اثرات تغذیه درون تخم‌مرغ گلوتامین بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده کوچک و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

- **محسن توسلی***: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین _ پیشوا
- **سید ناصر موسوی**: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین _ پیشوا
- **محمد رضا عابدینی**: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین _ پیشوا

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۰

چکیده

در روز شانزدهم جوجه‌کشی، ۶۰۰ عدد تخم‌مرغ بارور مرغ مادر گوشتی راس ۳۰۸ انتخاب و پس از توزین، در قالب یک طرح بلوک کاملا تصادفی به ۵ گروه آزمایشی با ٤ تکرار و هر تکرار شامل ۳۰ عدد تخم مرغ اختصاص داده شدند. گروه‌های آزمایشی شامل ۱) بدون تزریق (شاهد)، ۲) تزریق محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد، ۳) تزریق محلول ۰/۵ درصد گلوتامین، ٤) تزریق محلول یک درصد گلوتامین در محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم و ۵) گروه تغذیه شده با یک درصد مکمل جیره‌ای گلوتامین در دوره پرورش بودند. در روز هجدهم جوجه‌کشی، یک میلی‌لیتر از محلول‌های مورد آزمایش به مایع آمنیوتیک هر یک از تخم مرغ‌ها تزریق شد و با گروه شاهد و گروه دریافت کننده یک درصد گلوتامین جیره‌ای، مشابه گروه‌های دیگر عمل شد. پس از تفریخ، جوجه‌ها توزین شده و به سالن آزمایش منتقل شدند و تا ٤۲ روزگی پرورش داده شدند. در روز سوم پرورش، به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده کوچک، از ژژنوم جوجه‌های گوشتی نمونه‌برداری انجام شد. در روز ۲۱ و ۲۸ پرورش، جهت تعیین تیتر آنتی بادی ضد (SRBC) Sheep Red Blood Cells خونگیری بعمل آمد. تزریق محلول ۰/۵ درصد گلوتامین در مقایسه با گروه شاهد بدون تزریق، باعث بهبود افزایش وزن بدن جوجه‌ها هنگام تفریخ گردید ($P<0/05$)، تزریق هر یک از محلول‌ها تاثیر معنی‌داری بر درصد جوجه‌درآوری نداشت. تزریق گلوتامین در تخم‌مرغ‌های مادر گوشتی مانند افزودن گلوتامین به جیره، بر صفات عملکردی دوره پرورش، ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده کوچک و پاسخ ایمنی ضد SRBC تاثیر معنی‌داری نداشت.

کلمات کلیدی: تزریق درون تخم‌مرغ، گلوتامین، جوجه‌های گوشتی، ریخت‌شناسی روده، ایمنی

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول : mohsen_ta4752@yahoo.com

مقدمه

در حال حاضر دوره ۲۱ روزه جوجه‌کشی تقریباً ۳۳ درصد از کل دوره زندگی یک جوجه گوشتی (دوره ۴۲ روزه) را تشکیل می‌دهد در صورتی که ۳۰ سال قبل این مقدار ۲۰ درصد بود. لذا، هر عاملی که بتواند رشد و نمو جنین را طی دوره جوجه‌کشی تحریک یا تضعیف نماید، می‌تواند تأثیر چشمگیری بر عملکرد و سیستم ایمنی پرنده در دوره پرورش داشته باشد. جوجه‌ها در هنگام خروج از تخم دارای یک دستگاه گواش نابالغ هستند (۱۵). طی ۷۲ ساعت اول بعد از تفریخ، دستگاه گوارش جوجه‌ها از لحاظ ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و سلولی به سرعت رشد و نمو می‌یابد (۳۱، ۳۲ و ۳۳)، با این وجود جوجه‌ها در سنین اولیه زندگی دارای یک سیستم هضم و جذب ناکارآمد بوده و ظرفیت پایین روده در هضم و جذب ممکن است باعث محدود شدن قابلیت استفاده از مواد مغذی و در نتیجه تأخیر در رشد و کاهش مقاومت در مقابل بیماری‌های مختلف شود (۱۳، ۱۴ و ۱۹).

گلوتامین بعنوان فراوان‌ترین اسید آمینه خون، در حدود ۳۰ تا ۳۵ درصد ازت اسید آمینه‌ای خون و مخزن اسیدهای آمینه آزاد در بدن را تشکیل می‌دهد (۲۳) و پیش‌ساز مهم برای سنتز اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، قندهای آمینه، پروتئین‌ها، گلوکز، گلوتاتیون و سایر درشت مولکول‌های مهم بیولوژیکی می‌باشد (۲۹). گلوتامین بعنوان سوخت متابولیکی اصلی برای سلول‌های روده کوچک، لمفوسیت‌ها، ماکروفاژها و فیبروبلاست‌ها (۲ و ۵) نیز بوده و در بعضی گونه‌ها تحت شرایط التهاب مانند عفونت و جراحت به عنوان یک اسید آمینه ضروری محسوب می‌شود (۲۲). مواد مغذی موثر بر سیستم ایمنی همچون گلوتامین قادر به افزایش پاسخ‌های سیستم ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشند و بنابراین ممکن است اثرات منفی آنها را کاهش دهند (۱۶). در شرایط تنش، افزایش نفوذ پذیری روده باعث ورود باکتری‌ها از روده به خون و در نتیجه سبب عفونت می‌شود در حالیکه گلوتامین مانع از افزایش نفوذ پذیری روده و ورود باکتری‌ها به خون می‌شود (۱). اسکلت کربنی گلوتامین بعنوان منبع اصلی سوخت سلول‌های پوششی روده کوچک می‌باشد و سبب توسعه لایه موکوسی شامل افزایش در طول و تراکم پرزها می شود که با افزایش در تعداد سلول‌های پوششی آنها مرتبط است (۳۲). گلوتامین موجب افزایش طول پرزهای روده در جوجه‌های بوقلمون شده است (۳۶).

