

## اثر تزریق داخل تخم مرغی مواد مغذی مختلف و ۳۶ ساعت گرسنگی پس از تفریح بر قابلیت هج، فرآسنج‌های خونی، مورفولوژی روده و عملکرد جوجه‌های گوشتی

نگین امیری<sup>۱</sup> - محمد سالار معینی<sup>۲\*</sup> - سیما تشریفی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۳/۲۳

### چکیده

این تحقیق به منظور مطالعه قابلیت تغذیه جنینی بر درصد جوجه‌درآوری، وزن اولیه بعد از هج، عملکرد رشد، فرآسنج‌های خونی، سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی و مورفولوژی پرزهای روده انجام شد. در این مطالعه ۲۴۰ عدد تخم‌مرغ بارور سویه گوشتی راس ۳۰۸ (سن گله مادر ۲۸ هفتگی)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار مورد استفاده قرار گرفتند. به هر تیمار ۳ تکرار و به هر تکرار ۱۶ عدد تخم‌مرغ اختصاص داده شد. تیمارها عبارت بودند از بدون تزریق (شاهد ۱)، تزریق ۰/۷ میلی‌لیتر آب مقطر (شاهد ۲) و یا محلول اسیدهای آمینه، دکستروز ۱۰ درصد و یا دکستروز ۲۰ درصد به مایع آمینوتیک تخم‌مرغ‌های بارور در روز ۱۷/۵ انکوباسیون. جوجه‌ها بعد از هج به مدت ۳۶ ساعت از دسترسی به خوراک محروم بودند. وزن تولد در تیمار اسید آمینه نسبت به تیمار بدون تزریق و تزریق آب مقطر به طور معنی‌داری بیشتر بود. کمترین میانگین وزنی و مصرف خوراک در کل دوره پرورش مربوط به تیمار بدون تزریق بود. تیمارها تأثیری معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشتند. میزان گلوکز خون جوجه‌ها پس از هج در تیمار تزریق دکستروز ۲۰ درصد نسبت به تزریق آب مقطر بیشتر بود. همچنین میزان تری‌گلیسرید در تیمار تزریق آب مقطر بیشترین مقدار را نشان داد. تزریق اسید آمینه و دکستروز ۱۰ و ۲۰ درصد سبب افزایش وزن نسبی تیموس (در سن یک و ۳ روزگی) گردید همچنین بیشترین وزن نسبی بورس در سن یک روزگی در تیمار تزریق دکستروز ۱۰ درصد مشاهده شد که البته با تیمار دکستروز ۲۰ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت. تزریق دکستروز ۲۰ درصد سبب افزایش طول پرز نسبت به سایر تیمارها در سن سه روزگی گردید. بر اساس نتایج این آزمایش، به نظر می‌رسد تزریق مواد مغذی می‌تواند در بهبود عملکرد جوجه‌ها موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** اسید آمینه، تغذیه جنینی، جوجه‌گوشتی، دکستروز، کیسه آمینون.

### مقدمه

دسی‌لیتر می‌باشد، که از طریق گلیکوژنولیز (گلیکوژنولیز ماهیچه‌ای) تامین می‌گردد. بدین ترتیب در نتیجه محرومیت از غذا به مدت ۳۶-۲۴ ساعت، میزان گلیکوژن کبد ممکن است تا ۹۰٪ کاهش یابد. با کاهش ذخایر گلیکوژن در خلال یک دوره طولانی محرومیت از غذا، مقدار گلوکز خون پرندگان نسبت به زمان قبل از محرومیت غذایی به میزان ۱۵-۱۰ درصد کاهش می‌یابد (۱۵). همچنین گرسنه ماندن جوجه‌ها پس از تفریح نیز موجب بروز تنش و ترشح کورتیکواستروئیدها می‌شود که مانع رشد مناسب سلول‌های ایمنی می‌گردند. در نتیجه پیشرفت ایمنی ثانویه در جوجه‌ها وابسته به شروع هر چه سریع‌تر مصرف غذا می‌باشد تا ایمنی در بافت‌های مخاطی تکامل یابد و پرنده را در برابر ورود عوامل بیماری‌زا از طریق دستگاه تنفسی که یکی از راه‌های عمده ورود آلودگی می‌باشد، محافظت نماید (۴۴).

نشان داده شده است که بروز هرگونه اختلال پس از تفریح، بر

جهت دستیابی به حداکثر عملکرد پس از تفریح باید توجه زیادی به رشد و نمو صورت پذیرد (۱۸). در شرایط عملی، اغلب جوجه‌ها از زمان تفریح تا ۴۸ ساعت بعد به آب و غذا دسترسی ندارند (۲۷). تاخیر در دسترسی به آب و غذا منجر به دهیدراتاسیون و کاهش وزن بدن (۰/۱۸ گرم در ساعت) (۵ و ۲۸)، محدود شدن توسعه بافت‌ها و اندام‌های حیاتی مانند روده (۸)، سیستم ایمنی (۱۰)، عضله (۲۵)، مستعد شدن جوجه به ابتلا به عوامل بیماری‌زا (۱۰) می‌شود. مقدار طبیعی گلوکز خون که (بر حسب گونه پرنده) بین ۱۸۰-۲۵۰ میلی‌گرم در

۱ و ۲ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،

۳ - کارشناس ارشد مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی کرمان.

(Email: salarmoini@uk.ac.ir

\*) نویسنده مسئول:

در روز ۱۷/۵ انکوباسیون، ابتدا قسمت پهن تخم مرغ به وسیله الکل ۹۶ درصد ضدعفونی و سپس عمل تزریق در عمق ۲۵ میلی متری تخم مرغ توسط سرنگ با سوزن درجه ۲۳ در مایع آمینوتیک انجام شد. پس از تزریق، محل آن با چسب مایع مسدود گردید و تخم مرغ-ها در داخل دستگاه هچر قرار داده شدند. پس از تفریح، جوجه‌های هر گروه آزمایشی شمارش و وزن کشی شده و بلافاصله به سالن پرورش منتقل گردیدند.

