نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳، ص. ۲۲۶-۲۱۸

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 6, No. 3, Fall 2014, p. 218-226

تاثیر تزریق نانوسیلور و عصاره‌های آویشن و مرزه در تخم مرغ بر درصد جوجه درآوری، فرآسنجه‌های گوارشی و ایمنی در روز تفریخ

علی اصغر ساکی[1*]- جلال سالاری[2]- حسن علی عربی[3]- مهران وطنچیان[4] - معصومه عباسی نژاد[5]

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۹/۵
تاریخ پذیرش:۱۳۹۳/۶/۳۰

چکیده

آزمایشی با استفاده از هشتصد و پنجاه و پنج تخم‌مرغ نطفه‌دار در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار (تزریق روز پنجم انکوباسیون) و ۱۱ تیمار (تزریق روز هفدهم)، ۳ تکرار و ۱۵ عدد تخم مرغ در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد۱ (بدون تزریق)؛ شاهد۲ (تزریق نیم سی‌سی سرم فیزیولوژی) و در روز پنجم ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور و ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ترتیب آویشن و مرزه و در روز هفدهم ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم نانوسیلور و ۱۰۰، ۱۵۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم آویشن و مرزه بودند. تزریق روز پنجم کمترین وزن بورس در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم آویشن و ۷۵ میلی‌گرم مرزه بیشترین و تیمار ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور مشاهده شد (P<۰/۰۵). وزن طحال در ۷۵ میلی‌گرم آویشن بیشترین و در ۳۰ میلی‌گرم نانوسیلور کمترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵). وزن پوسته در روز تفریخ در تیمارهای شاهد، ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور کمترین مقدار بود (P<۰/۰۵). روز بعد از تفریخ کلسیم و نانوسیلور استخوان در ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور به‌طور معنی‌داری از دیگر تیمارها بالاتر بود (P<۰/۰۵). آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار نانوسیلور به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵). در نتایج روز هفدهم نسبت وزن کیسه زرده به وزن بدن در ۱۵۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد ۲ بود (P<۰/۰۵). سطوح کلسترول در تزریق ۱۷۵ میلی‌گرم آویشن و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای شاهد بود (P<۰/۰۵). نتیجه گیری کلی: با تزریق نانو نقره پارامترهای استخوان در جوجه‌های گوشتی بهبود یافت. همچنین با تزریق عصاره‌های آویشن و مرزه در تخم مرغ نطفه‌دار می‌توان از فعالیت آنتی اکسیدانی گلوکز موجود در این عصاره‌ها و دیگر خواص این گیاهان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌گوشتی، تزریق داخل تخم‌مرغ، عصاره آویشن، عصاره مرزه و نانو سیلور.

مقدمه

اغلب جوجه‌ها از زمان تفریخ تا ۴۸ ساعت به آب و غذا دسترسی ندارند. این مدت شامل زمان لازم جهت خروج تمام جوجه‌ها از تخم (۲۴-۳۶ ساعت)، عملیات جوجه‌کشی و نگهداری در جوجه‌کشی و انتقال از جوجه‌کشی تا مزرعه می‌باشد (۲۰). در روز ۱۹ انکوباسیون، زرده به داخل حفره شکمی جنین کشیده می‌شود و تا زمان دسترسی به خوراک به عنوان تنها منبع انرژی و مواد مغذی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که دسترسی سریعتر جوجه‌های گوشتی به غذا موجب افزایش جوجه درآوری، تقویت سیستم ایمنی، بهبود عملکرد دستگاه گوارش، افزایش وزن بدن، بازده گوشت سینه، بهبود خصوصیات ریخت شناسی و عملکرد روده و افزایش بافت لنفوئیدی مرتبط با روده می‌شود (۸ و ۲۵). با توجه به اینکه دسترسی زود هنگام به خوراک موجب بهبود رشد و توسعه در جوجه‌های تازه متولد شده می‌شود، انتظار می‌رود تغذیه جنین قبل از تفریخ، از طریق وارد نمودن مواد مغذی به درون تخم‌مرغ، اثرات مثبتی بر رشد و توسعه دستگاه گوارش، عملکرد جوجه‌های گوشتی و تقویت سیستم ایمنی داشته باشد (۶). آزمایشی برای بررسی اثرات تزریق گلوکز در روزهای مختلف و مکان‌های مختلف تزریق در تخم بوقلمون انجام شد. تزریق گلوکز در ۲۱ روزگی در کیسه زرده دارای تیتر آنتی‌بادی بیشتری نسبت به دیگر تیمارها بود. بیشترین وزن بورس در تیمارهای

۱- استاد گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا همدان،
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه بوعلی سینا همدان،
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا همدان،
۴- عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی،
۵- دانش آموخته دکتری تغذیه طیور دانشگاه بوعلی سینا همدان.
(*-نویسنده مسئول: Email: dralisaki@yahoo.com)

تزریق شده با گلوکز مشاهده شد. همچنین وزن کبد در تیمارهای تزریق شده نسبت به گروه شاهد بطورمعنی‌داری کمتر بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تزریق ۱۰ درصد گلوکز در ۲۱ روزگی و در کیسه زرده می‌تواند رشد جوجه‌های تفریخ شده را افزایش داده و باعث بهبود پاسخ ایمنی هومورال گردد (۲). در تحقیقی دیگر تزریق نانو سیلور در روز اول انکوباسیون به میزان ۱۵ پی‌پی‌ام باعث جذب این ماده توسط استخوان و افزایش معدنی شدن استخوان‌ها شد (۲۰). امروزه بدلیل مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها، عوارض جانبی آنها و استفاده بیش از حد از نگهدارنده‌های شیمیایی مواد غذایی، توجه به عصاره و داروهای گیاهی و مواد ضدمیکروبی طبیعی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، افزایش یافته است (۱۳). استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی می‌تواند یکی از راه حل‌های بهبود ایمنی و کاهش ابتلاء به بیماری-های عفونی در حیوانات باشد (۱۷). گیاهان دارویی و فراورده‌های آن می‌توانند باعث افزایش قابلیت سیستم ایمنی و بهبود رشد در دام و طیور شود. گیاهان دارویی، اسانس یا عصاره آن‌ها از جمله مواد افزودنی هستند که طی سالیان اخیر برای بهبود صفات تولیدی یا سلامت طیور به جیره آنها اضافه شده است (۱۸). گیاهان غنی از فلاوونوئیدها و کاروتنوئیدها مانند آویشن به خاطر داشتن ویتامین سی و همچنین اثرات ضد باکتریایی، باعث بهبود سیستم ایمنی می‌شوند (۴).

