14(2) 213-220, Summer 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Effect of *in ovo* injection of royal jelly on hatchability, immune response and growth performance of broilers

Alireza FazaeliRod, Seyed Mohammad Hosseini *, Mohammad Bagher Montazar Torbati

Department of Animal Science, Campus of Agriculture, Natural Resources and Environment, Birjand University, Birjand, Iran

Key Words
Broiler
Immunoglobulin
Performance
Royal jelly
Total cholesterol

Abstract

Introduction: An experiment was conducted to investigate the effect of in *ovo* injection of royal jelly (RJ) on hatchability, immune response and growth performance in broiler chickens.

Materials & Methods: A total of 400 fertilized broiler eggs from Ross 308 breeder were used in a completely randomized design assigned with 5 experimental treatments. For each treatment, four replicates were considered and 20 eggs were used in each replicate. The solutions containing 60% RJ and 80% RJ were prepared by mixing 600 and 800 mg of royal jelly in 100 mL of sterile water, respectively. The treatments included 1) control (without injection), 2) injection of 0.5 mL sterile water, 3) injection of 0.5 ml of solution containing 60% RJ, 4) injection of 0.5 mL of solution containing 80% RJ, and 5) injection of 0.5 mL pure RJ. The post-hatched chicks were raised for 42 days with a same basal diet.

Results: The results showed that in *ovo* injection of RJ had no adverse effects on hatchability traits but significantly increased average daily gain and improved feed conversion ratio ($P<0.05$). In comparison with the control group, in *ovo* injection of solution containing of 80% and pure RJ significantly increased ($P<0.05$). IgM concentration and antibody titer in response to sheep blood cell (SRBC) injection but significantly reduced total cholesterol and LDL in serum ($P<0.01$). The carcass yield, relative weight of internal organs, serum concentration of triglycerides, HDL, calcium, phosphorus, and total protein were not affected by experimental treatments.

Conclusion: The results of the current research indicated that in *ovo* injection of RJ may decrease serum lipid parameters and enhance immunity without showing an adverse effect on the performance of broiler chicken.

* Corresponding Author's email: shosseini@birjand.ac.ir
Received: 17 March 2021; Reviewed: 14 April 2021; Revised: 8 June 2021; Accepted: 22 June 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.279461.2489

مقاله پژوهشی

اثر تزریق داخل تخم مرغی ژل رویال بر جوجه درآوری، پاسخ ایمنی و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

علیرضا فضایلی‌راد، سیدمحمد حسینی، محمدباقر منتظرتربتی*

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

کلمات کلیدی

ایمونوگلوبولین
جوجه گوشتی
ژل رویال
عملکرد رشد
کلسترول تام

چکیده

مقدمه: این تحقیق به‌منظور بررسی اثر تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال بر جوجه درآوری، پاسخ ایمنی و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ٤۰۰ عدد تخم‌مرغ بارور مرغ مادر سویه گوشتی راس ۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٥ تیمار مورد استفاده قرار گرفت. به هر تیمار ٤ تکرار و به هر تکرار ۲۰ عدد تخم‌مرغ اختصاص داده شد. محلول حاوی ٦۰ درصد ژل رویال و ۸۰ درصد ژل رویال به‌ترتیب با مخلوط ٦۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب استریل تهیه شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) شاهد (بدون تزریق)، ۲) تزریق ۰/٥ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، ۳) تزریق ۰/٥ میلی‌لیتر محلول ٦۰ درصد ژل رویال، ٤) تزریق ۰/٥ میلی‌لیتر محلول ۸۰ درصد ژل رویال و ٥) تزریق ۰/٥ میلی‌لیتر ژل رویال خالص بود. جوجه‌ها پس از تفریخ به‌مدت ٤۲ روز با جیره یکسان پرورش یافتند.

