



تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

صفحه‌های ۵۴۳-۵۳۳

تأثیر سطوح ترئونین و تراکم گله بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

کبری سوخته‌زاری^۱، علی خطیب‌جو^{۲*}، هوشنگ جعفری^۳، محمد اکبری قرائی^۴، کامران طاهرپور^۴
۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳. استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران.

۴. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۶/۲۷

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۴/۲۲

چکیده

تأثیر تراکم گله و سطوح مکمل ترئونین بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بررسی شد. در این آزمایش تعداد ۴۹۵ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس ۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار و پنج تکرار اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ۱- شاهد (۱۰ قطعه در مترمربع) دریافت‌کننده جیره پایه، ۲- تراکم (۱۵ قطعه در مترمربع) + جیره پایه، ۳ و ۴- تراکم + جیره حاوی به ترتیب ۱۰ و ۲۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز. نتایج نشان داد که تراکم بالا موجب کاهش مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در تمامی دوره‌های پرورش و افزایش شاخص بازده تولید اروپائی شد و افزایش سطح ترئونین جیره، خوراک مصرفی و وزن بدن جوجه‌های گوشتی را کاهش داد ($P < 0.01$). اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد تلفات، تیترا آنتی‌بادی نیوکاسل و آنفلوآنزا، پاسخ ایمنی سلولی علیه فیتوهمآگلوتینین، متابولیت‌های خونی، شمار سلول‌های خونی، غلظت اسپارئات آمینوترانسفراز و مالون دی‌آلدهید سرم جوجه‌های گوشتی معنی دار نبود. مقدار آلانین آمینوترانسفراز در خون جوجه‌هایی که با جیره حاوی ۲۰ درصد ترئونین بیش از نیاز تغذیه شدند، بالاتر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). به‌طورکلی، تحت شرایط این آزمایش (تراکم ۱۵ قطعه در هر مترمربع) مکمل ترئونین (هر دو سطح افزودنی) موجب بهبود عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی نشد و نیازمند تحقیقات بیش‌تری در این زمینه است.

کلیدواژه‌ها: پاسخ ایمنی، تراکم، ترئونین، جوجه گوشتی، عملکرد.

Effect of threonine levels and stocking density on performance, immune response and blood metabolites of broiler chickens

Kobra Sookhtezaei¹, Ali Khatibjoo^{2*}, Hoshang Jaefari³, Mohammad Akbari-Gharaei² and Kamran Taherpoor⁴

1. Former M.Sc. Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

2. Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

3. Assistant Professor, Animal Science Research Department, Ilam Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran.

4. Associate Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

Received: July 13, 2019

Accepted: September 18, 2019

Abstract

The effects of high stocking density and threonine (Thr) supplementation on performance and immunity in broiler chickens was evaluated. In this experiment 495 male Ross-308 broiler chickens were allocated to 4 treatments with 5 replicates in a completely randomized design. The dietary treatment consisted of: 1) basal diet as control with low density (10 birds/m²), 2) high density group (15 birds/m² which fed basal diet) and 3 and 4) high density group which fed diet containing 10 and 20 percent Thr higher than requirement, respectively. The results showed that high stocking density decreased feed intake, body weight and feed conversion ratio at different period of production and increased European production efficiency factor (EPEF). Thr supplementation also reduced growth performance parameters ($P < 0.05$). Dietary treatments deseased antibody titer against NewCastle, but avian influenza virus, cell mediated immunity against phytohemagglutinin, blood metabolites, blood cell count, and serum spartat aminotransferase and malondialdehyde concentration did not change significantly. Serum alanine aminotransferase concentration in broiler chickens fed diet containing 20 percent Thr higher than requirement was higher than the others ($P < 0.05$). In conclusion, under the condition of this study (15 birds/m²), Thr supplementation (both of the levels) did not improved broiler chickens performance and immunity and more research is needed in this subject.

Keywords: Broiler chickens, immunity, performance, stocking density, threonine.

مقدمه

افزایش تراکم گله (پرورش بیش از ۱۰ قطعه جوجه در هر مترمربع) یکی از ابزارهای کارآمد مدیریتی جهت افزایش تولید و بهره‌وری در پرورش طیور محسوب می‌شود [۱۹]. با افزایش میزان تراکم در واحد سطح، میزان تولید افزایش می‌یابد و یکی از ابزارهای مدیریتی جهت کاهش هزینه کارگری، سوخت و تجهیزات است. شرایط منطقه، سیستم تولید، وزن در زمان فروش، کم‌ترین هزینه صرف‌شده و بیش‌ترین سودآوری از جمله عواملی است که بر تراکم جوجه‌ها در واحد سطح تأثیر دارند [۳]. افزایش میزان تراکم گله موجب کاهش عملکرد، افزایش مرگ‌ومیر و عوارض اسکلتی می‌شود که ناشی از بروز تنش در گله می‌باشد که بر سیستم ایمنی پرنده تأثیر گذاشته و سبب ناتوانی حیوان در مقابل بیماری‌های باکتریایی و ویروسی شود [۲۳]. در رابطه با تأثیر تراکم بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. برخی پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند که تراکم تأثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشته است [۱]. درحالی‌که دیگران گزارش کرده‌اند که تراکم موجب کاهش عملکرد [۲۴، ۱۵] و افزایش مرگ‌ومیر و مشکلات پا می‌شود [۴]. پژوهش‌گران گزارش کرده‌اند که تراکم بالا به دلیل کاهش حرکت هوا در اطراف پرنده منجر به بروز تنش حرارتی و اکسیداتیو (افزایش مالون‌دی‌آلدهید سرمی) و عدم تعادل در فلور میکروبی جوجه‌های گوشتی می‌شود [۵].