جدول ۱- چند پارامتر مهم در عصاره‌های آویشن و مرزه

پارامتر	آویشن	مرزه
میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	۷۶	۸۹
خاکستر (درصد)	۹/۴۱	۱۱/۲۸
گلوکز (درصد)	۵/۱۶	۶/۳۷

علاوه بر این خواص آنتی‌باکتریالی نانوسیلور به عنوان یک فلز طبیعی که با استفاده از فناوری نانو تولید می‌شود به اثبات رسیده است، که باعث افزایش اثر بخشی و کاهش عوارض جانبی و میزان سمیت می‌شود (۲۶). این ماده می‌تواند نرخ متابولیسم را در جنین افزایش دهد و به عنوان یک ماده ضد فساد و فاکتور پیش ایمنی در جنین عمل کند، اثراث سمی روی ژن‌ها ندارد. همچنین نانوذرات سیلور به عنوان عوامل ضد التهاب هستند که سیستم هموستاز بدن را به‌هم نمی‌زنند. ساختار منحصر به فرد شبکه بلور نقره این اجازه را به این ماده می‌دهد تا اکسیژن در حفره‌های هشت ضلعی آن ذخیره شود و احتمالاً اکسیژن محیط را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۲). این خصوصیات نانو سیلور، مشابه با خصوصیات گیاهانی مانند آویشن و مرزه است که هم خصوصیات آنتی اکسیدانی و هم ضد باکتریایی دارد. بنابراین ممکن است بررسی و مطالعه تزریق عصاره‌های گیاهان آویشن و مرزه و نانو سیلور در دوران انکوباسیون و بررسی صفاتی همچون درصد جوجه درآوری و پارامترهای گوارشی و ایمنی جوجه‌های حاصل از این تزریقات اثرات مثبتی را نشان دهد.

جدول ۲- اثر تزریق سطوح مختلف نانوسیلور، آویشن و مرزه در ۵ روزگی جنینی بر وزن بدن، کیسه زرده و پارامترهای ایمنی در یک‌روزگی

تیمار	سطح	وزن بدن (گرم)	وزن بورس (درصد وزن بدن)	وزن طحال (درصد وزن بدن)	وزن کیسه زرده (گرم)	نسبت وزن کیسه زرده به نسبت وزن بدن (درصد)	نسبت وزن بدن به وزن تخم مرغ (درصد)
شاهد	۱	۴۵/۶۱	۰/۱۶۶^{ab}	۰/۰۴۶^{abc}	۳/۳۲	۷/۴۰	۷۵/۰۹
	۲	۴۲/۳۴	۰/۱۶۶^{ab}	۰/۰۵۰^{abc}	۳/۷۲	۸/۹۰	۶۹/۵۵
نانو سیلور	۳۰	۴۶/۱۹	۰/۱۱۰^{b}	۰/۰۲۸^{c}	۳/۷۸	۸/۳۱	۷۲/۸۵
(میلی گرم)	۴۵	۴۵/۶۳	۰/۱۰۱^{b}	۰/۰۳۷^{bc}	۴/۰۸	۹/۳۳	۷۱/۸۸
آویشن	۷۵	۴۷/۴۲	۰/۲۳۸^{a}	۰/۰۶۸^{a}	۴/۶۹	۹/۸۱	۷۴/۰۴
(میلی گرم)	۱۰۰	۴۹/۹	۰/۲۴۵^{a}	۰/۰۵۳^{ab}	۴/۶۱	۹/۱۵	۷۶/۴۸
مرزه* (میلی گرم)	۷۵	۵۰/۱۸	۰/۲۳۹^{a}	/۰۵۳^{ab}	۴/۸	۹/۴۶	۸۰/۷۰
SEM		۲/۰۰۹	۰/۰۱۶	۰/۰۰۳	۰/۳۷۸	۰/۸۵۴	۳/۴۷۱
P		۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۰۸
C.V		۷/۴۵	۳۳/۴۵	۲۴/۸۷	۱۵/۸۴	۱۶/۶۹	۹/۵۱

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

* جوجه‌های حاصل از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مرزه تفریخ نشده و یا بعد از تفریخ دارای ضایعات حرکتی بوده و لذا حذف گردیدند.

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

جدول ۳- اثر تزریق سطوح مختلف نانوسیلور، آویشن و مرزه در ۵ روزگی جنینی بر وزن تخم مرغ و پوسته در یک روزگی

تیمار	سطح	جوجه درآوری (درصد)	وزن تخم مرغ (گرم)	وزن پوسته در روز اول جنینی (گرم)	وزن پوسته در روز تفریخ (گرم)	نسبت وزن پوسته در دو مرحله (درصد)
شاهد	۱	۶۶/۲۵	۶۰/۷۷	۶/۱۵	۵/۵۳^{b}	۸۹/۷۶
	۲	۵۸/۱۲	۶۱/۲۳	۷/۱۲	۶/۵۵^{a}	۹۱/۰۳
نانو سیلور(میلی گرم)	۳۰	۶۹/۸۳	۶۳/۳۳	۶/۳۴	۵/۷۸^{ab}	۹۱/۰۵
	۴۵	۶۶/۲۶	۶۳/۹۴	۶/۵۷	۵/۱۲^{b}	۸۸/۸۱
آویشن(میلی گرم)	۷۵	۶۳/۷۷	۶۴/۳۰	۶/۸۵	۶/۴۷^{a}	۹۰/۵۸
	۱۰۰	۶۳/۵۰	۶۵/۱۷	۶/۱۵	۵/۷۵^{ab}	۸۳/۱۴
مرزه*(میلی گرم)	۷۵	۶۲/۶۲	۶۲/۶۳	۶/۹۲	۶/۵۱^{a}	۹۰/۶۰
SEM		۴/۰۲۳	۲/۴۸۳	۰/۳۶۵	۰/۲۷۱	۳/۲۰۸
P		۰/۱۴	۰/۲۲	۰/۳۶	۰/۰۱	۰/۶۰
C.V		۱۰/۷۸	۶/۸۲	۹/۵۵	۷/۸۷	۶/۲۲

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

* جوجه‌های حاصل از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مرزه تفریخ نشده و یا بعد از تفریخ دارای ضایعات حرکتی بوده و لذا حذف گردیدند.