نتایج: نتایج نشان داد تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال اثرمنفی بر صفات جوجه‌درآوری نداشت اما سبب افزایش‌معنی‌دار وزن‌جوجه‌های گوشتی شد و ضریب تبدیل خوراک را بهبود بخشید ($P<0/05$). تزریق محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال و ژل رویال خالص در مقایسه با گروه شاهد، غلظت IgM و تیتر آنتی‌بادی در پاسخ به تزریق گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) را به‌طور معنی‌دار افزایش داد ($P<0/05$) اما سبب کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول تام و LDL سرم خون گردید ($P<0/01$). بازده لاشه، وزن نسبی اندام‌های داخلی، غلظت تری‌گلیسرید، HDL، کلسیم، فسفر و پروتئین تام سرم خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال می‌تواند بدون اثر منفی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، غلظت فراسنجه‌های لیپیدی سرم را کاهش دهد و موجب تقویت سامانه ایمنی گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: shosseini@birjand.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۷ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲٥ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۸ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱ تیر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.279461.2489

مقدمه

در ۵۰ سال اخیر بهبود روند ژنتیکی در جوجه‌های گوشتی موجب افزایش ۸۵ تا ۹۰ درصدی بازدهی تولید شده است. با این وجود انتخاب ژنتیکی برای سرعت رشد و بازدهی مصرف خوراک در طیور منجر به عوارض منفی مانند آسیت، کاهش عملکرد تولیدمثلی، ناهنجاری‌های اسکلتی، سرکوب سامانه ایمنی و متعاقب آن بروز بیماری‌های عفونی شده است (۱). از طرف دیگر پژوهش‌ها نشان داده‌اند سطوح مناسب مواد مغذی خوراک برای رشد، بازدهی خوراک، تولید تخم‌مرغ و عملکرد تولیدمثلی ممکن است برای توسعه سامانه ایمنی و بهینه شدن مقاومت پرنده به بیماری کافی نباشد (۲). امروزه استفاده از محرک‌های سامانه ایمنی به‌عنوان یک راه‌حل مناسب جهت بهبود ایمنی طیور و کاهش حساسیت به بیماری‌های عفونی مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به نگرانی‌ها در خصوص اثرات منفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور به‌دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی در تولیدات و تاثیرات مضر بر سلامتی انسان، مطالعات بر روی محصولات جایگزین که قادر به تحریک رشد، تقویت سامانه ایمنی و بهبود سلامت دستگاه گوارش پرنده باشد، گسترش یافته است (۳). ژل رویال یکی از فرآورده‌های مهم زنبور عسل است که در تغذیه لاروها و ملکه مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب یک مکمل غذایی ارزشمند برای انسان است و حاوی مقدار قابل توجهی از گاماگلوبولین‌ها، اسیدهای آمینه، هورمون‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، آنزیم‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها (مانند ویتامین E و C) است که موجب تقویت سامانه ایمنی می‌گردد (۴). در مقایسه با سایر محصولات زنبور، ژل رویال دارای قوی‌ترین فعالیت ضدباکتریایی نیز می‌باشد. علاوه بر این گزارش شده است که ژل رویال به‌طور قابل توجهی دارای خاصیت ضدویروسی و ضدقارچی است که این خاصیت بیش‌تر به دلیل وجود ترکیب توسط ۱۰-۳- دی هیدروکسی دکانوئیک اسید (10-DHA) می‌باشد (۵). ژل رویال جمع‌آوری شده پس از ۲۴ ساعت از انتقال لاروها دارای قوی‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که در مطالعات گسترده‌ای بر روی مخمرها و گیاهان و در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شده است (۶). جلوگیری از پراکسیداسیون همراه با محافظت از DNA در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو یکی دیگر از اثرات زیستی ژل رویال می‌باشد. هم‌چنین ژل رویال دارای خصوصیات ضدالتهابی به‌دلیل توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات ضدآنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد که این ویژگی موجب استفاده وسیع از ژل رویال برای مقابله با ناهنجاری‌های پوستی شده است (۴). هم‌چنین ژل رویال می‌تواند سطوح کلسترول بد (لیپوپروتئین با چگالی پایین) را کاهش دهد درحالی‌که سطوح کلسترول خوب (لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا) را افزایش می‌دهد (۷). در پژوهشی نشان داده شد که افزودن ژل رویال به‌مقدار (۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به جیره ممکن است اثرات منفی تراکم بالا بر عملکرد رشد، رفتار و سامانه ایمنی را تعدیل کند و موجب تولید آنتی‌بادی گردد (۸). علاوه بر این، Jafari Ahangari و همکاران نشان دادند که تزریق داخل جنینی ژل رویال اثرات مطلوبی بر عملکرد رشد در دوره آغازین داشت (۹). این نتایج نشان داد تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال روش موثری برای بهبود وزن بدن روزانه و توسعه اندام‌های داخلی در جوجه‌های تازه متولد شده می‌باشد. این پژوهشگران نشان دادند که تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال سبب افزایش تعداد سلول‌های هتروفیل و کاهش تعداد سلول‌های لمفوسیت شد. با توجه به خصوصیات ژل رویال و اثرات زیستی آن، این احتمال وجود دارد که با تزریق ژل رویال به تخم‌مرغ، مواد مغذی بیش‌تری برای جنین فراهم گردد و در نتیجه به تکوین رویانی کمک کرده و عملکرد رشد و قدرت ایمنی اولیه را در جوجه‌های گوشتی تا پایان دوره پرورش افزایش دهد. بنابراین هدف از این آزمایش بررسی تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال بر جوجه‌درآوری، عملکرد رشد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

