین‌اند و باعث تشدید پاسخ التهابی می‌شوند. منوسیت‌ها نسبت به هتروفیل‌ها مدت زمان بیش‌تری طول می‌کشد که تا به محل عفونت برسند ولی تعداد بیش‌تری از میکروب‌ها را از بین می‌برند و همراه با عفونت‌های ویروسی، قارچی و سایر بیماری‌های مزمن افزایش می‌یابند (ضمیری، ۱۳۸۲).

پادتن‌ها یا ایمنوگلوبین‌ها (Ig) مولکول‌های پروتئینی هستند که توسط سلول‌های B که به پلاسماوسیت‌ها مبدل شده‌اند، تولید می‌گردند. (لیلوی و رعایایی، ۱۳۸۱). ایمنوگلوبین‌های G (IgG)، ایمنوگلوبین اصلی سرم خون هستند و نقش اصلی را در واکنش‌های همورال پرندگان بازی می‌کنند. ایمنوگلوبین‌های M (IgM) که به‌نظر می‌رسد در تحریکات ایجاد شده توسط پادگن‌های مختلف این دسته از ایمنوگلوبین‌ها قبل از بقیه ایمنوگلوبین‌ها تولید می‌شوند، به‌طوری‌که IgM تقریباً ۲ تا ۳ روز پس از ورود پادگن به بدن تولید می‌گردند.

روش‌های متعددی برای سنجش پاسخ‌های ایمنی وجود دارد که با مطالعه‌ی این روش‌ها، طرز کار و اثرات آنتی‌بادی در بدن و نقش آن در ایجاد بیماری مشخص می‌شود. یکی از این روش‌ها بررسی تیترا آنتی‌بادی است. تعیین غلظت آنتی‌بادی را در سرم و یا محلول‌های دیگر، تیترا آنتی‌بادی می‌گویند و این



دقیقه قرار گرفتند. پس از نیم‌ساعت به بقیه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر PBS اضافه و سپس رقت‌های (۱/۴۹۶-۱/۲ میکرولیتر) تهیه گردید. پس از تهیه این رقت‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول SRBC ۱٪ به هر چاهک اضافه شد. پلت به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و پس از آن شماره اولین چاهک لیز شده یادداشت گردید. تیتراها براساس \log_2 به‌عنوان بیش‌ترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد، بیان شد. IGM از تفاضل بین تیتراآنتی‌بادی کل و تیترا مقاوم به مرکاپتواتانول IgG، به‌دست می‌آید (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

شمارش سلول‌های خونی: حدود ۰/۱ میلی‌لیتر خون کامل پس از خون‌گیری از بلدرچین‌ها در سن ۳۵ روزگی، جهت تهیه گسترش خونی استفاده شد. پس از خشک شدن در مجاورت هوا، لام با متانول ۹۹/۵ درصد ثابت‌شده و سپس به گستره خونی خشک شده رنگ گیمسای رقیق‌شده با آب به نسبت ۱ به ۱۰ میزانی که لام را بپوشاند افزوده شد. رنگ‌آمیزی به مدت ۴۵ دقیقه ادامه داشت. بعد از شستشو، شمارش گلبول‌های سفید انجام شد. در یک گستره رنگ‌آمیزی شده، با استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی شیئی ۱۰۰، نوع گلبول سفید (هتروفیل، لیمفوسیت، منوسیت، بازوفیل، ائوزینوفیل) در هر بخش شناسایی شده و این کار تا شمارش ۱۰۰ عدد گلبول سفید انجام شد (Lucas و Jamroz، ۱۹۶۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد مطالعه: برای اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اثرات ثابت (جنس) بر روی صفات مورد نظر به‌ترتیب از رویه‌های univariate و مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS، استفاده شد. هم‌چنین برای تعیین تابعیت صفات مربوط به تعداد گلبول‌های سفید و تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC از رویه Reg نرم‌افزار SAS ۹/۱ (SAS، ۲۰۰۱) استفاده شد.

نتایج

میانگین و اثر جنس بر روی صفات مورد مطالعه در جدول ۱ و ارائه مدل رگرسیونی، مقادیر پیش‌بینی شده برای صفات مربوط به تیترا آنتی‌بادی و همبستگی بین میزان پیش‌بینی شده و واقعیت در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش معنی‌داری در نسبت هتروفیل به لیمفوسیت در جنس ماده نسبت به جنس نر مشاهده شد ($P < 0/05$).