### نحوه پرورش و نمونه گیری

در سالن پرورش، جوجه‌های هچ شده به واحدهای آزمایشی (بر روی بستر) مربوطه منتقل و به مدت شش هفته تحت شرایط استاندارد پرورش داده شدند. در شروع آزمایش، جوجه‌های تازه هچ شده به مدت ۳۶ ساعت از دسترسی به خوراک محروم شدند. زیرا در شرایط تجاری نیز جوجه‌ها معمولاً پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از هچ به مرغداری رسیده و تغذیه آن‌ها آغاز می‌گردد. بعد از هچ و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی، از یک جوجه در هر تکرار برای اندازه گیری فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون گیری شد. خون گیری از ناحیه گردن انجام شد و سپس نمونه‌های سرم جدا و به میکروتیوپ منتقل گردید. برای اطمینان از عدم باقی ماندن لخته در سرم، سانتریفیوژ در دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و سپس سرم شفاف به لوله‌ی دیگری منتقل گردید. گلوکز، کلسترول، LDL و HDL موجود در نمونه‌های سرم با استفاده از روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری زیست شیمی و میزان تری‌گلیسرید با استفاده از روش آنزیمی GPO/Trinder تعیین گردیدند. همچنین یک جوجه از هر تکرار در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۴۲ برای اندازه‌گیری وزن نسبی طحال، تیموس و بورس فابرسیوس کشتار گردید. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش برای تمام گروه‌های آزمایشی یکسان و بر اساس توصیه راهنمای تغذیه جوجه گوستی راس ۳۰۸ تنظیم شدند (۲) (جدول ۱). عملکرد واحدهای آزمایشی شامل افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل به صورت هفتگی رکورد برداری شد.

### ارزیابی خصوصیات ریخت‌شناسی روده

نمونه‌های روده (ژژنوم) که در کشتار روز سوم پرورش برداشته شده بودند در فرمالین چهار درصد (حجمی) تثبیت، دهیدراته و تمیز شده و سپس در پارافین نگهداری شدند. برش‌های متوالی به ضخامت دو میکرون از ژژنوم تهیه و روی اسلایدهای شیشه‌ای قرار گرفتند.

کیفیت جوجه تازه متولد شده و عملکرد بعد از آن تأثیر می‌گذارد (۴۲). بنابراین به منظور بهبود عملکرد در طول فاز ابتدایی، چندین گزینه مانند تغذیه در هچری (۵) و تغذیه درون تخم پیشنهاد شده است (۱۱). تزریق مواد غذایی به داخل تخم یک روش جدید به منظور تغذیه زود هنگام پرندگان می‌باشد. در این فرآیند، مواد غذایی مختلف به رویان داخل تخم در مرحله آخر دوره جنینی تزریق می‌شوند. تغذیه درون تخم سبب می‌گردد تا مواد مغذی که در تخم به میزان کمتر از نیاز رویان وجود دارد، برای جنین تامین شده و منجر به افزایش وزن تولد و بهبود عملکرد جوجه تا پایان دوره شود (۱). طی آزمایشی محققین، تزریق گلوکز، مالتوز، ساکاروز، فروکتوز و دکستروز در روز ۱۸/۵ جنینی به کیسه آمینون با یکدیگر مقایسه نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که درصد تفریح تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفته ولی وزن بدن نسبت به غلظت کربوهیدرات تزریق شده، بهبود یافت (۴۵ و ۴۶). یگانی (۴۳) نشان داد که تزریق مواد مغذی به مایع آمینوتیک جنین در روز ۱۷/۵ جوجه‌کشی می‌تواند به عنوان روشی موفق برای دسترسی زود هنگام جنین به مواد مغذی موجب افزایش عملکرد جوجه تفریح شده و افزایش رشد دستگاه گوارش (رشد روده و افزایش اندازه پرزها) گردد. پژوهش‌های متعدد نشان داده است که دسترسی سریع تر جوجه‌های گوستی به غذا موجب افزایش وزن بدن، بهبود خصوصیات ریخت‌شناختی و عملکرد روده و افزایش بافت لنفوییدی مرتبط با روده می‌شود (۱۴ و ۳۹). بنابر موارد بیان شده و با توجه به این که به طور طبیعی جنین در اواخر دوره جنینی، از مایع آمینوتیک استفاده می‌کند ممکن است تزریق مواد مغذی به مایع آمینوتیک موجب افزایش رشد گردد (۳۶). به همین منظور در این مطالعه سعی گردید که تاثیر تزریق مواد غذایی مختلف به کیسه آمینون در روز ۱۷/۵ انکوباسیون بر وزن تولد و عملکرد جوجه‌های گوستی، فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی بررسی گردد.

### مواد و روش‌ها

در روز ۱۷/۵ انکوباسیون، از ۲۴۰ عدد تخم مرغ بارور سوویه گوستی راس ۳۰۸ (سن گله مادر ۲۸ هفتگی) استفاده شد. تخم مرغ‌ها به طور انفرادی وزن کشی شده و برای آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار که هر تکرار شامل ۱۶ عدد تخم مرغ بود، مورد استفاده قرار گرفتند. ۵ تیمار آزمایشی عبارت بودند از: تیمار بدون تزریق (شاهد ۱) و تزریق ۰/۷ میلی لیتر آب مقطر (شاهد ۲) و محلول‌های اسیدآمینو<sup>۱</sup>، دکستروز ۱۰ درصد، و دکستروز ۲۰ درصد.