جوجه‌ها، جیره‌ها و شرایط پرورش: در شروع آزمایش تعداد ۴۰۰ عدد تخم‌مرغ بارور سویه گوشتی راس ۳۰۸ با میانگین وزنی ۶۷/۳۰گرم و در سن ۴۶ هفتگی گله مادر تهیه شد و به‌طور انفرادی وزن‌کشی و به‌صورت تصادفی در ۵ تیمار آزمایشی با ۴ تکرار و ۲۰ عدد تخم‌مرغ در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شد. در روز ۷ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمینوتیک تخم‌مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده با سرنگ شماره ۲۳ (۲۵ میلی‌متر طول) به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق شد. پس از اتمام تزریق، محل آن با الکل ضدعفونی شده و با پارافین مسدود شد (۸). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) گروه شاهد (بدون تزریق)، ۲) تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، ۳) تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)، ۴) تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل) و ۵) تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص بود. با بررسی منابع موجود تاثیر استفاده از ژل رویال خالص در تغذیه جنینی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار نگرفته است، از این‌رو تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال استفاده شد. بعد از تزریق، تخم‌مرغ‌ها به ستری منتقل شد

که دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد داشت. سپس تخم‌مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد قرار داده شد. در روز تفریخ، جوجه‌های هر تیمار آزمایشی شمارش و وزن‌کشی شده و تعداد ۱۰ قطعه جوجه یک‌روزه (۵ قطعه نر و ۵ قطعه ماده) برای هر یک از تکرارهای تیمارهای آزمایشی تعیین و بلافاصله به واحد پرورش منتقل شد. جوجه‌های تازه هچ شده به‌مدت 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. پس از ۳۶ ساعت گرسنگی، آزمایش آب و خوراک به‌طور آزاد تا پایان دوره آزمایش در دسترس پرندگان قرار گرفت و برای تأمین روشنایی واحدهای آزمایشی، از لامپ‌های ۴۰ واتی و به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک‌ساعت تاریکی استفاده شد. آزمایش در ۳ دوره پرورشی آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) و با جیره پایه برای هر دوره، مطابق با توصیه‌های احتیاجات سویه راس ۳۰۸ تنظیم شد (۱۰). درصد اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی مواد مغذی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: جیره غذایی مورد استفاده در آزمایش و ترکیبات مغذی آن