گلبول‌های قرمز (پلاسما) دور ریخته شد و به‌همان میزان سرم فیزیولوژی (محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) به آن اضافه گردید و دوباره سانتریفوژ گردید و محلول بالایی دور ریخته شد. این عمل ۳ مرتبه انجام گرفت. سپس گلبول‌های قرمز شسته شده با محلول کلرید سدیم رقیق شد و محلول ۵ درصد گلبول قرمز شسته شده به‌دست آمد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

تزریق محلول SRBC به بلدرچین‌ها: در روز ۲۸ دوره پرورش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد SRBC به‌وسیله سرنگ به عضله سینه ۱۹۶ بلدرچین (۹۸ عدد جنس ماده و ۹۸ عدد جنس نر) تزریق شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳). هفت روز بعد از تزریق (روز ۳۵) خون‌گیری از سیاهرگ گردنی بلدرچین‌ها انجام گرفت و پس از جداسازی سرم‌ها، نمونه‌ها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت و تا روز اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی در این دما نگهداری شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC: برای اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC از روش هماگلوتیناسیون استفاده شد. ابتدا پنجاه میکرولیتر سرم به‌داخل اولین چاهک پلت ۹۶تایی الیزا (U شکل) اضافه شده و پلت در داخل انکوباتور در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از نیم‌ساعت، ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (PBS: Phosphate Buffer Solution) به چاهک اول پلت‌ها اضافه شد و داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از نیم‌ساعت به بقیه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر PBS اضافه و سپس رقت‌های (۱/۴۹۶-۱/۲ میکرولیتر) تهیه گردید. پس از تهیه این رقت‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول SRBC ۱٪ به هر چاهک اضافه شد. پلت به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و پس از آن شماره اولین چاهک لیز شده یادداشت گردید. تیتراها براساس \log_2 به‌عنوان بیش‌ترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد، بیان شد (Cheema و همکاران، ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری تیترا مقاوم به مرکاپتواتانول IgG و حساس به مرکاپتواتانول IgM: ابتدا پنجاه میکرولیتر سرم به‌داخل اولین چاهک پلت ۹۶تایی الیزا (U شکل) اضافه شده و پلت در داخل انکوباتور در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از نیم‌ساعت، ۵۰ میکرولیتر محلول مرکاپتواتانول ۰/۰۱ درصد به‌داخل اولین چاهک پلت‌ها اضافه شد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰



جدول ۱: بررسی اثر جنس بر روی سلول‌های خونی و تیتراآنتی‌بادی

خطای معیار	میانگین		تعداد	صفات
	نر	ماده		
۰/۰۲	۰/۴۷ ^b	۰/۶۲ ^a	۹۸	هتروفیل/لیفوسیت (درصد)
۰/۶۰	۱۴/۱۸	۱۳/۰۵	۹۸	مونوسیت (درصد)
۰/۱	۰/۸۶	۰/۶۵	۹۸	بازوفیل (درصد)
۰/۰۸	۰/۶۲	۰/۷۶	۹۸	اُتوزینوفیل (درصد)
۰/۰۸	۱/۳	۱/۵	۹۸	تیترا آنتی‌بادی کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۰۶	۰/۳۷	۰/۴۴	۹۸	تیترا آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتو اتانول (igG) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۰۷	۰/۹۲	۱/۰۶	۹۸	تیترا آنتی‌بادی حساس به مرکاپتو اتانول (igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

تعداد سلول‌های خونی در جنس نر به ترتیب ۱/۱۶، ۰/۴۴ و ۱/۰۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در جنس ماده به ترتیب ۱/۲۹، ۰/۳۸ و ۰/۹۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به دست آمد. هم‌چنین همبستگی بین میزان پیش‌بینی شده و واقعی مثبت و معنی‌دار به دست آمد.