در شرایط عملی، اغلب جوجه‌ها از زمان تفریخ تا ۴۸ ساعت بعد به آب و غذا دسترسی ندارند. این مدت شامل زمان لازم برای خروج تمام جوجه‌ها از تخم (۳۶-۲۴ ساعت)، عملیات جوجه‌کشی و نگهداری در جوجه‌کشی و انتقال از جوجه‌کشی تا مزرعه می‌شود. تأخیر در دسترسی به خوراک بعد از تفریخ همچنین می‌تواند باعث کاهش رشد در سنین اولیه و وزن نهایی بدن و نسبت ماهیچه سینه شود (۳۴). در روزهای شانزدهم یا هفدهم جنینی مایع آمنیوتیک از طریق دهان توسط جنین مورد استفاده قرار می‌گیرد بطوریکه با ورود مواد مغذی به روده قابلیت عملکردی روده می‌تواند توسعه یابد. بنابراین تزریق مواد مغذی به داخل آمنیون پیش از تفریخ جوجه تقریباً مانند تغذیه یک جیره خارجی قبل از تفریخ عمل می‌نماید بطوریکه مواد مغذی تزریق شده در بافت‌های روده مورد هضم و جذب قرار می‌گیرند (۹). امروزه حدود ۹۵ درصد تخم‌مرغ‌های قابل جوجه‌کشی در آمریکای شمالی به روش تزریق درون تخم‌مرغ واکسینه می‌شوند (۳۷). از این رو با توسعه و گسترش روش تزریق مواد مغذی به درون تخم‌مرغ امکان استفاده از این روش در عمل وجود دارد (۳۴).

هدف از این تحقیق، در اختیار قرار دادن اسید آمینه گلوتامین برای جنین از طریق تغذیه درون تخم‌مرغ (*In ovo* Feeding) و بررسی تاثیر آن بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده کوچک و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی و همچنین توسعه استفاده از روش تزریق مواد مغذی به داخل تخم‌مرغ می‌باشد.

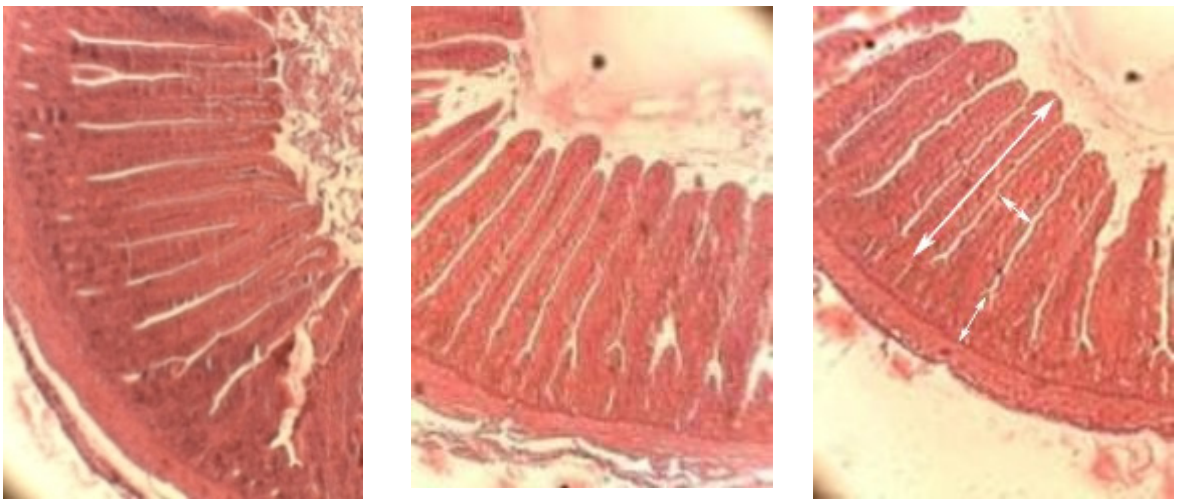
مواد و روشها

در روز شانزدهم جوجه‌کشی، ۶۰۰ عدد تخم‌مرغ بارور با میانگین وزنی ۵۴ گرم از گله مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۳۳ هفتگی انتخاب و به واحدهای آزمایشی اختصاص داده شدند. برای توزیع یکنواخت تخم‌مرغ‌ها به واحدهای آزمایشی، تخم‌مرغ‌ها به گروه‌های وزنی ۵۲-۵۱، ۵۳-۵۲/۱، ۵۴-۵۳/۱، ۵۵-۵۴/۱، ۵۶-۵۵/۱، ۵۷-۵۶/۱ و ۵۸-۵۷/۱ گرم تقسیم شدند و سپس از هر گروه وزنی به نسبت مساوی، تخم‌مرغ‌ها به هر گروه آزمایشی اختصاص یافتند. هر یک از گروه‌های آزمایشی شامل چهار تکرار و هر تکرار نیز شامل یک شانه تخم‌مرغ ۳۰ عددی بودند. شانه‌ها پس از شماره‌گذاری در داخل راک‌های جوجه‌کشی چیده شدند. ارتفاع طبقات راک‌های جوجه‌کشی بعنوان بلوک در نظر گرفته شد. قبل از عمل تزریق قرعه‌کشی