اجزای جیره (درصد)	دوره آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)	دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۳/۲۰	۵۵/۸۸	۵۷/۲۵
کنجاله سویا	۳۸/۴۱	۳۴/۹۰	۳۳/۳۱
ضایعات گندم	۲/۰۲	۲/۰۲	۲/۰۲
روغن سویا	۲/۰۸	۳/۶۰	۴/۱۰
پودر استخوان	۱/۳۰	۱/۱۰	۱/۰۴
دی‌کلسیم فسفات	۱/۶۵	۱/۴۰	۱/۳۱
نمک	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۰
دی ال- متیونین	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۰۷
ال-لیزین	۰/۲۱	۰/۰۸	۰/۰۰
ترئونین	۰/۰۶	۰/۰۰	۰/۰۰
مکمل ویتامینی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
آنالیز شیمیایی			
انرژی قابل متابولیسم	۲۹۰۰	۳۰۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۱	۲۰/۷	۱۹/۸
کلسیم (درصد)	۱/۰۰	۰/۸۵	۰/۸۰
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۳۹
لیزین (درصد)	۱/۳۵	۱/۱۷	۱/۰۳
متیونین (درصد)	۰/۴۸	۰/۴۲	۰/۳۹
متیونین + سیستئین (درصد)	۰/۰۱	۰/۹۰	۰/۸۱
ترئونین (درصد)	۰/۸۹	۰/۷۸	۰/۷۰

[1]مکمل ویتامینی: بیوتین ۰/۲ میلی‌گرم، کوله‌کلسیفرول، ۶۰ میکروگرم، سیانوکوبالامین، ۰/۰۱۷ میلی‌گرم، اسیدفولیک، ۵/۲ میلی‌گرم، منادیون، ۴ میلی‌گرم، نیاسین ۳۵ میلی‌گرم، پیریدوکسین، ۱۰ میلی‌گرم، ترانس رتینول، ۳/۳۳ میلی‌گرم، ریبوفلاوین، ۱۲ میلی‌گرم، تیامین، ۳/۰ میلی‌گرم، آلفا- استات توکوفرول، ۶۰ میلی‌گرم و کولین کلراید، ۶۳۸ میلی‌گرم. [2]مکمل معدنی: کبالت ۰/۳ میلی‌گرم، مس، ۳/۰ میلی‌گرم، آهن، ۲۵ میلی‌گرم، ید، ۱ میلی‌گرم، منگنز، ۱۲۵ میلی‌گرم، مولیبدن، ۰/۵ میلی‌گرم، سلنیوم، ۲۰۰ میکروگرم و روی، ۶۰ میلی‌گرم.

صفات مورد مطالعه و جمع‌آوری نمونه‌ها: وزن بدن و مصرف خوراک به‌طور هفتگی اندازه‌گیری شد و داده‌ها به‌منظور محاسبه میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک برای کل دوره مورد استفاده قرار گرفت. در انتهای دوره آزمایش، از هر تکرار دو قطعه جوجه که از نظر وزنی به میانگین گروه نزدیک بود پس از توزین، به‌روش قطع گردنی کشتار شده و پس از پرکنی و

جداکردن محتویات بطنی، وزن لاشه آن مشخص شد. وزن چینه‌دان، پیش‌معده، سنگدان، کبد، روده‌ها، چربی حفره بطنی، بورس، طحال و قلب اندازه‌گیری شده و وزن نسبی هر یک به‌صورت گرم در ۱۰۰ گرم وزن زنده به‌دست آمد (۱۱). برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC: Sheep Red Blood Cells) از دو راس گوسفندنر ۲۰ سی‌سی خون گرفته و در شیشه حاوی سیترات سدیم ریخته شد، سپس با سانتریفیوژ گلبول‌های قرمز از سرم خون و گلبول‌های سفید جدا شده و سه بار با بافر فسفات سالین شسته شد. درنهایت محلول ۱۰ درصد از گلبول قرمز در بافر فسفات سالین تهیه گردید. برای بررسی ایمنی هومورال و اندازه‌گیری پاسخ ایمنی علیه SRBC در روز ۲۸ آزمایش به دو جوجه از هر تکرار ۰/۵ سی‌سی از محلول فوق در ماهیچه سینه تزریق شد (۱۲). برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه علیه SRBC، در روزهای ۳۵ و ۴۲ آزمایش (۷ و ۱۴ روز پس از تزریق) از هر پن دو جوجه تعیین و از ورید بال آن‌ها ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. پس از لخته شدن نمونه‌های خون، به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۵۰۰×g سانتریفیوژ شده و سرم جدا گردید. برای اندازه‌گیری عیار آنتی SRBC کل، ایمنوگلوبولین G (IgG) و ایمنوگلوبولین M (IgM) از روش Van der Zjipp و همکاران استفاده گردید (۱۳). از جوجه‌های کشتار شده (۸ جوجه برای هر تیمار)، ۵ میلی‌لیتر خون داخل لوله‌های غیرهپارینه ریخته شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شد، سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم از خون جدا گردید. نمونه‌های سرم بلافاصله پس از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های مربوطه نگه‌داری شد. جهت تعیین مقادیر کلسترول تام، تری‌گلیسرید، HDL، LDL، کلسیم، فسفر و پروتئین تام سرم خون از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (BioTek, ELX800, USA) استفاده شد.