علاوه بر نقش ترئونین در سنتز پروتئین، نقش دیگر آن در عملکردهای بیولوژیکی دیگر مانند حفظ یک‌پارچگی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی است. این اسید آمینه جزو اصلی تشکیل‌دهنده گاماگلوبین در پلاسما حیوانات می‌باشد و در سنتز موسین، تحریک و تکثیر لنفوسیت‌ها، افزایش تولید آنتی‌بادی و هم‌چنین در ایمنی نقش دارد. ایمونوگلوبولین‌ها به‌طور نسبی حاوی

مقادیر زیادی ترئونین هستند. ترئونین از اجزای اصلی گاماگلوبولین‌های سرم حیوانات مختلف می‌باشد و افزودن ۱۰ درصد مکمل ترئونین پاسخ ایمنی هومورال، میزان ایمونوگلوبولین‌های سرمی و هم‌چنین نسبت لنفوسیت‌ها را بهبود می‌بخشد [۲۱]. با توجه به این‌که نیاز به ترئونین تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف قرار می‌گیرد و یکی از این عوامل محیطی تأثیرگذار میزان تراکم گله است، بنابراین فرض شد که افزایش تراکم گله با تغییر شرایط دستگاه گوارش منجر به تغییر نیاز ترئونین در جیره جوجه‌های گوشتی شود. لذا آزمایش حاضر با هدف بررسی تأثیر مکمل اسید آمینه ترئونین بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط پرورش متراکم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از تعداد ۴۹۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ مخلوط جنس نر و ماده در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار و تعداد ۱۸ و ۲۷ قطعه جوجه در هر تکرار به‌ترتیب در تیمارهای عادی و متراکم استفاده شد. ابعاد هر پن ۱۲۰×۱۵۰ سانتی‌متر بود. جیره پایه دارای ۰/۷۹، ۰/۶۹ و ۰/۶۰ درصد ترئونین قابل هضم استاندارد شده ایلئومی به‌ترتیب در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی بود و میزان ترئونین در تیمارهای متراکم به میزان برابر، ۱۰ و ۲۰ درصد بیش‌تر از میزان ترئونین جیره پایه در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ۱- گروه شاهد (تغذیه با جیره پایه و ۱۰ قطعه جوجه گوشتی در مترمربع؛ تراکم عادی)، ۲- گروه متراکم (۱۵ قطعه در هر مترمربع و تغذیه با جیره پایه)، ۳- گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش از نیاز و ۴- گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۲۰ درصد ترئونین بیش از نیاز.

تولیدات دامی

تأثیر سطوح ترئونین و تراکم گله بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه (درصد)

پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی)	آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)	ماده خوراکی
۶۶/۷۶	۶۰/۶۸	۵۳/۰۹	ذرت
۲۸/۱۰	۲۹/۶۳	۳۵/۰۱	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)
۱/۶۰	۱/۰۰	۱/۰۰	روغن گیاهی
۰/۰۰	۴/۶۰	۶/۵۰	گلو تن ذرت (۶۰ درصد پروتئین)
۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۴	دی‌ال - متیونین
۰/۱۶	۰/۲۶	۰/۲۸	ال - لیزین هیدروکلرید
۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۵	ال - ترئونین
۱/۲۰	۱/۴۵	۱/۵۲	دی‌کلسیم فسفات
۱/۱۰	۱/۱۴	۱/۳۲	کربنات کلسیم
۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲۴	نمک طعام
۰/۱۵	۰/۲۰	۰/۲۰	جوش شیرین
۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل ویتامینه ^۱ و معدنی ^۲
ترکیب شیمیایی جیره پایه			
۳۱۰۰	۳۰۵۰	۲۹۸۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)
۱۸	۲۰/۸	۲۳/۷	پروتئین خام (درصد)
۰/۹۶	۱/۱۰	۱/۲۵	لیزین قابل هضم (درصد) ^۳
۰/۴۳	۰/۵۲	۰/۵۸	متیونین قابل هضم (درصد)
۰/۶۹	۰/۸۰	۰/۹۰	متیونین + سیستئین قابل هضم (درصد)
۰/۶۰	۰/۶۹	۰/۷۹	ترئونین قابل هضم (درصد) ^۴
۰/۸۶	۰/۹۵	۱/۰۵	کلسیم (درصد)
۰/۴۳	۰/۴۸	۰/۵۰	فسفر (درصد)
۲۰۷	۲۱۶	۲۳۹	آنیون - کاتیون (میلی اکی والان در کیلوگرم)

۱. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ۳۶۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۷/۲ گرم ویتامین E، ۰/۸ گرم ویتامین K، ۰/۷ گرم B₁، ۲/۶۴ گرم B₂، ۱۱/۸۸ گرم B₃، ۳/۹۲ گرم کلسیم دینونات، ۱/۱۷۶ گرم B₆، ۰/۴ گرم B₉، ۶ میلی‌گرم B₁₂ و ۴۰ میلی‌گرم H₂.
۲. هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی ۱۰۰ گرم کولین کلراید، ۳۹/۶۸ گرم منگنز (اکسید)، ۳۳/۸۸ گرم روی، ۲۰ گرم آهن، ۴ گرم مس، ۰/۳۹۶ گرم ید و ۰/۰۸ گرم سلنیوم.
۳. اسید آمینه قابل هضم استاندارد شده ایلنومی.
۴. جیره گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش از نیاز (در دوره آغازین، رشد و پایانی به ترتیب حاوی ۰/۸۸، ۰/۷۷ و ۰/۷۲ درصد) و جیره گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۲۰ درصد ترئونین بیش از نیاز (در دوره آغازین، رشد و پایانی به ترتیب حاوی ۰/۹۴، ۰/۸۴ و ۰/۷۸ درصد).