جهت اختصاص تصادفی تیمارها به واحدهای آزمایشی صورت گرفت و محلول تزریقی مربوط به هر یک از واحدهای آزمایشی مشخص گردید. گروه‌های تیماری شامل ۱) بدون تزریق (شاهد)، ۲) تزریق محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد (شاهد مثبت)، ۳) تزریق محلول ۰/۵ درصد گلوتامین در محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم، ۴) تزریق محلول یک درصد گلوتامین در محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم و ۵) تغذیه یک درصد مکمل جیره‌ای گلوتامین در دوره پرورش بودند. در روز هجدهم جوجه‌کشی، ابتدا محل مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس یک میلی‌لیتر از محلول‌های مورد نظر توسط سرنگ با سوزن شماره ۲۲ به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق شدند. پس از تزریق، محل حفره ایجاد شده با الکل ضد عفونی و توسط چسب مایع مسدود شد. سپس تخم‌مرغ‌ها به آرامی به داخل توری‌های پارچه‌ای مطابق شماره واحد آزمایشی منتقل و سپس به داخل سینی‌های هچر انتقال داده شدند. در روز تفریخ، جوجه‌های هر واحد آزمایشی پس از شمارش و توزین سریعاً به سالن آزمایش منتقل شدند. پس از انتقال به سالن، جوجه‌های هر تکرار توزین شده و به واحدهای مربوطه اختصاص یافتند. تیمارها و تکرارهای مورد استفاده در این بخش از آزمایش مطابق طراحی صورت گرفته در جوجه‌کشی بود. نحوه پرورش جوجه‌ها براساس برنامه ارائه شده در راهنمای پرورشی سویه راس بود. دان و آب بطور آزاد در اختیار همه گروه‌ها قرار گرفت. برای تنظیم جیره‌ها از اطلاعات ترکیبات مواد خوراکی جداول NRC (۱۹۹۴) استفاده شد. جیره‌های غذایی در سه دوره ۱۰-۰، ۲۴-۱۱ و ۴۲-۲۵ روزگی براساس مواد مغذی مورد نیاز توصیه شده در راهنمای راس ۲۰۰۷ تنظیم شدند. جیره‌های مورد استفاده براساس ذرت و سویا بودند و برای تمام تیمارها مشابه و در گروه آزمایشی بدون تزریق جهت تغذیه مکمل گلوتامین، یک درصد گلوتامین به جیره افزوده شد. صفات مورد اندازه‌گیری در آزمایش شامل: صفات عملکردی (افزایش وزن، مصرف دان، ضریب تبدیل غذایی)، صفات لاشه، ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده و پاسخ ایمنی جوجه‌ها بود. از صفات عملکردی در انتهای دوره‌های ۱۰-۰، ۲۴-۱۱، ۴۲-۲۵ روزگی داده برداری صورت گرفت. برای مطالعه صفات لاشه در سن ۴۲ روزگی، دو عدد جوجه که وزن آنها به میانگین نزدیکتر بود انتخاب، توزین و بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، ذبح و پرکنی شدند و پس از انجام کشتار وزن لاشه، سینه، ران، روده، چربی بطنی، پانکراس، طحال و بورس اندازه‌گیری شد و درصد آنها نسبت به وزن زنده محاسبه شدند (۸).

در روز سوم پرورش جهت نمونه‌برداری از روده، ۲ عدد جوجه با وزن نزدیک به میانگین هر واحد آزمایشی انتخاب و پس از ذبح، حدود ۲ سانتیمتر از بخش میانی ژژنوم (فاصله بین ورودی مجرای صفرا به روده و زائده مکل) جدا و در بافر فرمالین ۴ درصد برای تثبیت قرار داده شدند (۳۳) و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده، ابتدا مراحل آماده سازی نمونه‌ها انجام شد. سپس به منظور قالب‌گیری نمونه‌ها مقداری پارافین مایع کف قالب ریخته و پس از آنکه پارافین منجمد شد قطعه نمونه را روی آن قرار داده و بقیه پارافین روی آن ریخته شد پس از اندکی پارافین منجمد و قطعه مورد نظر داخل آن جای گرفت. پس از قالب‌گیری برش‌های متوالی به ضخامت پنج میکرون از ژژنوم با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل لایکا ۲۰ (Leica 20) تهیه و روی صفحات شیشه‌ای قرار گرفتند. نمونه‌ها توسط محلول زایلان، پارافین زدایی و در محلولهای درجه بندی شده الکل، آبگیری شدند. سپس نمونه‌ها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و با استفاده از میکروسکوپ نوری لایکا (Leica system, GmbH. Weizlar, Germany) و برنامه نرم افزاری لایکا کوین ۵۵۰ (Leica Qween 550) مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی‌ها شامل ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت‌ها بود. اعداد مربوط به هر پرز از میانگین اعداد پنج پرز مجاور بدست آمد.