آنالیز آماری: آنالیز مشاهداتی که یک‌بار در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM) توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. داده‌های مربوط به میانگین افزایش وزن بدن روزانه، میانگین مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک که در طول دوره آزمایش چندین بار اندازه‌گیری شدند با دو اثر ثابت، همراه با اثر متقابل بین آن‌ها به‌روش مشاهدات تکراردار (Repeated Measurement) در طول زمان و با استفاده از رویه مدل مختلط (Mixed) مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین صفات مورد مطالعه توسط آزمون توکی-کرامر و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ مقایسه شد. مدل آماری مورد استفاده در آزمایش برای صفاتی که یک بار اندازه‌گیری شدند بدین صورت بود:

$$Y_{ij}=\mu + T_i + e_{ij}$$

که در این مدل: Y_{ij}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین داده‌ها، T_i: اثر i امین تیمار آزمایش، e_{ij}: خطای آزمایشی تصادفی

نتایج

اثر تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال بر صفات جوجه‌درآوری، وزن تخم‌مرغ، وزن جوجه تفریخ‌شده و نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد تزریق ژل رویال تاثیر معنی‌داری بر جوجه‌درآوری، وزن تخم‌مرغ، وزن جوجه تفریخ شده و نسبت وزن جوجه تفریخ شده به‌وزن تخم‌مرغ نداشت. نتایج مربوط به تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد تزریق ژل رویال خالص به‌طور معنی‌داری سبب بهبود افزایش وزن روزانه جوجه‌های تفریخ شده گردید در دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) و کل دوره و ضریب تبدیل خوراک را به‌صورت معنی داری کاهش داد ($P<0/05$). تزریق سطوح مختلف ژل رویال اثر معنی‌داری بر میانگین مصرف خوراک روزانه نداشت. مطابق یافته‌های پژوهش حاضر، تغذیه جنینی سطوح مختلف ژل رویال اثر معنی‌داری بر بازده لاشه، وزن نسبی چربی حفره بطنی، چینه‌دان، پیش معده، سنگدان، کبد، روده‌ها و قلب نداشت (جدول ۴). نتایج تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال بر پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده است. در مقایسه با تیمار شاهد، تغذیه جنین محلول حاوی ۶۰ و ۸۰ درصد ژل رویال موجب افزایش معنی‌دار وزن نسبی بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی شد ($P<0/05$). اما وزن نسبی طحال تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. نتایج مربوط به پاسخ آنتی‌بادی بر علیه SRBC نشان داد که در ۳۵ روزگی (عیار اولیه) تزریق ژل رویال خالص موجب افزایش معنی‌دار غلظت IgM شد ($P<0/05$). اما بر غلظت IgG و آنتی‌بادی کل اثر معنی‌داری مشاهده نشد. آنالیز آماری داده‌های مربوط به عیار ثانویه در سن ۴۲ روزگی نشان داد تزریق محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال و ژل رویال خالص در مقایسه با گروه شاهد (بدون تزریق) دارای عیار ایمنی بالاتری بودند به‌نحوی‌که غلظت IgM و آنتی‌بادی کل به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($P<0/05$). هم‌چنین نتایج این مطالعه نشان داد غلظت IgG در پاسخ ثانویه جوجه‌های گوشتی به تزریق SRBC تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. نتایج مربوط به تزریق سطوح مختلف ژل رویال بر غلظت برخی از فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ نشان داده شده است. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، تزریق محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال و ژل رویال خالص موجب

کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول تام و LDL سرم خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد شد(P<۰/۰۱). تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال اثر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید، HDL، کلسیم، فسفر و پروتئین تام سرم خون جوجه‌های گوشتی نداشت.