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

هدف از این آزمایش بررسی اثرات نانو سیلور (به عنوان ماده سنتتیک) و عصاره های آویشن و مرزه (به عنوان مواد ارگانیک) در تکنیک تزریق داخل تخم مرغ بر درصد جوجه درآوری، فرآسنجه‌های گوارشی و ایمنی در روز تفریخ در جوجه‌های تفریخ شده می‌باشد.

مواد و روش

تهیه عصاره آویشن و مرزه

عصاره‌گیری به روش خیسانیدن در اتانول ۸۰ درصد و آب دوبار تقطیر انجام گرفت. ابتدا برگ‌های خشک شده گیاه آویشن و مرزه را پودرکرده و ۱۵۰ گرم از پودر برای عصاره‌گیری استفاده شد. هر ۵۰ گرم پودر آویشن و مرزه را به طور جداگانه با ۴۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط کرده و این مخلوط طی ۲۴ ساعت روی شیکر با دور ساعت ۱۰۰ آر پی ام در دمای محیط خیس شد. بعد از آن مخلوط حاصل توسط پمپ خلاء صاف گردید. سپس باقی مانده‌ی روی صافی را در ازاء هر ۵۰ گرم، در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر طی ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس آن را صاف کرده و محلول زیر صافی در روتاری تحت خلاء در دمای ۴۳ درجه سانتیگراد تغلیظ شد. در مرحله بعد محلول تغلیظ شده در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته و در آون در دمای ۴۳ درجه سانتیگراد قرار داده شد، تا اینکه حلال بطور کامل تبخیر شده و پودر عصاره حاصل را تا زمان مصرف در فریزر نگهداری شد (۲۶).

تهیه نانوسیلور

نانوسیلور با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام به صورت سوسپانسیون از شرکت نانوسید تهران خریداری شد و با سرم فیزیولوژی رقیق شد تا غلظت‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ پی‌پی‌ام بدست آمد.

در این آزمایش ۸۵۵ عدد تخم‌مرغ قابل جوجه‌کشی سویه راس ۳۰۸ از فارم مرغ مادر دوستان همدان (سن مرغ مادر ۵۰ هفته، سیکل اول تولید، میانگین وزن تخم مرغ ۶۷/۵ گرم، درصد تولید ۶۶/۷) در دستگاه جوجه‌کشی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا قرار داده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار، ۳ تکرار و ۱۵ عدد تخم مرغ در هر تکرار در تزریق روز پنجم انکوباسیون و ۱۱تیمار، ۳ تکرار و ۱۵ عدد تخم مرغ در هر تکرار در تزریق روز هفدهم طراحی گردید. برای مقادیر مورد نیاز نانو سیلور از فرمول‌های ارائه شده توسط شرکت نانوسید استفاده گردید و به منظور درست کردن محلول عصاره‌ها، ابتدا عصاره‌های مورد نظر خشک شده و به صورت پودر درآورده شد. سپس با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت سه رقم اعشار؛ اندازه گیری شده و در مقدار معین آب حل گردید. همه مقادیر مورد استفاده میلی‌گرم می‌باشد. همان گونه که برای نانو سیلور ذکر شد؛ در ابتدا یک پیش آزمایش طراحی شده و غلظت های متفاوتی از عصاره‌ها تزرق گردید و از نتایج به دست آمده از پیش آزمایش، غلظت های مورد استفاده در آزمایش اصلی تعیین گردید. تیمارهای شاهد شامل (۱ و ۲ به ترتیب بدون تزریق و تزریق نیم سی‌سی سرم فیزیولوژی) بودند. مقدار تزریق شامل سطوح ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور در ۵ روزگی و ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی‌گرم در سن ۱۷ روزگی انکوباسیون، عصارهای گیاهی آویشن و مرزه در ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در روز پنجم و ۱۰۰، ۱۵۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم در روز هفدهم انکوباسیون بود. در روز پنجم و هفدهم انکوباسیون، ابتدا محل کیسه

ی زرده با استفاده از روش نوربینی مشخص شد و سپس نیم میلی‌لیتر از محلول تزریق به وسیله سرنگ با سوزن شماره ۲۱ و در کیسه‌ی زرده به تخم مرغ‌های بارور تزریق شد. قبل از تزریق محل مورد نظر با الکل و پس از تزریق با تنترید ضد عفونی شده و توسط پارافین مذاب مسدود گردید. تمام شرایط در دستگاه هچری برای گروه‌های آزمایشی یکسان در نظر گرفته شد. وزن پوسته در دو مرحله اندازه گیری شد. مرحله اول زمان ورود تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی (روز یک جنینی) و مرحله دوم زمان تفریخ جوجه‌ها در روز ۲۱ انکوباسیون (روز صفر پرورش). در سن ۱روزگی پس از تفریخ از هر تکرار ۲ پرنده جدا شده و ۱ سی سی خون از ورید بال آنها گرفته شدند. سرم نمونه‌های خون درلوله‌های آزمایشی فاقد ماده ضد انعقاد توسط سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف نانوسیلور، آویشن و مرزه در ۵ روزگی جنینی بر پارامترهای استخوان ران جوجه در یک روزگی