به منظور ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی دو عدد جوجه از هر تکرار بطور تصادفی انتخاب و علامت‌گذاری شده و در روزهای ۱۴ و ۲۱ پرورش ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون نمکی ۰/۱ درصد SRBC بصورت داخل رگی تزریق شد. در روزهای ۲۱ و ۲۸ از جوجه‌ها خونگیری بعمل آمده و غلظت آنتی‌بادی‌های سرم بر ضد SRBC با استفاده از روش هماگلوتیناسیون اندازه‌گیری گردید (۷). در این روش از نمونه‌های سرم خون در میکروپلیت‌های ۹۶ تایی به میزان ۵۰ میکرولیتر همراه با مقدار برابر بافر نمکی فسفات Phosphate Buffered Saline (PBS) ریخته شد و با ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون SRBC دو درصد مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس شماره حفره‌هایی از میکروپلیت که در آنها اگلوتیناسیون قابل مشاهده نبود بصورت log2 گزارش گردید. داده‌های ثبت شده در این آزمایش با استفاده از رویه Generalized linear model (GLM) بسته نرم افزاری SAS تجزیه و تحلیل آماری شد (۲۸). مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.



(الف) (ب) (ج)

شکل ۱: ژژنوم روده کوچک (شامل طول و عرض پرز و عمق کریپت) بترتیب الف) تیمار شاهد، ب) تزریق ۰/۵ و ج) یک درصد گلوتامین

نتایج

میانگین درصد جوجه‌آوری و وزن بدن هنگام تفریخ در تیمارهای مورد آزمایش و همچنین مقایسه آماری تیمارها در جدول ۱ آمده است.

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که درصد جوجه‌درآوری در تیمارهای مورد آزمایش دارای اختلاف معنی‌داری نبود اما وزن بدن هنگام تفریخ در تیمار ۰/۵ درصد گلوتامین بیشتر و نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

میانگین مصرف خوراک در پایان دوره آغازین، رشد، پایانی و کل دوره و همچنین مقایسه آماری مربوطه در ارائه شده است.

مقدار خوراک مصرفی در تیمار تزریق یک درصد گلوتامین نسبت به تیمار ۰/۵ درصد گلوتامین در دوره آغازین بیشتر و دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در دوره رشد، پایانی و کل دوره اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد.

وزن بدن جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین، رشد، پایانی و کل دوره و همچنین مقایسه آماری تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۱: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار بر میزان جوجه‌درآوری و وزن بدن جوجه‌های تفریخ شده

تیمار	جوجه درآوری (درصد)	وزن بدن هنگام تفریخ (گرم)
شاهد	۹۳/۳	٤۲/۰۷^{b}
سرم	۹٤/۱۲	٤۲/۵۲^{ab}
۰/۵ درصد گلوتامین	۹۱/٦۵	٤۲/۷^{a}
۱ درصد گلوتامین	۹۳/۳۲	٤۲/۵^{ab}
SEM	۱/۰۳	۰/۱۱

a,b میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۲: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر میانگین مصرف خوراک در دوره‌های مختلف پرورش (گرم)

تیمار	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره
شاهد	۲۲٦^{ab}	۹٤۷/۳۰	۲۳۷۲/۵۰	۳۵٤۵/۸۰
سرم	۲۲٤/۷۰^{ab}	۹٦٤/۱۰	۲۳۷٦/۱۰	۳۵٦۵
۰/۵ درصد گلوتامین	۲۲۲/۵۰^{b}	۹۸۹/۲۰	۲٤۳۸/۲۰	۳٦٤۹/۹۰
۱ درصد گلوتامین	۲۳۷/۵۰^{a}	۱۰۲۷/۱۰	۲۲۹۵/٤۰	۳۵٦۰/۱۰
گلوتامین یک درصد (جیره)	۲۲۸/۵۰^{ab}	۱۰۳۸/۷۰	۲٤۰۰/۷۰	۳٦٦۷/۹۰
SEM	٤/۲۱	۲۹/۹٦	۷۱/۷۷	۸۳/٤۹

a,b میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

جدول۳: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر میانگین وزن بدن جوجه‌های گوشتی (گرم)

تیمار	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره
شاهد	۱۹۸/۵۷	۷٤۸/۵^{ab}	۱۹۸۰/۵۰	۱۹۸۰/۵۰
سرم	۱۹۸/٤۰	۷٤۷/٦۸^{ab}	۱۹۳۳/۵۰	۱۹۳۳/۵۰
۰/۵ درصد گلوتامین	۱۹۱/۵۲	٦۸۰/٦۵^{b}	۱۹۱۸/۵۰	۱۹۱۸/۵۰
۱ درصد گلوتامین	۲۰٤/۹۰	۷٦۳/۱۸^{a}	۱۹۳۵/۷۵	۱۹۳۵/۷۵
گلوتامین یک درصد (جیره)	۲۰۵/٦۰	۷۹۸/٦۵^{a}	۱۹۸٦/۵۰	۱۹۸٦/۵۰
SEM	٤/٤۲	۲۲/۱۳	۳۸/۹۳	۳۸/۹۳

a,b میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

نتایج نشان دادند که در دوره رشد، وزن بدن در تیمار یک درصد گلوتامین (جیره) و تزریق یک درصد گلوتامین بیشتر اما تنها با تیمار ۰/۵ درصد گلوتامین دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در دوره‌های آغازین، پایانی و کل دوره اگرچه وزن بدن در تیمار یک درصد گلوتامین (جیره) بیشتر بود اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. در طول دوره رشد و کل دوره، میانگین ضریب تبدیل غذایی گروه ۰/۵ درصد بیشتر از شاهد شد (P<۰/۰۵).