جدول ۲: اثر تزریق سطوح مختلف ژل رویال بر صفات جوجه‌درآوری

تیمار*	وزن تخم مرغ (گرم)	وزن جوجه تفریخ شده (گرم)	نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم مرغ (درصد)	درصد جوجه درآوری
T_1	۶۷/۳	۴۷/۴	۷۰/۴	۸۵/۴
T_2	۶۷/۳	۴۵/۰	۶۶/۹	۸۲/۶
T_3	۶۷/۱	۴۶/۵	۶۹/۳	۸۴/۱
T_4	۶۷/۲	۴۶/۶	۶۹/۳	۸۱/۰
T_5	۶۷/۴	۴۷/۴	۷۰/۳	۸۳/۵
اشتباه معیار	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۲۱	۱/۱۲۸
سطح معنی‌دار	۰/۲۷۳	۰/۰۸۱	۰/۱۴۱	۰/۱۰۵

*T_1: شاهد (بدون تزریق)؛ T_2: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل؛ T_3: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T_4: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T_5: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص.

جدول ۳: اثر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

تیمار*	میانگین افزایش وزن بدن روزانه (گرم)				میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم)				ضریب تبدیل خوراک			
	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره
T_1	۲۱/۱	۵۷/۲	۷۰/۷^{b}	۵۴/۴^{b}	۲۶/۶	۸۸/۹	۱۴۹/۶	۱۰۰/۱	۱/۲۶	۱/۵۵	۲/۱۱^{a}	۱/۸۴^{a}
T_2	۲۲/۷	۵۸/۴	۷۷/۴^{ab}	۵۷/۵^{ab}	۲۷/۲	۸۹/۵	۱۵۵/۴	۱۰۲/۹	۱/۲۰	۱/۵۳	۲/۰۰^{ab}	۱/۷۹^{ab}
T_3	۲۲/۲	۵۷/۶	۷۲/۶^{ab}	۵۵/۶^{ab}	۲۷/۱	۸۹/۱	۱۵۰/۴	۱۰۰/۶	۱/۲۲	۱/۵۵	۲/۰۷^{ab}	۱/۸۱^{ab}
T_4	۲۱/۴	۵۸/۱	۷۵/۲^{ab}	۵۶/۷^{ab}	۲۶/۵	۸۹/۳	۱۴۸/۷	۹۹/۸	۱/۲۴	۱/۵۳	۱/۹۸^{ab}	۱/۷۶^{ab}
T_5	۲۲/۳	۵۸/۶	۸۱/۸^{a}	۵۹/۹^{a}	۲۷/۰	۹۰/۳	۱۵۳/۷	۱۰۲/۴	۱/۲۱	۱/۵۴	۱/۸۸^{b}	۱/۷۱^{b}
اشتباه معیار	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۴۶	۰/۷۵	۰/۵۷	۰/۰۱۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴
سطح معنی‌دار	۰/۱۷۲	۰/۱۶۴	۰/۰۲۵	۰/۰۳۷	۰/۱۵۸	۰/۱۹۶	۰/۱۰۸	۰/۱۱۲	۰/۱۳۳	۰/۱۸۵	۰/۰۱۸	۰/۰۲۶

$^{a-b}$حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است (P<۰/۰۵). *T_1: شاهد (بدون تزریق)؛ T_2: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل؛ T_3: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T_4: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T_5: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص.