تیمار	سطح کلسیم (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم استخوان)	فسفر(میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) استخوان[1)]	نانو سیلور (میلی‌گرم بر کیلوگرم استخوان)	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم استخوان)
شاهد	۱	۸/۸۳^{b}	۳/۸	۰ ^{c}	۴/۰۵^{c}
	۲	۸/۷۱^{b}	۳/۵۸	۰ ^{c}	۳/۹۵^{c}
نانو سیلور(میلی گرم)	۳۰	۱۲/۸۰^{ab}	۴/۳۵	۰/۱۲^{b}	۶/۷۶^{ab}
	۴۵	۱۶/۴۳^{a}	۴/۳۲	۰/۱۶^{a}	۷/۲۹^{a}
آویشن(میلی گرم)	۷۵	^{b}۹/۷۵	۳/۹	۰ ^{c}	۴/۸۸^{bc}
	۱۰۰	۱۰/۴۵^{b}	۳/۸۶	۰ ^{c}	۶/۱۲^{abc}
مرزه*(میلی گرم)	۷۵	۱۰/۳۱^{b}	۳/۹	۰ ^{c}	۶/۰۳^{abc}
SEM		۱/۵۲۲	۰/۲۷۸	۰/۰۱۱	۰/۷۱۴
P		۰/۰۳	۰/۴۵	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳
C.V		۲۳/۸۷	۱۲/۱۵	۴۵/۸۴	۲۲/۲

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

* جوجه‌های حاصل از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مرزه تفریخ نشده و یا بعد از تفریخ دارای ضایعات حرکتی بوده و لذا حذف گردیدند.

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

جدول ۵- اثرتزریق سطوح مختلف نانوسیلور، آویشن و مرزه در ۵ روزگی جنینی بر پارامترهای خونی در یک روزگی

تیمار	سطح	آلکالین فسفاتاز	اچ دی ال	ال دی ال	کلسترول	تری‌گلیسرید	گلوکز
		(واحد بین‌المللی)		میلی‌گرم بر دسی‌لیتر			
شاهد	۱	۶۲۶/۶۷^{b}	۱۹۱/۳۳	۶۱/۷۳	۱۱۸/۳۳	۱۱۴/۳۳	۱۸۱/۳۳
	۲	۶۱۹/۳۳^{b}	۱۹۰/۶۷	۶۲/۵۰	۱۲۱/۳۳	۱۱۲	۱۷۳
نانو سیلور(میلی گرم)	۳۰	۷۷۹/۶۷^{a}	۲۱۶	۷۱/۶۸	۱۲۴/۳۰	۱۱۵/۳۳	۱۸۴/۳۳
	۴۵	۷۹۱/۰۰^{a}	۲۱۴/۶۷	۷۰/۳۳	۱۲۱/۶۷	۱۰۸/۰۰	۱۷۹
آویشن(میلی گرم)	۷۵	۷۰۶/۶۷^{ab}	۲۵۳	۷۰/۶۹	۱۳۰/۶۷	۱۱۷/۳۳	۲۰۱
	۱۰۰	۷۰۳/۳۳^{ab}	۲۷۹/۳۳	۷۲/۴۰	۱۳۳/۶۷	۱۳۳/۶۷	۲۱۳
مرزه*(میلی گرم)	۷۵	۶۴۳ /۶۷^{b}	۲۹۵/۶۷	۸۷/۲۱	۱۴۰	۱۴۴	۲۱۲
SEM		۴۱/۲۱۳	۲۰/۴۳۱	۲۰/۶۴۷	۶/۸۶۰	۱۲/۹۴۱	۱۳/۶۲۹
P		۰/۰۴۷	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۰۷	۰/۱۷	۰/۱۳
C.V		۱۰/۲۷	۱۵/۰۴	۷/۵۷	۹/۴۸	۱۸/۴۴	۱۲/۳۰

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

* جوجه‌های حاصل از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مرزه تفریخ نشده و یا بعد از تفریخ دارای ضایعات حرکتی بوده و لذا حذف گردیدند.

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

جدول ٦- اثر تزریق سطوح مختلف کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی بر پارامترهای اندازه‌گیری شده در یک روزگی

تیمار	سطح	وزن بدن (گرم)	وزن بورس (درصد)	وزن طحال (درصد)	وزن کیسه زرده (گرم)	نسبت وزن کیسه زرده به وزن بدن (درصد)	نسبت وزن بدن به وزن تخم مرغ (درصد)
شاهد	۱	۴۶/۴۵	۰/۱۸۲	۰/۰۹۷	۳/۵	۷/۵۴^{bc}	۷۴/۸۳
	۲	۴۶/۲۲	۰/۱۹۹	۰/۰۹۳	۳/۴۲	۷/۲۹^{c}	۷۴/۲۳
نانو سیلور (میلی گرم)	۳۰	۴۶/۱۲	۰/۱۶۹	۰/۰۹۸	۳/۷۹	۷/۷۱^{bc}	۷۴/۸۵
	۴۵	۴۵/۱۹	۰/۱۵۹	۰/۰۹۶	۳/۵۴	۸/۵۰^{abc}	۷۴/۵۷
	۶۰	۴۳/۷۷	۰/۱۶۱	۰/۰۸۷	۳/۹	۹/۱^{abc}	۷۴/۸۴
آویشن (میلی گرم)	۱۰۰	۴۶/۱۵	۰/۲۴۴	۰/۰۹۴	۴/۱۵	۸/۹۹^{abc}	۷۴/۰۳
	۱۵۰	۴۶/۴۷	۰/۲۳۷	۰/۱۰۱	۳/۹۹	۸/۵۶^{abc}	۷۶/۶۲
	۱۷۵	۴۶/۷۲	۰/۲۵۴	۰/۱۰۳	۴/۰۷	۸/۶۸^{abc}	۷۶/۰۹
مرزه (میلی گرم)	۱۰۰	۴۷/۱۵	۰/۱۹۹	۰/۱۳۲	۵/۱۴	۱۰/۸۸^{ab}	۷۴/۷۹
	۱۵۰	۴۷/۸	۰/۲۴۵	۰/۰۹۴	۵/۴۴	۱۱/۳۴^{a}	۷۵/۵۶
	۱۷۵	۴۹/۶	۰/۲۴۲	۰/۱۲۰	۵/۵۱	۱۱/۰۷^{a}	۷۹/۸۱
SEM		۱/۵۹۲	۰/۰۲۹	۰/۰۱۱	۰/۶۱۹	۰/۸۴۴	۲/۸۴۲
P		۰/۶۱	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۹۶
C.V		۵/۹۶	۲۴/۲۲	۱۸/۶۹	۲۵/۴۵	۱۶/۲۶	۶/۵۲