در بررسی اثر جنس بر روی تیتراآنتی‌بادی کل، IgM و IgG، تفاوت معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده مشاهده نشد ($P > 0.05$). ولی مقدار عددی آن در جنس ماده بیش‌تر از نر بود. برآورد تیترا آنتی‌بادی کل، تیترا آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (IgG) و تیترا آنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول (IgM) با استفاده از معادله رگرسیونی خطی چندگانه براساس

جدول ۲: ارائه مدل رگرسیونی جهت پیش‌بینی تیترا آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) با استفاده از سلول‌های خونی

متغیر وابسته	جنس	معادلات	میانگین پیش‌بینی شده	میانگین اندازه‌گیری شده	همبستگی بین پیش‌بینی و واقعیت
تیترا آنتی‌بادی کل (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	$Y = 1/72 - 0/05a - 0/91b + 0/13c - 0/31d$	۱/۱۶	۱/۵۱	* ۰/۳۲
تیترا آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتو اتانول (igG) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	ماده	$Y = 2/05 - 0/062a + 0/11b - 0/06c + 0/03d$	۱/۲۹	۱/۳۰	** ۰/۴۵
تیترا آنتی‌بادی حساس به مرکاپتو اتانول (igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	$Y = 0/49 - 0/004a - 0/33b + 0/27c - 0/1d$	۰/۴۴	۰/۴۴	** ۰/۵۰
تیترا آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتو اتانول (igG) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	ماده	$Y = 0/58 - 0/02a + 0/15b - 0/09c + 0/09d$	۰/۳۸	۰/۳۷	* ۰/۳۱
تیترا آنتی‌بادی حساس به مرکاپتو اتانول (igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	نر	$Y = 1/24 - 0/002a + 0/24b - 0/14c - 0/21d$	۱/۰۶	۱/۰۶	* ۰/۳۹
تیترا آنتی‌بادی حساس به مرکاپتو اتانول (igM) (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	ماده	$Y = 1/47 - 0/04a - 0/04b + 0/03c - 0/07d$	۰/۹۱	۰/۹۳	* ۰/۳۳

* سطح معنی‌داری ($P < 0.05$)

** سطح معنی‌داری ($P < 0.01$)

a: منوسیت، b: نسبت هتروفیل به لیفوسیت، c: بازوفیل، d: اُتوزینوفیل

همکاران، ۲۰۰۹). روش سنتی برای ارزیابی هزینه و قدرت پاسخ‌ایمنی شامل ایجاد چالش‌هایی در حیوانات آزمایشی با آنتی‌ژن خارجی و اندازه‌گیری پاسخ‌ایمنی ناشی از این چالش ایجاد شده با استفاده از آنتی‌ژن مصنوعی، جداسازی اثرات فیزیولوژیکی، چالش‌های ایمنی را از اثرات پاتولوژیک انگل‌ها ایجاد می‌کند. یکی از رایج‌ترین آنتی‌ژن‌های به کار رفته برای بررسی پاسخ سیستم ایمنی، محلول گلبول قرمز خون گوسفندی

بحث

انگل‌ها و عوامل بیماری‌زا تهدیدی گسترده برای موجودات زنده محسوب می‌شوند و مسئول رسیدگی به این چالش‌ها سیستم پیچیده ایمنی است که با تعامل گسترده با یکدیگر، فعالیت‌های بدن را برای تخریب و از بین بردن عوامل بیماری‌زا به کار می‌برند (Martin و همکاران، ۲۰۱۱؛ Schulenburg و



توسط ماکروفاژها بلعیده می‌شوند و سپس ماکروفاژها میکروب‌ها را به لیمفوسیتی‌های B عرضه می‌دارند. این سلول‌ها نیز چند روز بعد از عرضه، آنتی‌بادی تولید می‌کنند. این وقفه زمانی به خاطر آماده شدن و تکثیر تعداد مورد نیاز از سلول‌های B می‌باشد. از این رو نسبت هتروفیل به لیمفوسیت و تعداد سایر سلول‌های خونی باعث می‌شود تا پرنده بتواند در برابر بیماری‌ها مقاومت نموده و یا به عوامل بیگانه پاسخ مؤثر بدهد. Krams و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق خود در گونه‌ای از پرندگان زینتی (*parus major*) دامنه تیتراآنتی‌بادی بر علیه بروسلا/برتوس را با استفاده از نسبت هتروفیل به لیمفوسیت پیش‌بینی کردند. به طوری که افزایش دامنه تیتراآنتی‌بادی را با کاهش نسبت هتروفیل به لیمفوسیت گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت که دلایل آن را می‌توان به گونه مورد استفاده، شرایط پرورش، آب و هوا، عوامل تنش و... اشاره کرد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که با انجام خون‌گیری و شمارش انواع گلبول‌های سفید می‌توان تا حد مطلوبی عملکرد سیستم ایمنی در بلدرچین ژاپنی را تعیین کرد.