۱- ترکیب محلول آمینو اسید بر حسب گرم در هر ۱۰۰۰ میلی لیتر: ۵/۱۰ ایزولوسین، ۸/۹۰ لوسین، ۵/۶۰ لیزین، ۳/۸۰ متیونین، ۵/۱۰ فنیل آلانین، ۴/۱۰ ترئونین، ۱/۸۰ تربیتوفان، ۴/۸۰ والین، ۹/۲۰ آرژنین، ۵/۲۰ هیستیدین، ۷/۹۰

گلیسین، ۱۳/۷۰ آلانین، ۸/۹۰ پرولین، ۱/۳۰ آسپارتیک اسید، ۳/۲۷ آسپاراژین، ۰/۵۰ سیستین، ۴/۶۰ گلوتامیک اسید، ۲/۵۱ اورنیتین، ۲/۴۰ سرین، ۰/۳۰ تیروزین

نمونه‌ها توسط محلول زایلان، پارافین زدائی شده و در محلول‌های درجه بندی شده الکل آبگیری شدند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده در جوجه‌های گوشتی

Table 1- Ingredient and composition of the diets for broiler chicks

مورد Ingredients (%)	روزهای ۱-۱۰ days 1-10	روزهای ۱۱-۲۴ days 11-24	روزهای ۲۵-۴۲ days 25-42
ذرت Corn	53.42	60.40	57.60
گندم Wheat	-	-	10.00
کنجاله سویا (۴۴) Soybean meal (44)	37.80	33.00	26.50
روغن گیاهی Vegetable oil	4.00	2.70	2.20
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.30	1.05	1.00
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.89	1.56	1.45
نمک Salt	0.37	0.34	0.33
دی ال متیونین DL- Methionine	0.39	0.27	0.24
ال لیزین هایدروکلراید L- lysine HCl	0.33	0.18	0.18
مکمل ویتامینی و مواد معدنی <sup>۱</sup> Vitamin- Mineral premix	0.50	0.50	0.50
ترکیب شیمیایی Chemical composition			
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم) AMEn (kcal/kg)	2985	3000	3035
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.70	20.00	18.01
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.40	1.18	1.03
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.71	0.58	0.52
متیونین + سیستین (درصد) Methionine+ Cysteine (%)	1.06	0.90	0.82
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.04	0.85	0.80
فسفر فراهم (درصد) Available Phosphorus (%)	0.50	0.43	0.40
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.16	0.15	0.15
لینولئیک اسید (درصد) Linoleic acid (%)	3.33	2.81	2.53

<sup>1</sup> Each kg of vitamin premix provided the following: vitamin A 4400000 IU, vitamin D 72000 IU, vitamin E 14400 mg, vitamin K 2000 mg, cobalamin 640 mg, thiamin 612 mg, riboflavin 3000 mg, pantothenic acid 4896 mg, niacin 12160 mg, pyridoxine 612 mg, biotin 2000 mg and choline chloride 260 gr. Each kg of mineral premix provided the following: Mn 64.5 gr, Zn 33.8 gr, Fe 100 gr, Cu 8 gr, I 640 mg, Co 190 mg and Se 8 gr.

جدول ۲- اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر درصد جوجه درآوری و وزن جوجه‌ها بعد از تفریح و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی

Table 2- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on egg hatchability and chicks weight after hatch and after 36 h starvation

تیمارها Treatments	درصد هچ Hatchability (%)	وزن جوجه تفریح شده (گرم) Hatched chicks weight (g)	وزن جوجه بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی Chick weight after 36 h starvation (g)
آب مقطر Distilled water	95.83	36.66 <sup>b</sup>	35.00
اسید آمینه Amino acids	87.50	38.22 <sup>a</sup>	33.75
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	91.67	36.85 <sup>ab</sup>	34.37
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	91.67	37.59 <sup>ab</sup>	35.62
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	95.83	36.22 <sup>b</sup>	35.00
SEM	5.43	0.430	0.456
<i>p-value</i>	0.796	0.053	0.115

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

بر وزن جوجه‌های تفریح شده داشت ( $P < 0.05$ ). وزن جوجه‌های حاصل از تخم مرغ‌های تیمار شده با تزریق محلول اسیدآمینه، بالاتر از تیمار تزریق آب مقطر و بدون تزریق بود (جدول ۲). نتایج پژوهش حاضر مشابه با نتایج آل مورانی (۱) و اوها و همکاران (۲۹ و ۳۰) بود اما با نتایج یونی و همکاران (۳۹) مطابق نبود. از آنجایی که پروتئین قسمت عمده وزن جنین را تشکیل می‌دهد، تزریق محلول اسیدآمینه در تخم مرغ مصرف اسیدآمینه را توسط جنین تحریک نموده و همزمان با این عمل، تجزیه اسیدآمینه توسط جنین کاهش می‌یابد. بنابراین تزریق محلول اسیدآمینه را می‌توان به عنوان عامل بهبود وزن جوجه‌های یک روزه تولید شده در نظر گرفت (۲۹). تزریق مواد مغذی مختلف تاثیر معنی‌داری بر میانگین وزن جوجه‌ها بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی نداشت (جدول ۲).

#### عملکرد رشد جوجه‌های تفریح شده

اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر عملکرد رشد جوجه‌ها در جدول ۳ گزارش شده است. تزریق آب مقطر و سایر مواد مغذی به طور معنی‌داری سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌های تفریح شده گردید و کمترین میزان افزایش وزن روزانه در بازه‌های زمانی مختلف مربوط به تیمار بدون تزریق بود. نتایج حاصل از این پژوهش مشابه با نتایج موسوی و همکاران (۲۶)، داس‌سانتوس و همکاران (۱۱) و کراالاپوراس و همکاران (۲۰) بود. اما در آزمایش‌های لیتائو و همکاران (۲۲) و لوپز و همکاران (۲۳) با تزریق مواد مغذی تاثیری بر میانگین افزایش وزن روزانه مشاهده نشد. نشان داده شده است که تزریق مواد مغذی منجر به افزایش حدود ۶ تا ۱۲ میلی‌گرم گلیکوژن در هر گرم

سپس نمونه‌ها توسط همتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری لایکا (Leica system, GmbH, Weizlar, Germany) و برنامه نرم افزاری لایکا کوبین ۵۵۰ مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی‌ها شامل ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بود (۳۲).

#### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل کلیه اطلاعات با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (۳۴) انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

#### نتایج و بحث

##### درصد هچ و وزن جوجه‌ها پس از هچ

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، تزریق مواد غذایی در کیسه آمینون اثر منفی بر درصد تفریح نداشت (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش مشابه با نتایج کادام و همکاران (۱۹)، اوها و همکاران (۲۹) و ژای و همکاران (۴۵) بود. اما در آزمایش دیگری محققین گزارش کردند که تزریق محلول کربوهیدرات و اسید آمینه در روز ۱۸ جنینی به کیسه آمینون تخم مرغ های بارور حاصل از مرغ های مادر گوشتی در سن ۴۲ هفتگی در مقایسه با گروه شاهد (عدم تزریق)، سبب کاهش نرخ جوجه درآوری می‌گردد (۳۷). تزریق مواد مغذی به داخل تخم مرغ‌ها تاثیر معنی‌داری

گوشتی می‌گردد (۴۶). با توجه به اینکه دسترسی زود هنگام به خوراک سبب بهبود رشد و توسعه در جوجه‌های تازه متولد شده می‌شود انتظار می‌رود تغذیه جنینی قبل از تفریح، از طریق وارد نمودن مواد غذایی به درون تخم مرغ اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد جوجه‌های گوشتی داشته باشد (۳۸).

### فرآیندهای خونی

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر فرآیندهای خونی در شروع پرورش و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی به ترتیب در جدول‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. در ارتباط با تاثیر تزریق مواد غذایی مختلف بر میزان گلوکز و تری‌گلیسرید خون جوجه‌ها پس از تفریح اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). میزان گلوکز خون در تیمار دکستروز ۲۰٪ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار آب مقطر بود اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. ابراهیمی‌نژاد و همکاران (۱۲) گزارش کردند که تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر گلوکز ۲۰ و ۲۵ درصد در روز ۷ انکوباسیون به آلبومین جنین سبب افزایش میزان گلوکز خون جوجه‌های یک روزه نسبت به گروه شاهد (بدون تزریق) و کنترل (تزریق آب مقطر) می‌گردد.

از بافت کبد جنین می‌شود. این منبع انرژی اضافی، از توسعه جنین در اواخر دوره حمایت می‌کند که در نتیجه منجر به افزایش قابل توجهی در وزن بدن جوجه می‌گردد (یونی و همکاران، ۲۰۰۵). در بازه‌های زمانی ۲۲-۴۲ و ۱-۴۲ روزگی، تزریق انواع مواد مغذی سبب افزایش مصرف خوراک گردید. بیشترین و کمترین میانگین مصرف خوراک در این بازه‌های زمانی به ترتیب مربوط به تیمار شاهد ۲ (آب مقطر) و تیمار شاهد ۱ (بدون تزریق) بود. در ارتباط با تاثیر نوع ماده تزریقی بر ضریب تبدیل در بازه‌های زمانی مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. این نتایج مشابه با نتایج صلاحی و همکاران (۳۳) و چمنی و همکاران (۶) بود اما با نتایج حاصل از آزمایش‌های داس ساتوس و همکاران (۱۱) مطابقت نداشت.

نشان داده شده است، تزریق مواد مغذی منجر به افزایش حدود ۶ تا ۱۲ میلی‌گرم گلیکوژن در هر گرم از بافت کبد جنین می‌شود. این منبع انرژی اضافی، از توسعه جنین در اواخر دوره حمایت می‌کند که در نتیجه منجر به افزایش قابل توجهی در وزن بدن جوجه می‌گردد (۳۹). همچنین تزریق مواد مغذی مختلف به کیسه آمینون جنین، به ذخیره پروتئین و اسید آمینه که به طور معمول برای گلوکونوزن مورد استفاده قرار می‌گیرند، کمک می‌کند (۳۸ و ۴۱) و به دنبال آن سبب بهبود سطح انرژی جنین جوجه‌های گوشتی و کاهش مصرف انرژی داخلی (پروتئین و چربی) و همچنین سبب افزایش وزن بدن جوجه

جدول ۳- اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر میزان افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل

Table 3- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on body weight gain, feed intake (g) and feed conversion ratio

بازه زمانی Age	آب مقطر Distilled water	اسیدآمینه Amino acids	دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	بدون تزریق No injection	SEM	P- value
مصرف خوراک (گرم/پرند/روز)							
Feed intake (gr/bird/day)							
1-21	28.59	28.90	28.23	27.99	27.13	0.462	0.152
21-42	129.85 <sup>a</sup>	119.49 <sup>b</sup>	119.27 <sup>b</sup>	121.27 <sup>b</sup>	111.60 <sup>c</sup>	2.26	0.003
1-42	74.03 <sup>a</sup>	69.55 <sup>ab</sup>	69.08 <sup>b</sup>	69.85 <sup>ab</sup>	63.12 <sup>c</sup>	1.42	0.004
افزایش وزن (گرم/پرند/روز)							
Weight gain (gr/bird/day)							
1-21	17.29 <sup>a</sup>	18.02 <sup>a</sup>	17.57 <sup>a</sup>	16.43 <sup>a</sup>	15.16 <sup>b</sup>	0.555	0.031
22-42	69.69 <sup>a</sup>	70.96 <sup>a</sup>	71.79 <sup>a</sup>	74.31 <sup>a</sup>	64.00 <sup>b</sup>	1.65	0.014
1-42	40.81 <sup>a</sup>	41.77 <sup>a</sup>	41.90 <sup>a</sup>	42.40 <sup>a</sup>	35.96 <sup>b</sup>	0.834	0.001
ضریب تبدیل غذایی							
Feed conversion ratio							
1-21	1.65	1.60	1.60	1.71	1.79	0.053	0.138
22-42	1.86	1.68	1.66	1.63	1.75	0.062	0.147
1-42	1.81	1.66	1.64	1.64	1.75	0.051	0.148