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

شاخصه‌های مورد آزمایش شامل: آلکالین فسفاتاز، اچ-دی-ال، ال-دی-ال، کلسترول، تری گلیسرید، گلوکز کلسیم و فسفر خون بودند که با روش اسپکتوفتومتری و با استفاده از کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت بیوسیستم[1] کشور اسپانیا اندازه گیری شدند. در این آزمایش از استخوان ران جوجه ها برای سنجش پارامترهای استخوان استفاده گردید. برای اندازه‌گیری کلسیم، فسفر و مس استخوان بعد از جداکردن ماده آلی توسط اسیدهیدروکلریک عناصر معدنی استخوان توسط دستگاه آی‌سی‌پی مدل Integra XD GBC مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین برای اندازه‌گیری نانو نقره استخوان از دستگاه متراهم تیتراتور با روش رسوب دهی نقره با استفاده از کلر در شرکت نانوسید انجام گرفت.کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزارآماری اکسل ویرایش شده و جهت تجزیه و تحلیل آماری به نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ (۲۱) منتقل شدند. در این نرم افزار از رویه‌های مدل خطی عمومی (GLM) استفاده شد. میانگین اثرات معنی‌دار، در تجزیه واریانس (P≤۰/۰۵) با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و فرض خطای ۰/۰۵ مقایسه گردیدند.

مدل آماری مورد استفاده برای تجزیه داده‌ها به شرح معادله زیر بود:

$$Yij = \mu + T i + e ij$$

μ: میانگین مشاهدات؛ Ti: اثر تیمار (داده مربوط به i امین تیمار)؛ e ij: اثر اشتباه آزمایشی (مقداراشتباه از j امین تکرار از i امین تیمار).

نتایج و بحث

لازم به ذکر است که جوجه‌های حاصل از تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم مرزه تزریق شده در روز پنجم جنینی تفریخ نشده و یا بعد از تفریخ دارای ضایعات حرکتی بوده و لذا حذف گردیدند. نتایج حاصل از اثرات تزریق سطوح مختلف نانوسیلور، آویشن و مرزه بر پارامترهای روز بعد از تفریخ در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. وزن بورس در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم آویشن و ۷۵ میلی‌گرم مرزه بیشترین و در تیمار ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور کمترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵). وزن طحال نیز در تیمار ۷۵ میلی‌گرم آویشن بیشترین و در تیمار ۳۰ میلی-گرم نانوسیلور کمترین مقدار را نشان داد (P<۰/۰۵). یافته‌های به دست آمده در این بخش مبنی بر کاهش وزن بورس در زمان تزریق نانو سیلور در تخم‌مرغ با نتایج گرودزیک و ساوژ (۱۰) موافق و با نتایج اجمدی و کردستانی (۱) مغایر بود. دلیل این تناقض را می‌توان نوع و زمان استفاده از نانو سیلور دانست. زیرا احمدی و کردستانی (۱) این ماده را به صورت خوراکی و بعد از تفریخ مورد استفاده قرار دادند.

همچنین وزن پوسته در تیمارهای شاهد ۲، ۷۵ میلی‌گرم آویشن و ۷۵ میلی‌گرم مرزه بیشترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵). یک فاکتور کلیدی برای رشد جنین وجود منابع غذایی مناسب در طول انکوباسیون است (۷). از طرفی کلسیم مورد نیاز در دوره جنینی از

1. Biosystem

پوسته تامین می‌شود. در نتیجه غشاء کوریوآلانتوئیس اسید ترشح می کند که پوسته را در خود حل کرده و عناصر موجود در پوسته را در دسترس جنین قرار می‌دهد (۱۵). کاهش وزن پوسته در تیمار ۴۵ میلی‌گرم نانوسیلور را می‌توان این گونه توجیه کرد که چون نانوسیلور در استخوان و دیگر بافت‌ها ذخیره شده و معدنی شدن استخوان را تسریع بخشیده و به دلیل اینکه تنها منبع کلسیم برای استفاده جنین، پوسته است (۱۴)، معدنی شدن استخوان باعث کاهش وزن پوسته شده است.