جدول ۴: اثر تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف ژل رویال بر بازده لاشه و وزن نسبی اندام‌های حفره بطنی و دستگاه گوارش (درصد از وزن زنده) جوجه‌های گوشتی

تیمار *	بازده لاشه	چربی	چینه دان	پیش معده	سنگدان	کبد	روده‌ها	قلب
T_1	۶۸/۲۴	۱/۸۰۶	۰/۲۹۷	۰/۴۱۱	۱/۴۲۰	۱/۸۹۳	۳/۸۵۱	۰/۶۳۲
T_2	۶۴/۳۷	۱/۶۵۳	۰/۲۲۶	۰/۴۰۹	۱/۴۱۱	۱/۹۴۶	۳/۴۲۳	۰/۵۳۱
T_3	۶۷/۲۳	۱/۸۱۵	۰/۳۰۵	۰/۳۹۳	۱/۵۲۳	۱/۸۸۶	۳/۲۰۶	۰/۵۸۷
T_4	۶۸/۴۱	۱/۸۱۲	۰/۲۹۲	۰/۳۶۸	۱/۳۴۷	۱/۹۱۲	۳/۳۰۵	۰/۵۹۶
T_5	۶۶/۵۸	۱/۸۷۱	۰/۳۱۷	۰/۴۶۱	۱/۳۸۲	۱/۹۲۳	۳/۱۹۴	۰/۶۷۲
اشتباه معیار	۰/۳۴۱	۰/۰۱۵۹	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۲۹	۰/۰۱۴۹	۰/۰۱۶۷	۰/۰۳۵۵	۰/۰۱۵۶
سطح معنی‌دار	۰/۵۷۲	۰/۲۶۳	۰/۰۶۷	۰/۰۷۴	۰/۱۱۷	۰/۱۶۳	۰/۰۵۷	۰/۱۹۴

*T1: شاهد (بدون تزریق)؛ T2: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل؛ T3: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T4: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T5: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص.

جدول ۵: اثر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال بر سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی

تیمار *	وزن نسبی اندام‌های لمفوئیدی (گرم/ ۱۰۰ گرم وزن بدن)		عیار پادتن (پاسخ اولیه) بر علیه (log_2) SRBC			عیار پادتن (پاسخ ثانویه) بر علیه (log_2) SRBC		
	بورس	طحال	IgG	IgM	کل	IgG	IgM	کل
T_1	۰/۱۷۲^{b}	۰/۱۲۴	۳/۳۹	۱/۰۹^{b}	۴/۴۸	۲/۰۱	۵/۱۳^{b}	۷/۱۴^{ab}
T_2	۰/۱۸۶^{ab}	۰/۱۲۱	۳/۳۴	۱/۰۷^{b}	۴/۴۱	۲/۰۳	۴/۶۴^{b}	۶/۶۷^{b}
T_3	۰/۱۹۹^{a}	۰/۱۳۰	۳/۴۲	۱/۱۲^{ab}	۴/۵۴	۲/۰۸	۵/۰۴^{ab}	۷/۱۲^{ab}
T_4	۰/۲۰۵^{a}	۰/۱۲۶	۳/۳۲	۱/۲۴^{a}	۴/۵۶	۲/۰۴	۵/۴۳^{a}	۷/۴۷^{a}
T_5	۰/۱۸۳^{ab}	۰/۱۲۲	۳/۲۸	۱/۲۰^{a}	۴/۴۸	۲/۱۰	۵/۳۸^{a}	۷/۴۸^{a}
اشتباه معیار	۰/۰۰۵۸	۰/۰۰۲۰	۰/۰۳۲	۰/۰۴۵	۰/۰۵۷	۰/۱۷۹	۰/۳۹۱	۰/۴۱۲
سطح معنی‌دار	۰/۰۳۱	۰/۰۷۱	۰/۱۲۵	۰/۰۳۱	۰/۱۶۲	۰/۱۱۰	۰/۰۱۴	۰/۰۲۷

a-bحروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است (P<۰/۰۵). *T۱: شاهد (بدون تزریق)؛ T۲: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل؛ T۳: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T۴: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T۵: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص.