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

افزایش میزان گلوکز خون جوجه‌های یک روزه می‌گردد که با نتایج

بهانجا و همکاران (۳) نیز نشان دادند که تزریق گلوکز سبب

تری گلیسرید را نشان دادند. پیلارسکی و همکاران (۳۲) گزارش کردند که تزریق ساکارز در روز ۱۲ انکوباسیون تاثیر معنی داری بر میزان کلسترول در روزهای ۲۱ و ۴۲ روزگی ندارد و همچنین مقدار تری گلیسرید از لحاظ آماری در ۲۱ روزگی در مقایسه با گروه کنترل (بدون تزریق) افزایش معنی داری نشان داد. ابراهیمی نژاد و همکاران (۱۲) نیز نشان دادند که با تزریق ۰/۵ میلی لیتر گلوکز ۲۰ و ۲۵ درصد، میزان تری گلیسرید در ۲۱ روزگی در مقایسه با گروه کنترل (بدون تزریق) افزایش می یابد. تاثیر تیمارها بر سایر فراسنجه های خونی شامل کلسترول، HDL و LDL معنی دار نشد.

این تحقیق مطابقت دارند. افزایش قند خون در اواخر دوره جنینی ممکن است در نتیجه افزایش گلوکاگون و افزایش فرآیند گلیکوژنولیز باشد (۲۴). گلوکز اولین و مهم ترین ماده مغذی برای رشد و نمو جنین است و با توجه به این که مقدار کربوهیدرات داخل تخم مرغ کم بوده و حدود یک درصد تخم مرغ را تشکیل می دهد، در نتیجه فعالیت چرخه گلیکولیز نسبت به اکسیداسیون چربی در زمان کمبود اکسیژن برای تنفس جنینی نسبت به تنفس ریوی ضروری تر است (۱۷). همچنین برخی پژوهشگران نیز پیشنهاد کرده اند که همبستگی مثبتی بین غلظت گلوکز خون با وزن بدن جوجه وجود دارد (۷ و ۱۲). تیمار آب مقطر بیشترین میزان و تزریق اسید آمینه کمترین میزان

جدول ۴- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر فراسنجه های خون در روز اول پرورش (میلی گرم بر دسی لیتر)

Table 4- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on blood metabolites of one-day old broiler chicks (mg/dl)

تیمارها Treatments	گلوکز Glucose	تری گلیسرید Triglyceride	کلسترول Cholesterol	اچ-دی-ال HDL	ال-دی-ال LDL
آب مقطر Distilled water	163.33 <sup>b</sup>	72.66 <sup>a</sup>	439.67	96.66	328.40
اسید آمینه Amino acids	185.33 <sup>ab</sup>	49.00 <sup>c</sup>	399.00	92.66	291.53
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	179.00 <sup>ab</sup>	55.33 <sup>bc</sup>	401.33	96.00	303.27
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	201.00 <sup>a</sup>	67.00 <sup>ab</sup>	390.033	94.33	332.53
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	185.33 <sup>ab</sup>	55.33 <sup>bc</sup>	360.33	102.66	247.87
SEM	6.69	4.56	28.07	3.21	30.45
<i>p-value</i>	0.031	0.024	0.424	0.304	0.348

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی داری می باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

جدول ۵- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر فراسنجه های خونی بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی (میلی گرم بر دسی لیتر)

Table 5- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on blood metabolites after 36 h starvation (mg/dl)

تیمارها Treatments	گلوکز Glucose	تری گلیسرید Triglyceride	کلسترول Cholesterol	اچ-دی-ال HDL	ال-دی-ال LDL
آب مقطر Distilled water	193.67	79.67	506.67	123.67	367.07
اسید آمینه Amino acids	201.33	98.67	537.00	117.00	400.30
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	228.33	86.33	535.33	121.00	397.07
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	218.67	87.67	551.67	114.67	419.47
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	195.00	84.00	460.00	104.33	338.70
SEM	10.71	10.25	49.94	10.51	43.90
<i>p-value</i>	0.162	0.754	0.716	0.734	0.721

جدول ۶- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی طحال در سنین مختلف (درصد وزن بدن)

Table 6- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on the relative weight of the spleen at different ages (% live BW)

تیمارها Treatments	روزهای آزمایش Experimental days				
	1	3	7	14	42
آب مقطر Distilled water	0.024	0.024	0.070	0.073	0.107
اسید آمینه Amino acids	0.018	0.023	0.062	0.067	0.078
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	0.024	0.021	0.071	0.089	0.090
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	0.023	0.024	0.065	0.085	0.086
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	0.018	0.022	0.039	0.072	0.095
SEM	0.005	0.005	0.011	0.010	0.011
<i>p-value</i>	0.083	0.996	0.349	0.558	0.534

میانگین وزن نسبی تیموس نداشت. تحقیقات نشان می‌دهد تغذیه اولیه، رشد بهتر دستگاه ایمنی (بلوغ دستگاه ایمنی اولیه و ثانویه) را به دنبال دارد که موجب مقاومت بهتر جوجه‌ها در برابر بیماری‌ها می‌گردد (۴۴). زیرا جوجه‌های تازه متولد شده نسبت به استرس بسیار حساس هستند و تلفات در آنها زیاد است. همچنین تیموس جوجه‌ها، خیلی زود تحت تاثیر تنش و بیماری، دچار آتروفی می‌گردد (۳۵). بنابراین مواد تزریق شده به داخل کیسه آمیون نیز همراه مایع آمیوتیک توسط جنین بلعیده شده و از طریق جذب به وسیله دستگاه گوارش مورد مصرف جنین قرار می‌گیرد (۳۶). بنابراین عدم کاهش وزن نسبی تیموس در تیمارهای تحت تزریق، می‌تواند نشان دهنده عدم وجود تنش ناشی از گرسنگی پس از هچ در جوجه‌ها باشد.