نتایج بدست آمده در جدول ۵ نشان می‌دهد که درصد سینه در تیمار ۰/۵ درصد گلوتامین در مقایسه با سایر تیمارها بطور معنی‌داری کمتر بود. میانگین درصد بورس فابرسیوس در گروه‌های گلوتامین بیشتر بود اگرچه تفاوت معنی‌دار نبود. در ویژگی‌های دیگر لاشه شامل: درصد لاشه، ران، روده، چربی حفره شکمی، پانکراس و طحال بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اثرات تزریق و تغذیه گلوتامین بر ریخت‌شناسی روده کوچک، شامل طول و عرض پرزها و عمق کریپت‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۶).

براساس نتایج مربوط به تیتر آنتی بادی ضد SRBC در ۲۱ و ۲۸ روزگی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۷).

جدول ٤: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر میانگین ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش

تیمار	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره
شاهد	۱/٤۸	۱/٥۸^{b}	۲/۰٦	۱/۸٦^{b}
سرم	۱/٤۸	۱/٦۱^{b}	۲/۱۲	۱/۹۰^{ab}
۰/٥ درصد گلوتامین	۱/٥۳	۱/۸٦^{a}	۲/۱٤	۲/۰۰^{a}
۱ درصد گلوتامین	۱/٥۰	۱/٦۸^{ab}	۲/۱۰	۱/۹۱^{ab}
گلوتامین یک درصد (جیره)	۱/٤٤	۱/٦۳^{b}	۲/۲۰	۱/۹۳^{ab}
SEM	۰/۰٦۰	۰/۰٦۹	۰/۰٦۱	۰/۰٤۱

a,b میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰٥).

جدول ٥: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر ویژگی‌های لاشه در ٤۲ روزگی (درصد از وزن زنده)

تیمار	لاشه	سینه	ران	روده	چربی بطنی	پانکراس (درصدی از ۱۰۰ گرم وزن زنده)	طحال (درصدی از ۱۰۰ گرم وزن زنده)	بورس فابریسیوس (درصدی از ۱۰۰ گرم وزن زنده)
شاهد	٦۸/٦٥	۲۱/۸۲^{a}	۲۰/۲٦	۲/٥٥	۱/۱۹	۲۰/٦۲	۷/۸٤	۷/٤۲
سرم	٦۸/۷۲	۲۳/۳۱^{a}	۲۰/۰۷	۲/۲۸	۱/۳۲	۲۱/۰۸	۷/۷٥	۷/۹۹
۰/٥ درصد گلوتامین	٦۸/۲۲	۲۰/۰۲^{b}	۱۹/۷٤	۲/۳۳	۱/٤۳	۲۱/٥٤	۸/٥٦	۱۰/٤٥
۱ درصد گلوتامین	٦۷/۷٤	۲۱/۹۹^{a}	۲۰/۱۲	۲/۳۰	۱/۱۷	۲۰/٦۰	۸/۲۱	۹/۲۰
گلوتامین یک درصد(جیره)	٦۹/۲۸	۲۲/۹۳^{a}	۲۰/۱٦	۲/٥۹	۱/۲۱	۲۰/۰۰	۷/۸٦	۱۰/۱۳
SEM	۱/۱۰۳	۰/٥٤۰	۰/٤٦٥	۰/۱۲۸	۰/۱۱۳	۱/۱۸۹	۰/۸٤٦	۱/۳۷

a,b میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰٥).

جدول ٦: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده کوچک در جوجه‌های گوشتی

تیمار	طول پرز (میکرون)	عرض پرز (میکرون)	عمق کریپت (میکرون)
شاهد	٤۸۰/۷٥	۹٦/۹۳	۱۰۳/٥۰
سرم	٤٤٥/۰٥	۸۹/۲۳	۹٥/٥۳
۰/٥ درصد گلوتامین	٤۸٦/۰۳	۹٤/۱۳	۹۹/۲۳
۱ درصد گلوتامین	٤٤٤/۳٥	۱۰۳/٥۳	۱۰۷/۷۸
گلوتامین یک درصد (جیره)	٤٤٦/۸۰	۱۰۱/۰۸	۱۰۳/٦۰
SEM	۳۷/۲۷	۱۰/٥۹	۱۳/۷۷

جدول ۷: اثرات تزریق گلوتامین در تخم‌های نطفه‌دار و افزودن آن به جیره بر میانگین تیتر آنتی‌بادی ضد SRBC در جوجه‌های گوشتی

تیمار	۲۱ روزگی	۲۸ روزگی
شاهد	۲/۳۷	٦/۱۲
سرم	۲/۱۲	۵/۳۷
۰/۵ درصد گلوتامین	۱/۸۷	٤/۸۷
۱ درصد گلوتامین	۲/۵۰	۵/۵۰
گلوتامین یک درصد (جیره)	۲/۱۲	۵/۱۲
SEM	۰/۳٦	۰/۵۹