منابع

۱. ضمیری، م.ج.، ۱۳۸۲. فیزیولوژی دام. انتشارات حق شناس. رشت. ۳۸۷ صفحه.
۲. لیلوی، ه. و رعایایی، م.، ۱۳۸۱. ایمنی شناسی. انتشارات سایه هور. اهواز. ۱۹۴ صفحه.
3. Ahmed, A.S.; Penhale, W. and Talal, N., 1985. Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Am. J. Pathol. Vol. 125, pp: 531-551.
4. Boa-Amponsem, K.; Dunnington, E.A. and Siegel, P.B., 1997. Genetic architecture of antibody responses of chickens to sheep red blood cells. J. Anim. Breed. Genet. Vol. 114, pp: 443-449.
5. Campo, J.L., 1991. Use of the sex-linked barring (*B*) gene for chick sexing on a eumelanotic Columbian background. Poultry Sci. Vol. 70, pp: 1469-1473.
6. Cheema, A.; Bari, F. and Saddique, O., 2003. Corporate governance in Pakistan: ownership, control and the law. NIPA Journal. Karachi. Vol. 8, pp: 07-18.
7. Demas, G.E.; Adamo, S.A. and French, S.S., 2011. Neuroendocrine-immune crosstalk in vertebrates and invertebrates: implications for host defence. Funct. Ecol. Vol. 25, pp: 29-39.
8. Farrar, J.J.; Mirel, S.B.J.; Fuller-Farrar, F.W.L. and Hilfiker, M.L., 1980. Effects of different levels of organic and inorganic chromium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. J. Anim. sci. Vol. 70, pp: 559-565.
9. Gisela, F.E., 1997. Immune System Function and development in broiler. University of Arkansas Fayetteville, AR 72701. pp: 109-123.

می‌باشد (Lochmiller و Deerenberg، ۲۰۰۰؛ Norris و Evans، ۲۰۰۰؛ Sheldon و Verhulst، ۱۹۹۶). تحریک سیستم ایمنی بر اثر چالش وارده بر بدن موجود زنده براساس جنس متفاوت می‌باشد، به طوری که Sahin و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقات خود گزارش کردند که در اثر استرس گرمایی، نسبت هتروفیل به لیمفوسیت در بلدرچین ماده نسبت به بلدرچین نر بیش‌تر است. این محققین تولید بالاتر گلوکوکورتیکوئیدها در جنس ماده را از سازوکارهای احتمالی اثرات مثبت آن بر نسبت هتروفیل به لیمفوسیت عنوان کردند. علاوه بر این گزارش شده است که عوامل استرس‌زا و تنشها موجب کاهش تولید فاکتورهای موثر بر تکثیر لیمفوسیت‌ها مانند اینترلوکین-۲ (IL-2) می‌شود (Farrar و همکاران، ۱۹۸۰). به طور کلی جنس ماده نسبت به نر بیش‌تر تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد (Campo و همکاران، ۱۹۹۱). از این رو تولید هتروفیل از مغز استخوان در جنس ماده تحت شرایط محیطی نامطلوب مثل استرس گرمایی یا چالش با سایر عوامل بیماری‌زا افزایش یافته و نسبت هتروفیل به لیمفوسیت نیز افزایش می‌یابد. به طور کلی تولید هتروفیل‌ها به وسیله سایتوکاین‌هایی به نام فاکتور محرک کلونی (CSF: Colony Stimulatig Factors) تحریک می‌شود. این سایتوکاین‌ها به وسیله بسیاری از انواع سلول‌ها، در پاسخ به عفونت ترشح می‌شوند و بر سلول‌های مغز استخوان اثر می‌کنند، تا از دیاد و بلوغ پیش‌سازهای هتروفیلی را باعث شوند. هم‌چنین در بررسی اثر جنس بروی تیتراآنتی‌بادی کل، IgM و IgG، تفاوت معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده مشاهده نشد ($P > 0.05$). ولی مقدار عددی آن در جنس ماده بیش‌تر از نر بود. Sarker و همکاران (۱۹۹۹) و Leitner و همکاران (۱۹۹۲) در تحقیقات خود بر روی مرغ، میزان IgM و IgG را در جنس ماده بیش‌تر از جنس نر گزارش کردند. هم‌چنین نتایج مشابهی در انسان و موش گزارش شده است (Nelson و همکاران، ۱۹۸۷؛ Ahmed و همکاران، ۱۹۸۵) که علت آن را به هورمون‌های جنسی تأثیرگذار بر روی تیموس و ایمنی سلولی نسبت می‌دهند. Boa-Amponsem و همکاران (۱۹۹۷)، بیان کردند که در جوجه‌های گوشتی میانگین تیتراآنتی‌بادی، در جنس ماده بیش‌تر از جنس نر است. آن‌ها علت آن را قرار گرفتن ژن‌های تأثیرگذار این صفات بر روی کروموزوم جنسی مرغ عنوان کردند. با توجه به این که سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی‌ها، لیمفوسیت‌های B نامیده می‌شوند که این سلول‌ها در کبد، کیسه زرده و مغز استخوان تولید شده و به بورس فابریسیوس انتقال می‌یابند. عامل بیماری‌زا بعد از ورود به بدن