جیره‌های آزمایشی براساس کاتالوگ سویه راس شرکت آویازن (۲۰۰۵) در دوره‌های مختلف پرورش و بر پایه ذرت-کنجاله سویا در سه دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) تنظیم شد [۶]. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. نیاز اسید آمینه‌ای طیور و همچنین اجزای مختلف جیره‌ها براساس اسید آمینه قابل‌هضم

تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

به‌روش تزریق زیرپوستی و در روز ۱۲ علیه نیوکاسل به‌روش خوراکی انجام گرفت. تیتراژ بادی علیه بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا، ۱۰ روز پس از آخرین واکسیناسیون (به ترتیب ۲۴ و ۱۷ روزگی)، با روش هم‌اگلوتیناسیون (HI) اندازه‌گیری شد [۱۶]. از روش سریع، حساس و اختصاصی تیوباریتوریک اسید (TBA) برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون چربی در نمونه‌های سرم استفاده شد. میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 1600 PC, Shimadzu, Japan) در طول موج ۵۳۴ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌ها محاسبه شد [۱۰].

به‌منظور اندازه‌گیری پاسخ ایمنی سلولی علیه فیتوهم‌اگلوتینین، در روز ۳۲ از هر تکرار یک جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و با دستگاه میکرومتر ضخامت پرده پا (به‌عنوان ساعت صفر) اندازه‌گیری شد و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین (SPB) به پرده پای راست (بین انگشتان سوم و چهارم) و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فیتوهم‌اگلوتینین به پرده پای چپ در همان ناحیه تزریق شد. در ۲ نوبت (۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق) ضخامت (تورم) پرده پای جوجه‌ها توسط میکرومتر دیجیتال لوترون اندازه‌گیری شد و نتیجه به‌صورت شاخص ضخامت پرده پا در ساعات مذکور ثبت و با استفاده از رابطه ۲ شاخص پاسخ ایمنی سلولی محاسبه شد [۲۰].

رابطه ۲) $W = (RLP - RL) - (LLB - LL)$
در این رابطه، W، شاخص ضخامت پرده پا یا شاخص تحریک فیتوهم‌اگلوتینین برحسب میکرومتر؛ RLP، ضخامت پرده پای چپ بعد از تزریق فیتوهم‌اگلوتینین؛ RL، ضخامت پرده پای چپ قبل از تزریق فیتوهم‌اگلوتینین؛ LLB، ضخامت پرده پای راست بعد از تزریق بافر فسفات و LL، ضخامت پرده پای راست قبل

استاندارد شده ایلثومی برآورد گردید [۶، ۱۲] و به‌وسیله نرم‌افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شدند. تجزیه اجزای پروتئینی جیره از قبیل ذرت، کنجاله سویا و گلوتن ذرت توسط آزمایشگاه شرکت ایونیک (دگوسا) با استفاده از دستگاه مادون قرمز نزدیک انجام شد. میزان روشنایی در سه روز ابتدائی دوره پرورش ۲۴ ساعت و پس از آن تا انتهای دوره پرورش ۲۳ ساعت بود و میزان رطوبت سالن در محدوده ۵۵-۵۰ درصد حفظ شد. بعد از بروز تلفات، فضای پن به اندازه مساحتی که جوجه تلف‌شده به خود اختصاص داده بود به‌صورت فیزیکی کم شد. وزن بدن، افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی و درصد تلفات جوجه‌ها در پایان هر دوره اندازه‌گیری شد و ضریب تبدیل خوراک تصحیح‌شده براساس تلفات محاسبه شد. در پایان آزمایش نیز فاکتور تولید بازده اروپایی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱) $\text{شاخص بازده تولید اروپایی} = ((\text{وزن زنده} \div \text{سن فروش}) \times \text{درصد ماندگاری}) \div (\text{ضریب تبدیل خوراک} \times 10)$

در ۴۰ روزگی، دو جوجه نر از هر تکرار انتخاب و از سیاهرگ زیر بال آن‌ها برای تهیه دو نمونه خون استفاده شد و یک نمونه خون برای شمارش لنفوسیت و هتروفیل و دیگری برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خون استفاده شد. غلظت آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، غلظت مالون‌دی‌آلدهید سرمی و متابولیت‌های خونی مانند گلوکز، کلسترول، پروتئین کل، LDL-کلسترول و HDL-کلسترول با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (کلسترول، ۱۰۰۶۱۱۰؛ گلوکز، ۱۰۱۲۱۱۷ و تری‌گلیسرید، ۱۰۰۶۱۳۲) و دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 1600 PC, Shimadzu, Japan) به روش آنزیمی-رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد [۲۰].

واکسیناسیون علیه نیوکاسل و آنفلوانزا در روز ۷

تولیدات دامی

کم‌تری نسبت به جوجه‌های گروه شاهد مصرف کردند درحالی‌که در دوره پایانی و کل دوره، جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره شاهد و گروه متراکم دریافت‌کننده جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز، وزن بدن بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($P < 0/05$). در دوره رشد، پایانی و کل دوره، جوجه‌های گروه متراکم (عادی یا دریافت‌کننده مکمل ترئونین) ضریب تبدیل خوراک پائین‌تری در مقایسه با گروه شاهد داشتند ($P < 0/05$). همچنین، در مقایسه با گروه شاهد، گروه متراکم تغذیه‌شده با جیره معمولی یا گروه متراکم جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز، دارای شاخص بازده تولید اروپایی بالاتری بودند ($P < 0/05$).