بحث

نتایج این آزمایش نشان داد تزریق گلوتامین به درون تخم‌مرغ‌های جوجه‌کشی بر درصد جوجه‌آوری تأثیری نداشت که با نتایج بدست آمده توسط محققین دیگر مطابقت دارد (۸). در آزمایشی، تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اسیدهای آمینه (مشابه با ترکیب پروتئین تخم‌مرغ) در روز صفر جوجه‌کشی، موجب کاهش جوجه‌آوری شد. اما زمانی که تزریق در روز هفتم در داخل کیسه زرده انجام شد جوجه‌آوری تحت تأثیر قرار نگرفت (۲۴). با این حال آزمایش حاضر از نظر روش و زمان تزریق با آزمایش فوق متفاوت است، زیرا در این آزمایش مواد مستقیماً وارد مایع آمنیوتیک شدند و جنین قبل از تفریخ، مایع آمنیوتیک را از طریق دهانی بلعیده و در نتیجه مواد مغذی که به داخل مایع آمنیوتیک تزریق شده بود در روده مورد هضم و جذب قرار گرفت. همچنین زمان تزریق در این آزمایش در روز هجدهم جوجه‌کشی بود. زمان تزریق ممکن است نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار دهد (۱۲). در آزمایش دیگری، تزریق گلوکز به داخل مایع آمنیوتیک موجب کاهش درصد جوجه‌آوری شد، که براساس نظر این محققین، بالا بودن فشار اسمزی محلول تزریقی باعث کاهش درصد جوجه‌آوری شده است (۲۵). به نظر می‌رسد با بکارگیری یک مرحله پیش آزمایش در این تحقیق و تعیین بهترین غلظت گلوتامین جهت تزریق، عملاً تاثیر منفی فشار اسمزی محلول سطوح بالای گلوتامین مشاهده نشد. در این آزمایش وزن جوجه‌ها هنگام تفریخ در تیمار تزریق ۰/۵ درصد گلوتامین در مقایسه با تیمار شاهد بیشتر و دارای اختلاف معنی‌دار بود. در آزمایشی تزریق مالتوز، مولتی ویتامین، روی-گلایسین، گلوتامین و مخلوطی از همه این مواد تأثیری بر وزن جوجه‌های تفریخ شده نداشت (۸). از سوی دیگر تزریق کربوهیدرات، کربوهیدرات و پروتئین‌ها، هیدروکسی متیل بوتیرات یا مخلوطی از همه این مواد باعث افزایش وزن تفریخ و افزایش وزن در دوره پرورش شد (۳۰)، این محققین افزایش رشد روده و بیان آنزیم مالتاز را علت این افزایش وزن بیان کردند. علاوه بر این، این مواد وضعیت انرژی پرنده را بهبود بخشیده و باعث افزایش رشد و متابولیسم می‌شود. در این آزمایش تأثیر تزریق گلوتامین بر وزن بدن در دوره پرورش معنی‌دار نبود، اما وزن بدن در گروه آزمایشی بدون تزریق که در دوره پرورش با جیره حاوی یک درصد مکمل گلوتامین تغذیه شده بود در دوره آغازین، رشد و پایانی بیشتر بود اما تنها در دوره رشد و در مقایسه با تیمار تزریق ۰/۵ درصد گلوتامین معنی‌دار بود. در تحقیقی، استفاده از جیره حاوی یک درصد مکمل گلوتامین باعث افزایش وزن بدن در جوجه‌های گوشتی شد (بطور میانگین ۱۱درصد) (۳). همچنین این محققین کاهش وزن در گروهی که جیره حاوی ۴ درصد گلوتامین را مصرف کرده بود گزارش کردند و چنین نتیجه‌گیری کردند که افزایش در طول پرزهای روده جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی یک درصد مکمل گلوتامین باعث افزایش سطح جذب در روده و در نتیجه افزایش جذب و استفاده مواد مغذی و در نهایت افزایش وزن در این گروه و عدم تعادل اسیدهای آمینه در گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۴ درصد مکمل گلوتامین باعث کاهش وزن در این گروه شده است. در این آزمایش نیز بیشترین وزن بدن در گروه یک درصد مکمل گلوتامین در جیره (در دوره آغازین، رشد، پایانی و کل دوره) مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی‌دار نبود. در آزمایش دیگری، تزریق گلوکز در روز شانزدهم جوجه‌کشی