اثر تزریق سطوح مختلف تزریق کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه بر پارامترهای خونی و استخوان در تزریق ۵ روزگی جنینی در اولین روز بعد از تفریخ در جداول ۴ و ۵ آورده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود در اولین روز بعد از تفریخ، میزان کلسیم، نانوسیلور و مس استخوان در تیمار ۴۵ میلی‌گرم نانو سیلور به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای شاهد و سطح ۷۵ میلی‌گرم آویشن بود (P<۰/۰۵). که از دلایل احتمالی این اختلافات می‌توان به مقدار نانوسیلور تزریق شده و زمان تزریق اشاره کرد. همچنین میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز در تیمارهای نانوسیلور بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است. این نتایج، با نتایج سیکورسکا و همکاران (۲۰) مغایر بود. این محققین مقدار ۵۰ پی پی ام نانو سیلور را در ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و در قبل از انکوباسیون تخم مرغ ها تزریق کردند ولی در این تحقیق مقادیر ۳۰، ۴۵ و ۶۰ میلی گرم نانو سیلور در نیم سی سی سرم فیزیولوژی حل شده و در روزهای پنجم و هفدهم جنینی (در تخم‌مرغ‌های مجزا) تزریق شده است. از آنجا که نانوسیلور به‌طورمعنی‌داری میزان آلکالین فسفاتاز را افزایش داد و با توجه به نقش آلکالین‌فسفاتاز که سبب تسریع در روند استخوانی شدن و رسوب کلسیم در شبکه‌ی غضروفی استخوان‌های در حال تشکیل می‌شود (۱۴) انتظار می‌رود که درصد مس نیز که یک عنصر ضروری برای ساخت بافت شبکه‌ی کلاژن است و همراه با ویتامین ب۶ به عنوان یک کوفاکتور عمل می‌کند، افزایش یابد (۱۶). افزایش درصد مس باعث بهبود خاصیت ارتجاعی استخوان می‌شود (۱۰).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای بعد از تفریخ جهت بررسی تأثیر تزریق سطوح مختلف کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی در جداول ۶ و ۷ ارائه شده است. در پارامترهای مورد بررسی تنها نسبت وزن کیسه زرده به وزن بدن در تیمارهای ۱۵۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد ۲ بود (p<۰/۰۵). همان طور که در جدول ۷ نشان داده شده است اثر تیمارها بر صفات مورد اندازه‌گیری در این سن معنی دار نبود. به دلیل اینکه جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های بزرگتر دارای وزن بیشتری هستند (۳)، نسبت وزن بدن به وزن تخم‌مرغ معیار بهتری نسبت به وزن بدن به تنهایی خواهد بود. نتایج به دست آمده در این قسمت با یافته‌های گوری و کیورشی (۹) و نتایج ابراهیم نژاد و همکاران (۵) مطابق اما با گرودژیک و ساوژ (۱۱) مغایر بود.

با توجه به این اصل که در عصاره‌ی مرزه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بالاتر از آویشن است، و زمانی که نقش آنتی‌اکسیدان‌ها را در مصرف چربی‌های زرده در دوره‌ی انکوباسیون مورد بررسی قرار دهیم دلایل این روند برای ما آشکار خواهد شد. از آنجا که در صنعت طیور معمولاً چربی‌هایی در جیره استفاده می‌شود که از کیفیت بالایی برخوردار نیست و بسیار به اکسیداسیون حساس‌اند، این چربی‌ها در دستگاه گوارش طیور با تغییرات بسیار جزئی جذب می‌شود. به‌طوری که می‌توان گفت چربی‌هایی که در زرده‌ی تخم‌مرغ ذخیره می‌شود انعکاسی از چربی‌های موجود در جیره است. زمانی‌که آنتی‌اکسیدان‌ها در داخل تخم‌مرغ تزریق شوند، بازده استفاده از چربی‌ها در روند رشد جنینی بسیار افزایش می‌یابد. همچنین به دلیل این که زمان استفاده از چربی‌های موجود در زرده برای رشد جنین از سن ۱۴تا ۱۵ روزگی جنینی به بعد است تزریق آنتی‌اکسیدان‌ها در روز ۱۷ جنینی باعث افزایش کارایی انرژی شده و میزان چربی‌های زرده حفاظت شده و میزان آنها در تخم‌مرغ افزایش می‌یابد و بدین ترتیب وزن کیسه‌ی زرده نسبت به وزن بدن افزایش می‌یابد (۲۳).

همچنین نتایج مربوط به اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی جهت بررسی تأثیر تزریق سطوح مختلف کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی در سن ۱ روزگی در جدول ۸ ارائه شده است. از بین فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده میزان کلسترول در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم مرزه و ۱۷۵ میلی‌گرم آویشن به طور معنی داری بالاتر از تیمارهای شاهد بود (P<۰/۰۵). از طرفی میزان گلوکز در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم مرزه و ۱۷۵ میلی‌گرم آویشن به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۶۰ میلی‌گرم نانوسیلور بود (P<۰/۰۵). نگهداری تعادل گلوکز در خون جنین در طول دوره‌ی پایانی انکوباسیون وابستگی زیادی به گلوکز ذخیره شده در کبد دارد که عمدتاً در فرم گلیکوژن است. همچنین گلوکز می‌تواند به وسیله‌ی گلوکونئوژنز از پروتئین‌های آلبومین و سپس از ماهیچه‌های جنین تولید شود. ناکافی بودن گلیکوژن موجود در کبد و پروتئین‌های آلبومین، جنین را مجبور به استفاده از پروتئین‌های ماهیچه‌ای برای تولید گلوکز می‌کند. به همین دلایل رشد جنین در اواخر دوره‌ی انکوباسیون محدود خواهد شد (۲۴). به همین دلیل تزریق موادی که دارای گلوکز هستند می‌تواند غلظت گلوکز خون را در حد مناسب نگه دارد. نتایج به دست آمده در این تحقیق در رابطه با گلوکز با یافته‌های بانجا و همکاران (۳) و آمیتاو و همکاران (۲) مطابقت دارد. قبل از تزریق عصاره‌های آویشن و مرزه، در آزمایشگاه چند پارامتر از قبیل فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار گلوکز آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در جدول ۱ مشهود است. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده این عصاره‌ها دارای گلوکز هستند و به همین دلیل برخی از اثرات به دست آمده از تزریق این عصاره‌ها را می‌توان به وجود گلوکز در این

عصاره‌ها نصبت داد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای استخوان جوجه‌های گوشتی در نتیجه تزریق سطوح مختلف کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در مقایسه با گروه شاهد در سن ۱ روزگی در جدول ۹ ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش اثر معنی داری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده نداشت (P>۰/۰۵). تنها نانوسیلور در تیمارهایی یافت شد که در آنها نانوسیلور تزریق شده بود و با افزایش سطح تزریق شده میزان نانوسیلور موجود در استخوان افزایش یافته بود. نتایج این تحقیق با نتایج سیکورسکا و همکاران (۲۰) مطابقت داشت.