مشابه نتایج آزمایش حاضر، افزایش تراکم گله، میزان خوراک مصرفی را کاهش داد و افزایش تراکم در کل دوره پرورش از ۱۳ و ۱۴ به ۱۸ قطعه در هر مترمربع، وزن بدن جوجه‌های گوشتی را کاهش داد [۵]. طی پژوهشی مشابه، محققین اثر پنج سطح مکمل ترئونین (۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱۰۰ گرم در کیلوگرم) و دو سطح تراکم (۱۶/۵ در مقابل ۱۲ پرنده در هر مترمربع) را مورد مطالعه قرار دادند و برخلاف نتایج آزمایش حاضر گزارش کردند که عملکرد جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر مکمل ترئونین و تراکم گله قرار نگرفت [۱]. کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی در اثر تنش تراکم به عوامل مختلفی ارتباط دارد: ۱- افزایش تراکم موجب کاهش جریان هوا در اطراف پرنده می‌شود که منجر به افزایش دمای محیط در اطراف بدن جوجه به دلیل کاهش تماس بدن پرنده با هوای اطراف می‌باشد، ۲- به دلیل کاهش جریان هوا در اطراف پرنده، منجر به افزایش آمونیاک و کاهش کیفیت هوای می‌شود و ۳- کاهش مصرف به دلیل تنش حرارتی و دسترسی به آب و خوراک به دلیل کاهش فضای دان‌خوری و آب‌خوری می‌شود [۵ و ۲۵].

از تزریق بافر فسفات می‌باشد. در سن ۴۲ روزگی دو قطعه جوجه از هر تکرار انتخاب و به روش متداول کشتار شدند. سپس وزن نسبی تیموس، طحال و بورس فابریسیوس براساس درصدی وزن بدن محاسبه شد.

داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) سال ۲۰۰۴ رویه GLM (تعداد متفاوت جوجه در هر تکرار به دلیل بروز تلفات) برای مدل ۳ تجزیه و میانگین تیمارها در سطح معنی‌داری پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند [۱۳].

رابطه ۳)
$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$
 در این رابطه، Y_{ij} ، مشاهدات؛ μ ، میانگین مشاهدات؛ T_i ، اثر تیمار i و e_{ij} ، اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

داده‌های پاسخ ایمنی سلولی به دلیل این‌که در ساعات متوالی اندازه‌گیری شده بود با رویه اندازه‌گیری تکرارشونده (Repeated Measurement) برای مدل آماری ۴ تجزیه شدند.

رابطه ۴)
$$y_{ijk} = \mu + T_i + \delta_{ij} + W_k + (T \times W)_{ik} + e_{ijk}$$
 در این رابطه، y_{ijk} ، ارزش هر مشاهده؛ T_i ، اثر تیمار i ؛ W_k ، اثر زمان (ساعت)؛ $(T \times W)_{ik}$ ، اثر متقابل بین تیمار i و زمان k ؛ δ_{ij} ، اثر واریانس بین ماده آزمایشی داخل تیمارها و برابر با کوواریانس بین اندازه‌گیری‌های مکرر داخل ماده‌های آزمایشی و e_{ijk} ، اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی تأثیری بر وزن بدن جوجه‌های گوشتی در دوره رشد و درصد تلفات کل دوره نداشتند. در دوره آغازین، رشد، پایانی و کل دوره جوجه‌های گروه شاهد (تغذیه‌شده با جیره معمولی و یا جیره حاوی سطوح بالاتر ترئونین) خوراک