تأثیری بر وزن بدن جوجه‌های حاصله در روز صفر تا دهم پرورش نداشت (۱۷). همچنین گزارش شده است تزریق گلوتامین در روز شانزدهم جوجه‌کشی اثر معنی‌دار بر افزایش وزن جوجه‌ها در ۱۰ تا ۲۱ روزگی نداشت (۲۰) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. تزریق گلوتامین در این آزمایش تأثیری بر مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد نداشت که با نتایج بدست آمده توسط محققین دیگر مطابقت دارد (۸ و ۲۵). در بین داده‌های خوراک مصرفی بیشترین مصرف خوراک در گروه بدون تزریق که تا پایان دوره رشد با جیره حاوی یک درصد مکمل گلوتامین تغذیه شده بودند مشاهده شد. در آزمایشی مشاهده شد، یک افزایش خطی در خوراک مصرفی جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد و یک درصد مکمل گلوتامین در شرایط استرس گرمایی وجود دارد (۶). این محققین حفظ عملکرد روده و افزایش توانایی هضم را بعنوان دلیل این افزایش در مصرف خوراک بیان کردند. در آزمایش حاضر تزریق گلوتامین به درون تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار تأثیری بر اجزاء لاشه نداشت. درصد وزن سینه در تیمار ۰/۵ درصد گلوتامین در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی داری کمتر بود. در آزمایشی، تزریق گلوتامین و دیگر محلول‌های حاوی مواد مغذی اثری بر مشخصات لاشه نداشت (۸). از سوی دیگر گزارش شده است که تزریق محلول پروتئینی در روز بیست و سوم جوجه کشی باعث افزایش درصد وزن سینه نیمچه‌های بوقلمون در مقایسه با گروه شاهد در زمان تفریخ گردید (۱۰). محققین دیگری نیز افزایش درصد وزن سینه جوجه‌های گوشتی در زمان تفریخ، ده روزگی و بیست و پنج روزگی را با تزریق کربوهیدرات و هیدروکسی متیل بوتیرات در روز هجدهم جوجه‌کشی را گزارش کردند (۳۵). یکی از دلایل ممکن برای افزایش درصد وزن سینه، تأمین مواد مغذی قبل از تفریخ می‌باشد که باعث کاهش اثرات نامطلوب گرسنگی بین فاصله زمانی تفریخ و نخستین دسترسی به خوراک می‌باشد. مشاهده شده است، جوجه‌های گوشتی که به مدت ۲۴ ساعت پس از هچ گرسنه نگه داشته شدند در مقایسه با گروهی که بلافاصله بعد از تفریخ تغذیه شده بودند، افزایش وزن و درصد وزن سینه کمتری داشتند (۱۱). تأمین مواد مغذی بوسیله تزریق داخل تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار می‌تواند جایگزینی بر اسیدهای آمینه ماهیچه سینه جهت گلوکونئوژنز باشد. گزارش شده است که تزریق گلوتامین و کربوهیدرات در روز بیست و سوم جوجه‌کشی در اردک باعث افزایش وزن سینه به میزان ۲۴ درصد در روز بیست و پنجم جوجه کشی و ۱۵ درصد در زمان تفریخ می‌شود (۴). تزریق گلوتامین در این آزمایش اثر معنی‌داری بر ویژگی ریخت‌شناسی روده کوچک نداشت. برخلاف نتایج این آزمایش، استفاده از یک درصد مکمل جیره‌ای گلوتامین باعث افزایش طول پرزهای روده شد و با افزایش سطح جذب مواد مغذی در نهایت باعث بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی شد (۳). در این آزمایش تزریق گلوتامین بر پاسخ ایمنی ضد SRBC اثر معنی‌داری نداشت. براساس نتایج آزمایشی، استفاده از جیره حاوی ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل ویتامین E همراه با یک درصد مکمل گلوتامین موجب افزایش تولید آنتی بادی ضد SRBC در جوجه‌های گوشتی در روز دهم پرورش شد اما این پاسخ در سی و پنج روزگی مشاهده نشد (۲۷). نتایج آزمایشات صورت گرفته نشان می‌دهد، پاسخ ایمنی جوجه‌ها بطور چشمگیری در طول عمر آنها تغییر می‌کند (۷). پراکنش موجود در نتایج آزمایش‌های گوناگون احتمالا ناشی از بکارگیری جوجه‌ها در سنین مختلف می‌باشد. بعلاوه اگلوتیناسیون گلبولهای قرمز در روش هماگلوتیناسیون برای تعیین تیتر آنتی بادی سرم، تا حدود زیادی متاثر از غلظت و حجم سوسپانسیون SRBC تزریق شده می‌باشد. در آزمایش دیگری، استفاده یک درصد مکمل جیره‌ای گلوتامین باعث افزایش غلظت IgA در سرم، روده و صفرا و افزایش غلظت IgG در سرم گردید (۳). افزایش در غلظت IgA با افزایش تعداد لمفوسیت‌ها در کیسه صفرا طیور و روده کوچک بوقلمون در ارتباط است و گلوتامین به عنوان سوخت متابولیکی اصلی برای لمفوسیت‌ها می‌باشد (۱۸ و ۲۶). گزارش شده است، استفاده از یک درصد مکمل جیره‌ای گلوتامین موجب افزایش وزن طحال و تیموس در جوجه‌های گوشتی شد (۳) که با نتایج این آزمایش متفاوت است. براساس نتایج این آزمایش، تزریق گلوتامین باعث افزایش وزن جوجه هنگام تفریخ شد اما مانند افزودن گلوتامین به جیره بر صفات عملکردی، ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده کوچک و پاسخ ایمنی ضد SRBC اثری نداشت.

منابع

1-Adjei, A. A., Matsumoto, Y., Oku, T., Hiroi, Y. and Yamamoto, S., 1994. Dietary arginine and glutamine combination improves survival in septic mice. Nut. Res., 14:1591–1599.

2-Andrews, F.J. and Griffiths, R.D., 2002. Glutamine: Essential for immune nutrition in the critically ill. Br. J. Nut. S1. pp.3–8.

3- Bartel, S.M. and Batal, A.B., 2007. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. Poult. Sci., 86:1940-1947.

4-Chen, W., Wang, R., Wan, H.F., Xiong, X.L., Peng, P. and Peng, J., 2009. Influence of *in ovo* injection of glutamine and carbohydrate on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. Br. Poult. Sci., Vol. 50, No. 4, pp.436-442.

5- Cynober, L.A., 1999. Glutamine metabolism in stressed patients (abstract). Int. Congr. Amino Acids (Germany). Springer-Verlag, Vienna, Austria. 5P.

6-Dai, S.F., Wang, L.K., Wen, A.Y., Wang, L.X. and Jin, G.M., 2009. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and color stability of broiler under heat stress. Br. Poult. Sci., Vol. 50, N. 3, pp.333-340.

7-Delhanty, J.J. and Solomon, J.B., 1966. The nature of antibodies to goat erythrocytes in the developing chickens. Immunology, 11:103–113.