جدول۷- اثر تزریق سطوح مختلف کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی بر پارامترهای اندازه‌گیری شده در یک روزگی

تیمار	سطح	جوجه درآوری (درصد)	وزن تخم مرغ (گرم)	نسبت وزن پوسته در دو زمان اول و آخر انکوباسیون (درصد)
شاهد	۱	۶۹/۸۶	۶۲/۱۳	۹۲/۲۴
	۲	۶۰/۸۸	۶۲/۳۷	۹۳/۱۳
نانو سیلور (میلی گرم)	۳۰	۷۲/۵۹	۶۱/۸	۸۸/۴۲
	۴۵	۷۲/۴۹	۶۰/۵۷	۹۰/۳۴
	۶۰	۷۳/۳۲	۶۱/۸۷	۹۰/۱۱
آویشن (میلی گرم)	۱۰۰	۶۷/۵۴	۶۲/۷	۹۳/۵۳
	۱۵۰	۶۵/۱۹	۶۰/۹۷	۸۶/۳۸
	۱۷۵	۶۸/۵	۶۱/۰۷	۸۷/۴۷
مرزه (میلی گرم)	۱۰۰	۶۵/۷۴	۶۳/۲۳	۹۳/۰۵
	۱۵۰	۶۴/۵۵	۶۳/۷۳	۹۱/۵۲
	۱۷۵	۵۶/۱۸	۶۲/۳۲	۸۸/۲۱
SEM		۴/۰۲۴	۲/۸۵۰	۷/۴۰۱
P		۰/۱۴	۰/۹۹	۰/۹۹
C.V		۵/۹۶	۰/۱۴۰	۸/۷۹

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

جدول ۸- اثر سطوح مختلف تزریق کلوئید نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی بر فراسنجه‌های خونی در یک روزگی

تیمار	سطح	آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی)	اچ دی ال	ال دی ال	کلسترول میلی‌گرم بر دسی‌لیتر	تری‌گلیسرید	گلوکز
شاهد	۱	۲۷۹	۳۶/۷	۶۰/۰۷	۱۱۸^{b}	۱۱۲	۲۱۵^{bc}
	۲	۲۵۶	۳۳/۹۷	۵۶/۴۰	۱۱۷^{b}	۱۱۳	۲۱۱^{bc}
نانو سیلور (میلی گرم)	۳۰	۳۱۲	۳۸/۳۳	۶۳/۰۷	۱۲۲^{ab}	۱۱۴	۲۱۲^{bc}
	۴۵	۳۱۳	۳۸/۲۳	۶۲/۷۳	۱۲۷^{ab}	۱۱۴	۲۱۰^{bc}
	۶۰	۳۷۰	۳۸/۶۷	۶۰/۸۷	۱۲۳^{ab}	۱۱۷	۲۰۵^{c}
آویشن (میلی گرم)	۱۰۰	۲۹۱	۴۷/۸۷	۷۷/۷۳	۱۴۱^{ab}	۱۲۶	۲۳۰^{abc}
	۱۵۰	۲۹۴	۵۱/۱	۷۴/۵۳	۱۴۵^{ab}	۱۲۶	۲۳۲^{abc}
	۱۷۵	۳۰۴	۴۹	۷۹/۸۰	۱۴۴^{a}	۱۳۰	۲۵۷^{a}
مرزه (میلی گرم)	۱۰۰	۲۸۳	۵۲	۷۶/۸۰	۱۴۶^{a}	۱۳۳	۲۵۰^{ab}
	۱۵۰	۲۸۷	۵۹	۸۳/۲۷	۱۴۷^{a}	۱۴۱	۲۵۸^{a}
SEM		۳۶/۰۳۷	۶/۱۶۳	۶/۵۰۶	۷/۵۴۷	۶/۹۵۵	۱۲/۲۵۸
P		۰/۷	۰/۱	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۰۲۵
C.V		۲۰/۸۵	۲۳/۹۰	۱۶/۲۰	۹/۸۱	۹/۸۰	۹/۳

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).

شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

جدول ۹- اثر سطوح مختلف تزریق نانوسیلور، آویشن و مرزه در روز هفدهم جنینی بر پارامترهای استخوان در یک روزگی

تیمار	سطح	کلسیم	فسفر	نانو سیلور	مس
		میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم استخوان		میلی‌گرم بر کیلوگرم استخوان	
شاهد	۱	۶/۵۷	۳/۵۹	۳/۰۸	۰
	۲	۶/۵۵	۳/۸۶	۳/۰۹	۰
نانو سیلور (میلی گرم)	۳۰	۸/۵۷	۴/۱۴	۳/۵۱	۰/۰۹^{b}
	۴۵	۸/۶۱	۴/۱۶	۳/۶۱	۰/۱۲۷^{ab}
	۶۰	۹/۱	۴/۲۱	۳/۷۱	۰/۱۵۳^{a}
آویشن (میلی گرم)	۱۰۰	۷/۹۶	۳/۹۴	۳/۲۴	۰
	۱۵۰	۷/۴۴	۴/۱۱	۳/۲۳	۰
	۱۷۵	۷/۵۶	۴/۰۲	۳/۳۴	۰
مرزه (میلی گرم)	۱۰۰	۷/۶۸	۳/۹۴	۳/۱۹	۰
	۱۵۰	۷/۱۵	۳/۹۸	۳/۲۴	۰
	۱۷۵	۷/۵۸	۳/۸۹	۳/۲۹	۰
SEM		۰/۵۷۷	۰/۲۳۰	۰/۱۶۵	۰/۰۱۳
P		۰/۰۸	۰/۸	۰/۱۹	<۰/۰۰۰۱
C.V		۱۲/۹	۹/۹۹	۸/۶۱	۶۵/۶۷

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۰۵).
وجود داده صفر در مس اسخوان نشان دهنده این است مقدار درحدی نبوده است که با دستگاه خوانده شود.
شاهد ۱و ۲ به ترتیب بدون تزریق و سرم فیزیولوژی بودند.