جدول ۲. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

P-value	خطای استاندارد میانگین‌ها	۴	۳	۲	۱	جیره‌های آزمایشی
						دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)
<۰/۰۱	۳/۵۹	۳۹۸/۳۸ ^c	۴۰۰/۷۴ ^c	۴۱۰/۴۴ ^b	۴۲۴/۰۳ ^a	خوراک مصرفی (گرم)
۰/۰۲	۴/۱۱	۳۰۸/۳۸ ^b	۳۰۵/۸۸ ^b	۳۱۹/۰۳ ^{ab}	۳۲۴/۷۳ ^a	وزن بدن (گرم)
۰/۰۳	۳/۷۴	۲۶۶/۳۸ ^b	۲۶۳/۸۸ ^b	۲۷۷/۰۳ ^{ab}	۲۸۲/۷۳ ^a	افزایش وزن بدن (گرم)
۰/۳۴	۰/۰۲۲	۱/۴۹	۱/۵۰	۱/۴۸	۱/۴۹	ضریب تبدیل خوراک مصرفی
						دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی)
<۰/۰۱	۱۸/۰۹	۱۱۴۵/۲۳ ^b	۱۱۶۱/۷۱ ^b	۱۱۱۷/۰۴ ^b	۱۲۵۱/۸۸ ^a	خوراک مصرفی (گرم)
۰/۱۷	۱۴/۲۰	۹۹۵/۸۳	۱۰۰۸/۷۲	۱۰۰۳/۸۹	۹۶۴/۷۲	وزن بدن (گرم)
۰/۰۲	۱۱/۶۱	۶۴۷/۴۵ ^b	۷۰۳/۹۴ ^a	۶۸۴/۸۷ ^a	۶۴۰/۰۰ ^b	افزایش وزن بدن (گرم)
<۰/۰۱	۰/۰۲۳	^b ۱/۷۷	^b ۱/۶۵	^b ۱/۶۳	^a ۱/۹۵	ضریب تبدیل خوراک مصرفی
						دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)
<۰/۰۱	۵۶/۳۱	۲۴۸۱/۳۸ ^b	۲۵۴۴/۳۹ ^b	۲۵۰۹/۲۲ ^b	۳۰۹۴/۷۹ ^a	خوراک مصرفی (گرم)
<۰/۰۱	۲۳/۶۴	۲۳۲۴/۶۶ ^c	۲۵۲۳/۹۹ ^{ab}	۲۴۶۴/۰۹ ^b	۲۵۶۵/۲۶ ^a	وزن بدن (گرم)
<۰/۰۱	۲۶/۳۳	۱۳۶۸/۸۳ ^c	۱۵۱۴/۱۷ ^{ab}	۱۴۶۰/۱۹ ^b	۱۵۷۵/۸۲ ^a	افزایش وزن بدن (گرم)
<۰/۰۱	۰/۰۴۵	^b ۱/۸۱	^b ۱/۶۸	^b ۱/۷۱	^a ۱/۹۶	ضریب تبدیل خوراک مصرفی
						کل دوره (یک تا ۴۲ روزگی)
<۰/۰۱	۶۳/۴۰	۴۰۲۴/۹۹ ^b	۴۱۰۶/۸۵ ^b	۴۰۳۶/۷۰ ^b	۴۷۷۰/۶۹ ^a	خوراک مصرفی (گرم)
<۰/۰۱	۲۳/۶۴	۲۳۲۴/۶۶ ^c	۲۵۲۳/۹۹ ^{ab}	۲۴۶۴/۰۹ ^b	۲۵۶۵/۲۶ ^a	وزن بدن (گرم)
<۰/۰۱	۲۲/۶۸	۲۲۸۲/۶۶ ^c	۲۴۸۱/۹۹ ^{ab}	۲۴۲۲/۰۹ ^b	۲۵۲۳/۲۶ ^a	افزایش وزن بدن (گرم)
<۰/۰۱	۰/۰۲۳	^b ۱/۷۶	^b ۱/۶۵	^b ۱/۶۷	^a ۱/۸۹	ضریب تبدیل خوراک مصرفی
۰/۲۳	۱/۳۰	۳/۲۸	۵/۱۳	۱/۴۲	۱/۸۸	تلفات (درصد)
۰/۰۰۳	۷/۲۳	۳۲۲/۲۱ ^b	۳۵۲/۶۶ ^a	۳۴۹/۶۷ ^a	۳۰۹/۴۴ ^b	شاخص بازده تولید اروپائی

a,b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۱- گروه شاهد (تغذیه با جیره پایه و ۱۰ قطعه جوجه گوشتی در مترمربع؛ تراکم عادی). ۲- گروه متراکم (۱۵ قطعه در هر مترمربع و تغذیه با جیره پایه). ۳- گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش از نیاز و ۴) گروه متراکم و تغذیه با جیره حاوی ۲۰ درصد ترئونین بیش از نیاز.

جوجه‌های گوشتی شد [۸]. توصیه‌های غذایی سویه راس ۳۰۸ برای احتیاجات ترئونین در جوجه‌های گوشتی ۰/۷۹، ۰/۶۹ و ۰/۶ درصد گزارش شده است و به نظر می‌رسد که این مقدار برای شرایط تنش‌زا مثل تراکم برای بهبود مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های تحت تنش تراکم کافی نیست و ممکن است سطوح بالاتر

منجر به بهبود افزایش وزن در دوره‌های رشد و پایانی شد به‌طوریکه با گروه شاهد عادی تفاوت معنی‌داری نداشتند. مشابه با نتایج آزمایش حاضر، پژوهش‌گران گزارش کردند که مکمل ترئونین باعث بهبود وزن بدن طی دوره پایانی می‌شود [۲۲ و ۲۳]. هم‌چنین افزایش ترئونین جیره، منجر به افزایش خوراک مصرفی

تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

تأثیر سطوح ترئونین و تراکم گله بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

تأثیر ترئونین بر سلول‌های خونی در آزمایش حاضر را می‌توان متفاوت بودن سطوح ترئونین استفاده شده در آزمایش‌های مختلف برای ایجاد الگوی اسیدآمین مناسب دانست. مشابه با این نتایج، افزایش تراکم میزان هتروفیل و لنفوسیت پرندگان را تحت تأثیر قرار نداد [۸].

تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوآنزا، فعالیت آنزیم‌های کبدی اسپاراتات آمینوترانسفراز و مالون‌دی‌آلدهید سرم تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). درحالی‌که فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز، پائین‌تر از جیره حاوی ۲۰ درصد مکمل ترئونین بود ($P < 0.05$) ولی با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. طی پژوهشی مشابه، پژوهش‌گران اثر ۵ سطح مکمل ترئونین (۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱۰۰ گرم در کیلوگرم) و دو سطح تراکم (۱۶/۵ در مقابل ۱۲ پرند در هر مترمربع) را مورد مطالعه قرار دادند و مشابه نتایج آزمایش حاضر گزارش کردند که میزان ایمونوگلوبولین‌های سرمی تحت تأثیر مکمل ترئونین و تراکم گله قرار نگرفت و تراکم گله تأثیری بر غلظت ایمونوگلوبولین‌ها نداشت [۱].