8-Dos Santos, T.T., Corzo, A., Kidd, M.T., McDaniel, C.D., Torres Fillho, R.A. and Araujo, L.F., 2010. Influence of in ovo inoculation with various nutrients and egg size on broiler performance . J. Appl. Poult. Res., 19: 1-12.

9- Ferket, P.R., Foye, O., De Oliveira, J., Tako, E. and Uni, Z., 2005. *In ovo* nutrition: Impact on gene expression, gut development, and growth performance. Arkansas Annual Animal Nutrition Conference.

10-Foye, O.T., Uni, Z. and Ferket, P.R., 2006. Effect of *in ovo* feeding egg white protein, β-hydroxy-β-methylbutyrate,and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. Poult. Sci., 85:1185–1192.

11- Halevy, O., Geyra, A., Barak, M., Uni, Z. and Sklan, D., 2000. Early post-hatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. J. Nutr. 130:858–864.

12-Jochemsen, P. and Jeurissen, S.H.M., 2002. The location and uptake of *in ovo* injected soluble and particulate substances in the chicken. Poult. Sci., 81:1811–1817.

13- Kirkwood, J.K., 1983. A limit to metabolizable energy intake in mammals and birds. Comp. Biochem. Physiol. 75A:1–3.

14-Kirkwood, J.K. and Prescott, N.J., 1984. Growth rate and pattern of gut development in mammals and birds. Livest. Prod. Sci., 11:461–474.

15-Klasing, K.C., 1998. Comparative avian nutrition. Ontogeny of Digestive Capacity and Strategy. CAB Int. New York, USA. pp.62-63.

16- Koretz, R. L., 2003. Immunonutrition: Can you be what you eat? Curr. Opin. Gastroenterol., 19: 134–139.

17-Leitão, R.A., 2006. Effect of glucose *in ovo* supplementation at starter performance of broilers. *In*: APINCO's conference of avian science and technology, Santos, Brazilian J Avi. Sci. Camp., 69P.

18-Leslie, G.A., Stankus, R.P. and Martin, L.N. 1976. Secretory immunological system of the fowl. V. The gallbladder: An integral part of the secretory immunological system of the fowl. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 51:175–185.

19-Lilja, C., 1983. A comparative study of postnatal growth and organ development in some species of birds. Growth., 47:317–339.

20-Lopes, K.L., Pedroso, A.A., Leandro, N.S.M., Stringhini, J.H. and Barbosa, C.E., 2006. Glutamine *in ovo* inoculation effect at the starter performance of broilers In: APINCO's conference of avian science and technology, Santos. Braz. J. Avian Sci. Campinas., 8:103P.

21-National Research Council (NRC), 1994. Nutrients requirements of poultry. Ninth revised edition, National Academy Press. Washington DC., USA.

22-Newsholme, P., 2001. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health post-immune, surgery, or infection? J. Nutr., 131:2515–2522.

23-Newsholme, E.A., Crabtree, B. and Ardawi, M.S., 1985. Glutamine metabolism in lymphocytes: Its biochemical, physiological and clinical importance. Q. J. Exp. Physiol., 70:473–489.

24-Ohta, Y., Tsushima, N., Koide, K., Kidd, M. T. and Ishibashi, T., 1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. Poult. Sci., 78: 1493–1498.

25-Pedroso, A.A., Chaves, L.S., Café, M.B., Leandro, N.S.M., Stringhini, J.H. and Menten, J.F.M., 2006. Glutamine as broilers embryos nutrient In: APINCO's conference of avian science and technology, Santos. Braz. J. Avian Sci. Campinas., 8:43P.

26-Piquer, F.J., 1990. Post-hatching changes in the immunoglobulin A concentration in the small intestine of turkeys. MS thesis, Iowa State University, USA.

27- Sakamoto, M.I., Murakami, A.E., Silveira, T. G.V., Fernandes, J.I.M. and de Oliveira, C.A. L., 2006. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. Braz. J. Poult. Sci., 8:243–249.

28-SAS Institute, 2004. SAS/STAT User's Guide. Version 9.1 for Windows. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

29-Souba, W.W., 1993. Intestinal glutamine metabolism and nutrition. J. Nutr. Biochem., 4: 2–9.

30-Tako, E., Ferket, P.R. and Uni, Z., 2004. Effects of *In ovo* feeding of carbohydrates and β-Hydroxy-β-Methylbutyrate on the develop-ment of chicken intestine. Poult. Sci., 83:2023–2028.

31-Uni, Z., Noy, Y. and Sklan, D., 1996. Develop-mental parameters of the small intestine in heavy and light strain chicks, before and after hatching. Br. Poult. Sci., 37:63–71.

32-Uni, Z., Ganot, S. and Sklan, D., 1998. Post-hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. Poult. Sci., 77:75–82.

33-Uni, Z., Noy, Y. and Sklan, D., 1999. Post-hatch development of small intestinal function in the poultry. Poult. Sci., 78:215–222.

34- Uni, Z. and Ferket, P., 2004. Methods for early nutrition and their potential. World's Poult. Sci., 60:101–111.

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

36-Yi, G.F., Allee, G.L., Frank, J.W., Spencer, J.D. and Touchette, K.J., 2001. Impact of glutamine, menhaden fish mea land spray-dried plasma on the growth performance and intestinal morphology of broilers (abstract). Poult. Sci., 80:201P.

37-Zhai, W., Rowe, D.E. and Peebles, E.D., 2011. Effects of commercial *in ovo* injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. Poult. pp.5–1301.