این محققین گزارش کرده‌اند که تزریق ۱۵ میلی گرم نانوسیلور تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای استخوان نداشت. دلیل احتمالی برای عدم تأثیر تزریق نانوسیلور بر معدنی شدن استخوان، تزریق دیرهنگام این ماده بوده است چرا که گزارش شده است که لایه دیافیز استخوان که اصلی ترین لایه محسوب می‌شود، در روزهای اولیه جنینی شکل می‌گیرد و تزریق در روز ۱۷ جنینی زمانی است که استخوان‌های جنین شکل گرفته‌اند و نتوانسته است در فرایند تشکیل استخوان نقش خود را ایفا کند. دلیل احتمالی برای عدم تأثیر تزریق نانوسیلور بر معدنی شدن استخوان، تزریق دیرهنگام این ماده بوده است چرا که گزارش شده است که لایه دیافیز استخوان که اصلی ترین لایه محسوب می‌شود، در روزهای اولیه جنینی شکل می‌گیرد (۱۲) و تزریق در روز ۱۷ جنینی زمانی است که استخوان‌های جنین شکل گرفته‌اند و نتوانسته است در فرایند تشکیل استخوان نقش خود را ایفا کند.

نتایج نهایی این آزمایش نشان داد که زمان تزریق می تواند یکی از پارامترهای مهم در پاسخ جنین به مواد تزریق شده باشد. همچنین نانو سیلور می تواند بر معدنی شدن استخوان اثرات مثبتی داشته باشد و موادی که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی هستند مانند آویشن و مرزه می‌توانند در اواخر دوره جنینی اثرات مثبتی بر رشد جنین داشته باشند.

منابع

1- Ahmadi, F., and A. H. Kurdestany. 2010. The impact of silver nano particles on growth performance, lymphoid organs and oxidative stress indicators in broiler chicks. Global Vet. 5 (6): 366-370.
2- Amitav, B., S. Majumdar, S. K. Bhanja, A. B. Mandal, B. B. Dash, and S. K. Agarval. 2006. Effect of in ovo injection of glucose on growth, immune competence and development of digestive organs in turkey poults. 16th European symposium on poultry nutrition.
3- Bhanja, S. K., A. B. Mandal, and T. K. Goswami. 2004. Effect of in ovo injection of amino acids on growth, immune response, development of digestive organs and carcass yields of broilers. Indian Poult Sci. 39: 212-218.
4- Cook, N. C., and S. Samman. 1999. Flavonoids-Chemistry Metabolism, cardio protective effects and dietary sources. J Nutr Biochem.7: 66-76.
5- Ebrahimnezhad, Y. M., H. Salmanzadeh, 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 Bio Res. 2 (3): 347-351.
6- Ferket, P., and Z. Uni. 2004. Methods for early nutrition and their potential. World Poult Sci J. 60: 101-114.
7- Foy, O. T., Z. Uni, and P. R. Fekret. 2006. Effect of in ovo feeding egg white protein, β-Hydroxy- β-Methyl

butyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. Poult Sci. 85: 1185–1192.

8- Geyra, A., Z. Uni, and D. Sklan. 2001. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. Br Poult Sci. 86: 53–61.

9- Gore, A. B., and M. A. Qureshi. 1997. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. Poult Sci. 76: 984-991.

10- Gralak, M. A., A. W. Piastowska, H. Leontowicz, M. Leontowicz, A. Antczak, G. Kulasek, T. Szara, and T. Narojek. 2004. Effect of dietary protein level and sources on bone mineralization and structure in rats. Biofactors. 22: 25-28.

11- Grodzik, M., and E. Sawosz. 2006. The influence of silver nano particles on chicken embryo development and bursa of Fabricius morphology, J. Anim. Feed. Sci., 15(Suppl. 1): 111-114.

12- Hamburger, V., and H. L. Hamilton. 1951. Series of normal stage in the development of the chick embryo. J Morphol. 88: 49-92.

13- Jukic, M., and M. Molis. 2005. Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oil (thymus valgarae L). Croatica Chemi Acta Ccacaa. 78(1): 105-110.

14- Kim, Y. S., J. S. Kim, H. S. Cho, D. S. Rha, J. M. Kim, J. D. Park, B. S. Choi, R. Lim, H. K. Chang, Y. H. Chung, I. H. Kwon, J. Jeong, B. S. Han, and I. J. Yu. 2008. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. Inhal Toxicol. 20: 575-583.

15- Leeson, T., and C. Leeson. 1963. The chorioallantoic of the chick. Light and electron microscopic observations at various times of incubation. J Anat. 97: 585-559.

16- Libby, P., and M. Aikawa. 2002. Vitamin C, collagen, and cracks in the plaque. Circulation. 105: 1396-1398.

17- Liu, X. Y. 1999. Stress and immunity. In: Poultry Immunology. (Ed. T. B. Yin). China Agriculture Press, Beijing, China. 24: 230-252.

18- Nasir, Z., and M. A. Grashorn. 2009. Echinacea. A potential feed and water additive in poultry and swine production. Arch Geffu. 73: 227-236.

19- Noy, Y., and D. Sklan. 1999. Different types of early feeding and performance in chicks and poults. J Appl Poult Res. 8: 16–24.

20- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT User's Guide: Version9. 8th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

21- Sikorska, J., M. Szmidt, E. Sawosz, T. Niemiec, M. Grodzik, and A. Chwalibog. 2010. Can silver nanoparticles affect the mineral content, structure and mechanical properties of chicken embryo bones? J Anim Feed Sci. 19: 286–291.

22- Studnicka, A., E. Sawosz, M. Grodzik, A. Chwalibog, and M. Balcerak. 2009. Influence of nanoparticles of silver/palladium alloy on chicken embryos' development. Anim Sci. 46: 237-242.

23- Surai, P. F., R. C. Noble, and B. K. Speake. 1999. Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched. Poult Sci. 76: 587-593.

24- Uni, Z., and R. P. Ferket. 2004. Method for early nutrition and potential. World Poult Sci J. 60: 101-111.

25- Uni, Z., P. R. Ferket, E. Tako, and O. Kedar. 2005. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. Poult Sci. 84: 764–770.

26- Zhang, H., B. Kong, Y. Xiong, and X. Sun. 2009. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4^{o}C. J Meat Sci. 81: 686-692.