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین وزن نسبی بورس فابرسیوس در روز اول پرورش معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۸). بیشترین میانگین وزن نسبی بورس فابرسیوس در روز اول پرورش مربوط به تیمار دکستروز ۱۰ درصد بود و کمترین آن در تیمار تزریق آب مقطر مشاهده شد. نتایج حاصل از میانگین وزن نسبی بورس فابرسیوس با نتایج تحقیقات دینر و همکاران (۹) و بیگوت و همکاران (۴) مشابه است. اما با نتایج هرفیانا (۱۶) و کادام و همکاران (۱۹) مطابقت نداشت. تحقیقات نشان می‌دهد که دسترسی زود هنگام به مواد غذایی (۲۴ تا ۳۶ ساعت ابتدایی پس از هچ) سبب افزایش وزن بورس می‌شود. این افزایش وزن در اثر تکثیر سلول‌های لنفوسیت در بورس است (۹). گرسنه ماندن جوجه‌ها پس از تفریح نیز موجب بروز تنش و ترشح کورتیکواستروئیدها در آنها می‌شود که مانع رشد مناسب سلول‌های ایمنی می‌گردد. بنابراین پیشرفت ایمنی ثانویه در جوجه‌ها وابسته به شروع هرچه سریع‌تر مصرف غذا می‌باشد.

در این پژوهش تفاوت معنی‌داری در فراسنجه‌های خونی بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). هر چند به لحاظ مقداری گلوکز خون در تیمارهای تزریق آب مقطر و بدون تزریق کمتر از سایر تیمارها بود (جدول ۵). در نتیجه محرومیت از غذا به مدت ۳۶-۲۴ ساعت، میزان گلیکوژن کبد ممکن است تا ۹۰ درصد کاهش یابد، با کاهش ذخایر گلیکوژن در خلال یک دوره طولانی محرومیت از غذا، مقدار گلوکز خون پرندگان نسبت به زمان قبل از محرومیت غذایی به میزان ۱۵-۱۰ درصد کاهش می‌یابد، سپس بعد از چند روز مجدداً شروع به افزایش می‌نماید تا به حد طبیعی برسد (۱۵). قابل ذکر است که در رابطه با تاثیر تغذیه درون تخم بر انواع صفات خونی بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی، گزارشی در دسترس نیست.

#### وزن نسبی طحال، تیموس و بورس

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی طحال، تیموس و بورس در جداول ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، تزریق انواع مواد غذایی در کیسه آمیون تفاوت معنی‌داری بر وزن نسبی طحال، در بازه‌های زمانی مختلف، نداشت (جدول ۶). نتایج پژوهش حاضر مشابه با نتایج کادام و همکاران (۱۹) و کید و همکاران (۲۱) بود.

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین وزن نسبی تیموس در روز ۱ و ۷ دوره پرورش معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) (جدول ۷). در این سنین کمترین وزن نسبی تیموس در تیمارهای تزریق آب مقطر و بدون تزریق مشاهده شد. نتایج حاصل با نتایج تحقیقات دینر و همکاران (۹) و هرفیانا (۱۶) مشابه است. اما در آزمایش‌های کادام و همکاران (۱۹) و کید و همکاران (۲۱) تزریق مواد مغذی تاثیر بر

اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت جوجه‌ها در سن ۳ روزگی در جدول ۹ گزارش شده است. در ارتباط با تاثیر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین طول پرز اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). بیشترین میانگین طول پرز در تیمار تزریق دکستروز ۲۰ درصد و کمترین طول پرز در دو تیمار تزریق آب مقطر و بدون تزریق مشاهده گردید.

تا ایمنی در مخاطات تکامل یابد و پرنده را در برابر ورود بیماری‌ها از راه دستگاه تنفسی که یکی از راه‌های عمده ورود آلودگی می باشد، محافظت نماید. در زمان تفریح IgM به مقدار بسیار کم در بورس یافت می‌شود که پس از شروع مصرف غذا به همراه رشد بورس، محتوی IgM نیز افزایش می‌یابد (۴۴).

### طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت ژژنوم

جدول ۷- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی تیموس در سنین مختلف (درصد وزن بدن)

Table 7- Effect of *in-ovo* injection of different nutrients on the relative weight of the thymus at different ages (% live BW)

تیمارها Treatments	روزهای آزمایش Experimental days				
	1	3	7	14	42
آب مقطر Distilled water	0.121 <sup>b</sup>	0.149 <sup>c</sup>	0.218	0.312	0.171
اسید آمینه Amino acids	0.165 <sup>a</sup>	0.242 <sup>a</sup>	0.200	0.345	0.225
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	0.175 <sup>a</sup>	0.205 <sup>ab</sup>	0.244	0.365	0.191
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	0.171 <sup>a</sup>	0.243 <sup>a</sup>	0.220	0.306	0.173
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	0.093 <sup>b</sup>	0.191 <sup>b<sup>c</sup></sup>	0.150	0.358	0.176
SEM	0.005	0.005	0.239	0.712	0.286
<i>p-value</i>	0.013	0.014	0.027	0.036	0.018

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

جدول ۸- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی بورس فابریسیوس در سنین مختلف (درصد وزن بدن)

Table 8- Effect of *in-ovo* injection of nutrients on the relative weight of the bursa of Fabricius at different ages (% live BW)

تیمارها Treatments	روزهای آزمایش Experimental days				
	1	3	7	14	42
آب مقطر Distilled water	0.081 <sup>c</sup>	0.068	0.136	0.199	0.171
اسید آمینه Amino acids	0.095 <sup>bc</sup>	0.077	0.167	0.233	0.225
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	0.149 <sup>a</sup>	0.075	0.145	0.243	0.191
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	0.131 <sup>ab</sup>	0.094	0.169	0.219	0.173
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	0.104 <sup>bc</sup>	0.077	0.103	0.242	0.144
SEM	0.012	0.008	0.016	0.024	0.022
<i>p-value</i>	0.022	0.299	0.104	0.712	0.223

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).