عدم تأثیر ترئونین بر تیترا آنتی‌بادی به این معنی است که ۰/۷۹، ۰/۶۹ و ۰/۶ ترئونین در جیره جوجه‌های گوشتی برای بروز حداکثر پاسخ ایمنی در شرایط تراکم کافی است [۱۷].

منجر به بهبود عملکرد شود [۹]. گزارش شده است که بین لیزین یا انرژری قابل متابولیسم با تراکم گله اثر متقابلی وجود نداشته است [۱۶] درحالی‌که به‌نظر می‌رسد در آزمایش حاضر تراکم گله روی نیاز ترئونین حداقل در وزن پایان دوره تأثیرگذار باشد. در آزمایش حاضر درصد تلفات تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در توافق با نتایج آزمایش حاضر، درصد تلفات جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تراکم‌های مختلف قرار نگرفت [۱۴، ۱۵].

اندام‌های ایمنی به‌خصوص طحال نقش بسیار مهمی در پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی دارند و وزن آن‌ها شاخصی از ایمنی در پرندگان است. نسبت به تیمار عادی، اعمال تراکم موجب کاهش معنی‌دار وزن نسبی غده تیموس شد که در توافق با کاهش وزن تیموس در آزمایش حاضر گزارش شده است که تراکم (۱۶، ۲۰ و ۲۴ قطعه در هر مترمربع) موجب کاهش وزن طحال، بورس و تیموس می‌شود [۱۱]. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن طحال و بورس، درصد لنفوسیت، هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت معنی‌دار نبود (جدول ۳) که در توافق با نتایج سایرین است [۱]. تراکم بالای گله می‌تواند موجب بروز تنش و کاهش سطح ایمنی جوجه‌ها شود که در آزمایش حاضر اثر خود را احتمالاً به‌صورت کاهش وزن نسبی تیموس نشان داده است. علت عدم

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی (درصد از وزن بدن) و جمعیت سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی

جیره‌های آزمایشی	طحال	بورس	تیموس	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل (درصد)	نسبت هتروفیل به لنفوسیت
شاهد (۱۰ قطعه در مترمربع)	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۵۳ ^a	۷۴/۷۵	۲۴/۷۵	۰/۳۳
متراکم (۱۵ قطعه در مترمربع)	۰/۱۲	۰/۲۱	۰/۳۹ ^b	۷۶/۷۵	۲۲/۲۵	۰/۲۹
متراکم + ۱۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز	۰/۱۲	۰/۱۸	۰/۲۲ ^c	۷۵/۵۰	۲۵/۲۴	۰/۳۲
متراکم + ۲۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز	۰/۱۱	۰/۱۶	۰/۳۶ ^b	۷۹/۲۵	۲۰/۲۵	۰/۲۵
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۱/۶۹	۱/۷۰	۰/۰۲
<i>P-Value</i>	۰/۸۸	۰/۶۸	<۰/۰۱	۰/۳۰۱	۰/۲۷۴	۰/۳۲۴

a, b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر تیتراکتی‌بادی، فعالیت آنزیم‌های کبدی و غلظت مالون‌دی‌آلدهید سرم جوجه‌های گوشتی

MDA (نامول بر میلی‌لیتر)	AST (واحد در لیتر)	ALT (واحد در لیتر)	نیوکاسل	آنفلانزا	جیره‌های آزمایشی
۰/۴۸	۲۶۰/۰	۱۱/۰ ^{ab}	۲/۰	۲/۰	شاهد (۱۰ قطعه در مترمربع)
۰/۴۹	۲۹۵/۷۵	۱۶/۰ ^{ab}	۲/۳۲	۱/۲۵	تراکم (۱۵ قطعه در مترمربع)
۰/۶۹	۲۳۷/۲۵	۸/۵۰ ^b	۲/۵	۲/۰	تراکم + ۱۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز
۰/۸۹	۲۲۰/۷۵	۱۸/۵۰ ^a	۳/۵	۲/۰	تراکم + ۲۰ درصد ترئونین بیش‌تر از نیاز
۰/۰۹۱	۴۱/۷۲	۲/۴۴	۱/۳۹	۰/۵۶	خطای استاندارد میانگین‌ها
۰/۰۷	۰/۶۲	۰/۰۴	۰/۷۳	۰/۷۸	<i>P-Value</i>

a,b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز، MDA: مالون‌دی‌آلدهید.

مترمربع در آزمایش حاضر منجر به بروز تنش سیستمیک در بدن طیور نشده است.

اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی در (جدول ۵) نشان داده شده است. جیره‌های آزمایشی غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، لیپوپروتئین با دانسیته بالا و لیپوپروتئین با دانسیته پایین سرم را تحت تأثیر قرار ندادند. همسو با نتایج ما، پژوهش‌های متعددی نشان دادند که افزایش تراکم (۱۴)، ۱۶ و ۱۸ پرنده در هر مترمربع، بر متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی تأثیر نداشت [۴] اگرچه وزن بدن را کاهش داد. در مقابل، تراکم موجب افزایش کلسترول خون در جوجه‌های گوشتی شد [۷]. سطح پروتئین سرم شاخصی از متابولیسم پروتئین و فعالیت ایمنی است و پروتئین کل سرم پرندگان حاوی آلبومین و گلوبولین است و گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید سرم از شاخص‌های تنش در طیور می‌باشند که در حین فاز عادت‌پذیری به تنش افزایش می‌یابند [۳].

اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی سلولی نسبت به تزریق فیتوهمگلوتینین جوجه‌های گوشتی معنی‌داری نبود (جدول ۶) اما با گذشت زمان تزریق، بالاترین شاخص ضخامت پرده پا در ۴۸ ساعت پس از تزریق مشاهده شد ($P < 0.01$).

هم‌چنین نتایج آزمایش حاضر نشان داد که افزایش تراکم گله به ۱۵ قطعه در هر مترمربع منجر به سرکوب سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی نمی‌شود. در مطالعه‌ای با افزایش سطوح ترئونین جیره تیتراکتی‌بادی علیه نیوکاسل افزایش یافت و نیاز ترئونین جوجه‌های گوشتی برای تولید سطوح مطلوب آنتی‌بادی بیش از نیاز رشد است [۲]. گزارش شده است که تیتراکتی‌بادی علیه نیوکاسل و تکثیر لکوسیت‌ها با افزودن ترئونین به جیره بهبود یافت [۹] و سطوح بالای ترئونین، اثر منفی بر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز نداشت [۱۸].

در آزمایش حاضر مکمل ترئونین سبب افزایش غلظت آلانین آمینوترانسفراز سرمی شد ($P < 0.05$). در شرایط عادی، پراکسید و رادیکال‌های آزاد تولیدشده به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از بدن حذف می‌شوند اما با افزایش تراکم و بروز تنش، غلظت مالون‌دی‌آلدهید افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده کاهش سطح آنتی‌اکسیدانی بدن و افزایش رادیکال‌های آزاد است. مالون‌دی‌آلدهید سرم، یکی از محصولات نهایی در پراکسیداسیون لیپیدها است و سطوح آن نشان‌دهنده میزان آسیب اکسیداتیو در سلول است [۱۴]. با توجه به این‌که در آزمایش حاضر، میزان مالون‌دی‌آلدهید سرم و هم‌چنین سایر شاخص‌های تنش افزایش نداشت، تراکم ۱۵ قطعه در هر

تولیدات دامی

تأثیر سطوح ترئونین و تراکم گله بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

جدول ۵. اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی (میلی گرم در دسی لیتر)

جیره‌های آزمایشی	گلوکز	تری گلیسرید	کلسترول کل	آلبومین	HDL-کلسترول	LDL-کلسترول
شاهد (۱۰ قطعه در مترمربع)	۲۴۶/۰	۴۸/۵	۱۰۵/۴	۱/۵۵	۳۷/۷	۵۸/۰
متراکم (۱۵ قطعه در مترمربع)	۲۵۴/۵	۴۱/۵	۱۱۰/۵	۱/۵۰	۳۴/۵	۶۷/۷
متراکم + ۱۰ درصد ترئونین بیش تر از نیاز	۲۲۴/۵	۴۱/۵	۱۰۱/۵	۱/۴۲	۲۵/۴	۵۵/۰
متراکم + ۲۰ درصد ترئونین بیش تر از نیاز	۲۴۴/۷	۴۹/۷	۱۰۹/۴	۱/۵۵	۳۲/۷	۶۶/۷
خطای استاندارد میانگین‌ها	۹/۴۶	۳/۷۵	۶/۲۴	۰/۰۹	۲/۶۰	۴/۷۱
P-Value	۰/۲۰	۰/۲۹	۰/۰۷	۰/۷۶	۰/۴۱	۰/۱۹

HDL: لیپوپروتئین با چگالی زیاد و LDL: لیپوپروتئین با چگالی کم.

جدول ۶. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی سلولی نسبت به تزریق فیتوهمماگلوبولین جوجه‌های گوشتی

تیمارهای آزمایشی	شاخص ضخامت پرده پا (میکرومتر)
شاهد (۱۰ قطعه در مترمربع)	۰/۵۹
متراکم (۱۵ قطعه در مترمربع)	۰/۶۹
متراکم + ۱۰ درصد ترئونین بیش تر از نیاز	۰/۵۷
متراکم + ۲۰ درصد ترئونین بیش تر از نیاز	۰/۵۹
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۵
P-Value	۰/۲۹
زمان	
۰	^b ۰/۴۷
۲۴	^b ۰/۵۶
۴۸	^a ۰/۸۰
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۵
P-Value	<۰/۰۱

a, b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف غیرمشابه معنی دار است (P < ۰/۰۵).

لنفوسیت‌ها به دنبال افزایش ترئونین و با توجه به افزایش سهم این دسته لکوسیتی در سیستم ایمنی که در حقیقت مسئول تولید آنتی‌بادی می‌باشند، به نظر می‌رسد مکمل ترئونین به جیره نتوانسته پاسخ سیستم ایمنی را بهبود دهد. به‌طور کلی، اعمال تراکم موجب کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی شد و مکمل ترئونین اثرات منفی تنش تراکم را کاهش نداد. تنش تراکم گله شاخص‌های سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار نداد. به نظر

مشابه نتایج آزمایش حاضر، مکمل ترئونین تأثیری بر پاسخ ایمنی سلولی نسبت به تزریق فیتوهمماگلوبولین جوجه‌های گوشتی نداشت [۲۳]. آزمون التهاب پرده پای پرندگان شاخصی از توانایی سیستم ایمنی با واسطه سلولی است. فیتوهمماگلوبولین یک عامل تحریکی سلول‌های لنفاوی T است و تزریق آن به یک بافت به‌طور موضعی باعث بروز پاسخ‌های التهابی و تکثیر لنفوسیت‌ها می‌شود [۲۱]. در آزمایش حاضر با توجه به تحت تأثیر قرارنگرفتن درصد

تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۸

- 60(63.14): 61-25.
9. Maroufyan E, Kasim A and Hashemi SR (2010) Change in growth performance and liver function enzymes of broiler chickens challenged with infectious bursal disease virus to dietary supplementation of methionine and threonine. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5(1): 20-26.
 10. Placer ZA, Cushman LL and Johnson BC (1996) Estimation of lipid peroxidation, malindialdehyde in biochemical system. *Analytical Biochemistry*, 16: 359-367.
 11. Ravindran V, Thomas DV, Thomas DG and Morel PCH (2006). Performance and welfare of broilers as affected by stocking density and zinc bacitracin supplementation. *Animal Science Journal*, 77(1): 110-116.
 12. Ross 308 Broiler Nutrition Specification (2014) Managementguide. Zarbal Co. IRIRAN.
 13. SAS Institute (2004) SAS User's Guide. Version 8 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
 14. Selvam R, Saravanakumar M, Suresh S, Sureshbabu G, Sasikumar M and Prashanth D (2017) Effect of vitamin E supplementation and high stocking density on the performance and stress parameters of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19(4): 587-94.
 15. Sun Z, Lv M, Yan L and Lin H (2011) Effects of stocking density and dietary lysine level on growth performance, carcass composition and health status of separate-sex reared broilers. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 23(4): 578-88.
 16. Swayne DE (1998) Laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania.
 17. Tong HB, Lu J, Zou JM, Wang Q and Shi SR (2012) Effects of stocking density on growth performance, carcass yield, and immune status of a local chicken breed. *Poultry Science*, 91(3): 667-73.
 18. Valizadeh MR, Sadeghi AA, Chamani M, Shawrang P and Feizi F (2014) The Effect of increasing dietary threonine to lysine ratio on carcass characteristics, mucin gene expression and morphological analysis of ileum of male broiler chickens challenged with Salmonella. *International Journal of Biosciences*, 5(10): 138-46.
 19. Verspecht A, Vanhonacker F, Verbeke W, Zoons J and Van Huylenbroeck G (2011) Economic impact of decreasing stocking densities in broiler production in Belgium. *Poultry Science*, 90(8): 1844-1851.

می‌رسد که سطح ترئونین جیره پایه برای حصول به نتیجه مطلوب در شرایط تراکم کافی باشد و نیاز به استفاده از سطوح بالاتری از مکمل ترئونین در شرایط تراکم نیست.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Azzam MM and Gogary MRE (2015) Effect of dietary threonine levels and stocking density on the performance, metabolic status immunity by of broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(5): 215-225.
2. Bhargava KK, Hanson RP and Sunde ML (1971) Effects of threonine on growth and antibody production in chicks infected with Newcastle disease virus. *Poultry Science*, 50(3): 710-713.
3. Buijs S, Keeling L, Rettenbacher SE, Van Poucke and M Tuytens FA (2009) Stocking density effects on broiler welfare: Identifying sensitive ranges for different indicators. *Poultry Science*, 88(8): 1536-1543.
4. Dozier WA, Thaxton JP, Branton SL, Morgan GW, Miles DW, Roush WB, Lott BD and Vizzier-Thaxton Y (2005) Stocking density effects on growth performance and processing yields of heavy broiler. *Poultry Science*, 84(8): 1332-1338.
5. Feddes JJR, Emmanuel EJ and Zuidhof MJ (2002) Broiler performance, bodyweight variance, feed and water intake and carcass quality at different stocking densities. *Poultry Science*, 81(6): 774-779.
6. Hoehler D, Lemme A, Ravindran V, Bryden W and Rostagno H (2005) Feed formulation in broiler chickens based on standardized ileal amino acid digestibility. Pages 78-91 in Proc. Proceedings of the 3rd Mid-Atlantic Nutrition Conference.
7. Ismail FS, El-Gogary AMR and Nadi MIE (2014) Influence of vitamin E supplementation and stocking density on performance, thyroid status, some blood parameters, immunity and antioxidant status in broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(11): 702-712.
8. Khan AR, Nawaz H and Zahoor I (2006) Effect of different levels of digestible threonine on growth performance of broiler chicks. *Breast*,

20. Wahba N, Hanna S and El-Sadr MM (1956) A simple colorimetric method for determining blood glucose. *Analyst*, 81(964): 430-2.
21. Wang YW, Field CJ and Sim JS (2000) Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. *Poultry Science*, 79(12): 1741-8.
22. Zaefarian F, Zaghari M and Shivazad M (2008) The threonine requirements and its effects on growth performance and gut morphology of broiler chicken fed different levels of protein. *International Journal of Poultry Science*, 7(12): 1207-15.
23. Zarrin-Kavyani S, Khatibjoo A, Fattahnia F and Taherpour K (2018) Effect of threonine and potassium carbonate supplementation on performance, immune response and bone parameters of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1): 1329-35.
24. Zhang HY, Piao XS, Zhang Q, Li P, Yi JQ, Liu JD, Li QY and Wang GQ (2013) The effects of *Forsythia suspensa* extract and berberine on growth performance, immunity, antioxidant activities, and intestinal microbiota in broilers under high stocking density. *Poultry Science*, 92(8): 1981-8.
25. Zuwei S, Yan L, Yuan L, Jiao H, Song Z, Guo Y and Lin H (2011) Stocking density affects the growth performance of broilers in a sex-dependent fashion. *Poultry Science*, 90(7): 1406-15.