10. Gross, W.B. and Siegel, H.S., 1983. Evaluation of the heterophil/ lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Dis. Vol. 27, pp: 972-979.
11. Gustafsson, L.; Nordling, D.; Andersson, M.S.; Sheldon, B.C. and Qvarnström, A., 1994. Infectious diseases, reproductive effort and the cost of reproduction in birds. Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci. Vol. 346, pp: 323-331.
12. Krams, I.; Vrublevska, J.; Cirule, D.; Kivleniece, I.; Krama, T.; Rantala, M.J.; Sild, E. and Hórák, P., 2012. Heterophil/lymphocyte ratios predict the magnitude of humeral immune response to novel antigen in great tits (*Parus major*). Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 161, pp: 422-428.
13. Leitner, G.; Uni, Z.; Cahaner, A.; Gutman, M. and Heller, E.D., 1992. Replicated divergent selection of broiler chickens for high or low early antibody response to *Escherichia coli* vaccination. Poultry Sci. Vol. 71, pp: 27-37.
14. Lochmiller, R.L. and Deerenberg, C., 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? Oikos. Vol. 88, pp: 87-98.
15. Lucas, A.M. and Jamroz, C., 1961. Atlas of Avian Hematology. Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25. USDA, Washington, DC. Agriculture Monograph 25. USDA, Washington, DC. 362 p.
16. Martin, L.B.; Hawley, D.M. and Ardia, D.R., 2011. An introduction to ecological immunology. Funct. Ecol. Vol. 25, pp: 1-4.
17. Møller, A.P.; Christe, P.; Erritzøe, J. and Mavarez, J., 1998. Condition, disease and immune defence. Oikos. Vol. 83, pp: 301-306.
18. Nelson, J.L. and Steinberg, A.D., 1987. Sex steroids, autoimmunity and autoimmune disease. in: Hormone Immunity. Chapter 6.1. Berczi and K. Kovacs, ed. MTP Press, The Hague, Netherlands. pp: 93-119.
19. Norris, K. and Evans, M., 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. Behav. Ecol. Vol. 11, pp: 19-26.
20. Råberg, L.; Grahn, M.; Hasselquist, D. and Svensson, E., 1998. On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. Proc. R. Soc. London B Biol. Sci. Vol. 265, pp: 1637-1641.
21. Sahin, N.; Akdemir, F.; Tuzcu, M.; Hayirli, A.; Smith, M.O. and Sahin, K., 2010. Effects of supplemental chromium sources and levels on performance, lipid peroxidation and proinflammatory markers in heat-stressed quails. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. 159, pp: 143-149.
22. Sarker, N.; Tsudzuki, M.; Nishibori, M. and Yamamoto, Y., 1999. Direct and correlated response to divergent selection for serum immunoglobulin M and G levels in chickens. Poultry Sci. Vol. 78, pp: 1-7.
23. Sarker, N.; Tsudzuki, M.; Nishibori, M. and Yamamoto, Y., 1999. Direct and correlated response to divergent selection for serum immunoglobulin M and G levels in chickens. Poultry Sci. Vol. 78, pp: 1-7.
24. SAS. 2001. SAS User's Guide, Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC. 78 p.
25. Sheldon, B.C. and Verhulst, S., 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. Trends Ecol. Evol. Vol. 11, pp: 317-321.