جدول ۹- اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت در سن سه روزگی

**Table 9-** Effect of *in ovo* injection of different nutrients on villus height, crypt depth and villus height: crypt depth at 3 days posthatch

تیماها Treatments	طول پرز Villus height	عمق کریپت Crypt depth	طول پرز: عمق کریپت Villus height: crypt depth
آب مقطر Distilled water	214.97 <sup>c</sup>	33.30	6.53
اسید آمینه Amino acids	311.67 <sup>b</sup>	38.30	8.29
دکستروز ۱۰٪ Dextrose 10%	319.10 <sup>b</sup>	41.66	7.82
دکستروز ۲۰٪ Dextrose 20%	367.85 <sup>a</sup>	41.66	9.06
بدون تزریق (شاهد ۱) No injection (control)	203.83 <sup>c</sup>	32.20	6.36
SEM	8.65	3.60	0.778
<i>p</i> -value	0.0001	0.257	0.140

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ( $P < 0.05$ ).

Means within same column with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

ولی پس از ۱ تا ۲ هفته، رشد و نمو روده‌ها به وضعیت طبیعی بازگشت. تاکو و همکاران (۳۶) به این نتیجه رسیدند که تاثیر تزریق کربوهیدرات‌ها بر رشد و توسعه روده، ۴۸ ساعت پس از تفریح دارای بیش‌ترین مقدار است.

### نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که تزریق داخل تخم مرغی مواد مغذی می‌تواند در بهبود عملکرد، ایمنی جوجه‌ها و رشد پرزها موثر باشد و در بین مواد مغذی، احتمالاً تزریق دکستروز ۲۰ درصد سودمند تر خواهد بود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت آقای مهندس بذرافشان، مدیریت داخلی کارخانه جوجه‌کشی ماهان که امکان انجام این پژوهش را میسر ساختند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

موسوی و همکاران (۲۶) و تاکو و همکاران (۳۶) گزارش کردند که تزریق گلوتامین، دکستروز و مخلوط ساکارز و دکستروز به کیسه آمینون در انتهای دوره جنینی سبب افزایش طول پرزها گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین تزریق مواد مغذی، تفاوت معنی‌داری را در عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت تیمارهای مختلف ایجاد نکرد ( $P > 0.05$ ) که با مطالعات موسوی و همکاران (۲۶) و تاکو و همکاران (۳۶) مطابقت نداشت. البته در این آزمایش به لحاظ عددی، در تیمار تزریق دکستروز ۲۰ درصد، بالاترین نسبت طول پرز به عمق کریپت مشاهده گردید. در این آزمایش تزریق کربوهیدرات‌ها احتمالاً به دلیل افزایش میزان تکثیر سلول‌های روده موجب افزایش معنی‌دار طول پرزهای روده شد. همچنین تغذیه جنینی کربوهیدرات می‌تواند رشد و توسعه دستگاه گوارش را از طریق افزایش تکثیر و تمایز انتروسیت‌ها (۳۶) و یا کاهش میزان تجزیه پروتئین (۳۱) افزایش دهد. در حالی‌که تاخیر در دسترسی به غذا موجب کاهش توسعه سطح پرزهای روده، نمو کریپت پرزها و بلوغ سلول‌های روده کوچک شده است و از تکامل لایه موکوسی روده کوچک جلوگیری می‌کند (۱۳). در آزمایش یونی و همکاران (۴۰) محرومیت غذایی اولیه موجب کاهش رشد و نمو موکوس روده شد

### منابع

- 1- Al-Murrani, W. 1982. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. *British Poultry Science*, 23(2):171-174.
- 2- Aviagen. 2007. Nutrition Specification for Ross 308. Aviagen Limited, Newbridge Scotland.
- 3- Bhanja, S., A. Mandal, S. Agarwal, and S. Majumdar. 2008. Effect of *in ovo* glucose injection on the post hatch-growth, digestive organ development and blood biochemical profiles in broiler chickens. *Indian Journal of Animal Sciences*, 78(8):869-872.

- 4- Bigot, K., S. Mignon-Grasteau, M. Picard, and S. Tesseraud. 2003. Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. *Poultry Science*, 82(5): 781-788.
- 5- Careghi, C., K. Tona, O. Onagbesan, J. Buyse, E. Decuypere, and V. Bruggeman. 2005. The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. *Poultry Science*, 84(8): 1314-1320.
- 6- Chamani, M., S. Tasharofi, F. Forudi, A. Sadeghi, and M. Aminafshar. 2012. Evaluation the effects of in-ovo injection of different nutrients on hatch percentage, performance and carcass parameters of broilers. *Annals of Biological Research*. 3(7).
- 7- Christensen, V., J. Grimes, W. Donaldson, S. Lerner. 2000. Correlation of body weight with hatchling blood glucose concentration and its relationship to embryonic survival. *Poultry Science*, 79(12): 1817-1822.
- 8- Dibner, J., and J. Richards. 2004. The digestive system: Challenges and opportunities. *Journal of Applied Poultry Research*, 13(1): 86-93.
- 9- Dibner, J., C. Knight, M. Kitchell, C. Atwell, A. Downs, and F. Ivey. 1998. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7(4): 425-436.
- 10- Dibner, J., J. Richards, and C. Knight. 2008. Microbial imprinting in gut development and health. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(1): 174-188.
- 11- Dos Santos, T., A. Corzo, M. Kidd, C. McDaniel, R. Torres Filho, and L. Araujo. 2010. Influence of *in ovo* inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 19(1): 1-12.
- 12- Ebrahimzad, Y., M. Salmanzadeh, H. Aghdamshahryar, R. Beheshti, and H. Rahimi. 2011. The effects of *in ovo* injection of glucose on characters of hatching and parameters of blood in broiler chickens. *Annals of Biological Research*, 2(3): 347-351.
- 13- Geyra, A., Z. Uni, and D. Sklan. 2001a. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80: 776-782.
- 14- Geyra, A., Z. Uni, and D. Sklan. 2001b. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *British Poultry Science*, 86:53-61.
- 15- Hazelwood, R., and F. Lorenz. 1959. Effects of fasting and insulin on carbohydrate metabolism of the domestic fowl. *American Journal of Physiology*, 197(1): 47-51.
- 16- Herfiana, I. 2007. The effect of Glutamine, Dextrin and Its Combination Through *In Ovo* Feeding on Immune Response, Blood Profiles and The Carcass Composition of Male Broiler Chicken. MSc thesis, Institut Pertanian Bogor, Indonesia.
- 17- Høiby, M., A. Aulie, and P. O. Bjornes. 1987. Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 86(1): 91-94.
- 18- Hulet, R. 2007. Symposium: Managing the Embryo for Performance Managing Incubation. *Poultry Science*, 86(5): 1017-1019.
- 19- Kadam, M., S. Bhanja, A. Mandal, R. Thakur, P. Vasana, A. Bhattacharyya, and J. Tyagi. 2008. Effect of *in ovo* threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *British Poultry Science*, 49(6): 736-741.
- 20- Keralapurath, M., A. Corzo, R. Pulikanti, W. Zhai, and E. Peebles. 2010. Effects of *in ovo* injection of L-carnitine on hatchability and subsequent broiler performance and slaughter yield. *Poultry Science*, 89(7): 1497-1501.
- 21- Kidd, M. T., J. W. Taylor, C. M. Page, B. D. Lott, and T. N. Chamblee. 2007. Hatchery feeding of starter diets to broiler chicks. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 234- 239.
- 22- Leitao, R. A., N. S. M. Leandro, M. B. Cafe, J. H. Stringhini, A. A. Pedroso, and L. da Silva Chaves. 2008. Inoculação de glicose em ovos embrionados de frango de corte: parametros de incubação e desempenho inicial. *Ciencia Animal Brasileira*, 9(4):847-855.
- 23- Lopez, G., and S. Leeson. 1995. Response of broiler breeders to low-protein diets. 1. Adult breeder performance. *Poultry Science*, 74(4): 685-695.
- 24- Lu, J., J. McMurtry, and C. Coon. 2007. Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. *Poultry Science*, 86(4): 673-683.
- 25- Moore, D., P. Ferket, and P. Mozdziak. 2005. Early post-hatch fasting induces satellite cell self-renewal. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 142(3): 331-339.
- 26- Mousavi, S. N., M. Shivazad, M. Chamani, E. A. Sadeghi, and H. Lotfolahiyan. 2008. Study of *in ovo* feeding as an early nutrition method. *Journal of Agricultural Science*, 5: 417-425. (In Persian).
- 27- Noy, Y., and D. Sklan. 1999. Different types of early feeding and performance in chicks and poults. *Journal of Applied Poultry Research*, 8(1): 16-24.
- 28- Noy, Y., and D. Sklan. 2001. Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80(10): 1490-1495.
- 29- Ohta, Y., M. Kidd, and T. Ishibashi. 2001. Embryo growth and amino acid concentration profiles of broiler

- breeder eggs, embryos, and chicks after *in ovo* administration of amino acids. *Poultry Science*, 80(10): 1430-1436.
- 30- Ohta, Y., N. Tsushima, K. Koide, M. Kidd, and T. Ishibashi. 1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poultry Science*, 78(11): 1493-1498.
- 31- Ostaszewski, P., and S. Nissen. 1988. Effect of hyperglucagonemia on whole-body leucine metabolism in immature pigs before and during a meal. *American Journal of Physiology*, 254:372-377.
- 32- Pilarski, R., M. Bednarczyk, M. Lisowski, A. Rutkowski, Z. Bernacki, M. Wardeńska, and K. Gulewicz. 2005. Assessment of the effect of  $\alpha$ -galactosides injected during embryogenesis on selected chicken traits. *Folia Biologica*, 53(2):13-20.
- 33- Salahi, A., S. N. Mousavi, F. Foroudi, M. M. Khabisi, and M. Norozi. 2011. Effects of *in ovo* injection of butyric acid in broiler breeder eggs on hatching parameters, chick quality and performance. *Global Veterinaria*, 7: 468-477.
- 34- SAS Institute. 2005. Statistical Analysis System, version 9.1 (release TS1M3). SAS Institute Inc., Cary North Carolina United States.
- 35- Shimi, A. 2001. Veterinary Immunology. Publications of the Veterinary Organization of Iran. (In Persian).
- 36- Tako, E., P. Ferket, and Z. Uni. 2004. Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Poultry Science*, 83(12): 2023-2028.
- 37- Tasharofi, S., and S. Rahimi. 2005. Effects of *in ovo* injection of nutrients on the growth of gastrointestinal and performance in broilers. *Agricultural Sciences and Technology*, 20(5): 111- 120. (In Persian).
- 38- Uni, Z., and R. Ferket. 2004. Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60(01): 101-111.
- 39- Uni, Z., P. Ferket, E. Tako, and O. Kedar. 2005. *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science*, 84(5): 764-770.
- 40- Uni, Z., S. Ganot, and D. Sklan. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, 77: 75-82.
- 41- Vieira, S., and E. Moran. 1999. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. *World's Poultry Science Journal*, 55(02): 125-142.
- 42- Willemsen, H., M. Debonne, Q. Swennen, N. Everaert, C. Careghi, H. Han, and E. Decuyper. 2010. Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 66(02): 177-188.
- 43- Yegani, M., and D. R. Korver. 2008. Factors affecting intestinal health in poultry. *Poultry Science*, 87(10): 2052-2063.
- 44- Yi, G., G. Allee, C. Knight, and J. Dibner. 2005. Impact of glutamine and oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, 84(2): 283-293.
- 45- Zhai, W., D. Rowe, and E. Peebles. 2011a. Effects of commercial *in ovo* injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. *Poultry Science*, 90(6): 1295-1301.
- 46- Zhai, W., P. Gerard, R. Pulikanti, and E. Peebles. 2011b. Effects of *in ovo* injection of carbohydrates on embryonic metabolism, hatchability, and subsequent somatic characteristics of broiler hatchlings. *Poultry Science*, 90(10): 2134-2143.