جدول ۶: اثر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف ژل رویال بر غلظت فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

تیمار *	تری‌گلیسرید	کلسترول تام	LDL	HDL	کلسیم	فسفر	پروتئین تام
T_1	۹۷/۰	۱۸۳/۲^{a}	۷۲/۷^{a}	۹۲/۴	۱۱/۴۶	۶/۱۲	۲۹۴۵
T_2	۹۸/۳	۱۸۴/۵^{a}	۷۵/۱^{a}	۹۱/۷	۱۰/۲۰	۶/۰۷	۲۸۱۷
T_3	۹۵/۸	۱۷۵/۷^{ab}	۷۴/۴^{a}	۸۹/۲	۱۱/۲۷	۵/۸۹	۲۸۳۴
T_4	۹۴/۱	۱۷۴/۱^{b}	۶۷/۳^{b}	۹۰/۳	۹/۷۴	۶/۰۳	۲۹۱۳
T_5	۹۳/۷	۱۷۲/۴^{b}	۶۲/۱^{b}	۸۸/۹	۱۰/۳۴	۶/۱۷	۲۹۰۸
اشتباه معیار	۱/۱۴	۱/۷۴	۱/۱۷	۱/۰۷	۰/۰۲۷	۰/۰۱۹	۳۴/۴
سطح معنی‌دار	۰/۰۵۶	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۴۷۲	۰/۱۴۸۳	۰/۲۳۰	۰/۲۶۳

a-bحروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است (P<۰/۰۵). *T۱: شاهد (بدون تزریق)؛ T۲: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل؛ T۳: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۶۰ درصد ژل رویال (۶۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T۴: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ درصد ژل رویال (۸۰۰ میلی‌گرم ژل رویال در یک میلی‌لیتر آب استریل)؛ T۵: تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر ژل رویال خالص.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال سبب افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی شد که با نتایج Jalali و همکاران (۱۴) مطابقت داشت. یکی از دلایل احتمالی تاثیر تزریق ژل رویال بر افزایش وزن، فراهم شدن احتیاجات مغذی پرنده در طی دوره جنینی و مراحل اولیه زندگی توسط ژل رویال است. نشان داده شده است که 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 درنتیجه منجر به افزایش قابل توجهی در وزن بدن جوجه می‌گردد (۱۵). هم‌چنین تزریق مواد مغذی مختلف به کیسه آمنیون جنین، به ذخیره پروتئین و اسیدآمینه که به‌طور معمول برای گلوکونئوژنز مورد استفاده قرار می‌گیرد، کمک می‌کند و به‌دنبال آن سبب بهبود سطح انرژی جنین جوجه‌های گوشتی و کاهش مصرف انرژی داخلی (پروتئین و چربی) و هم‌چنین سبب افزایش وزن بدن جوجه گوشتی می‌گردد (۱۶). با توجه به این‌که دسترسی زودهنگام به‌خوراک سبب 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 عملکرد جوجه‌های گوشتی داشته‌باشد (۱۷). ژل رویال حاوی فلاونوئیدها، ترکیبات آلی، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری است. یکی دیگر از مکانسیم‌های احتمالی برای افزایش وزن‌نهایی بدن جوجه‌های گوشتی تغذی شده با ژل رویال، افزایش یافتن متابولیسم اکسیژن بافت‌ها به‌دلیل افزایش غلظت و استفاده گلوکز خون می‌باشد. مشخص شده است که ژل رویال اثر تحریک‌کنندگی بر فسفوریلاسیون اکسیداتیو دارد که سبب

افزایش مصرف اکسیژن توسط بافت‌ها شده و درنهایت به‌عنوان یک محرک رشد عمل می‌نماید (۴). با توجه به این‌که ژل رویال سرشار از مواد مغذی است، تزریق جنینی می‌تواند بیان ژن‌هایی که رشد و توسعه ظرفیت گوارشی را کنترل می‌کند را تحت تاثیر قرار داده و موجب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک پرنده پس از تفریخ گردد (۱۸). به‌نظر می‌رسد ژل رویال به‌دلیل داشتن خاصیت ضدمیکروبی موجب کاهش جمعیت میکروبی مضر روده شده و با کاهش فعالیت فسفولیپاز A_2 و سیکلواکسیژناز می‌تواند از افزایش التهاب و ضخامت روده ناشی از میکروب‌های مضر بکاهد و از این طریق سبب بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و جذب مواد خوراکی در روده شود و در نتیجه آن عملکرد رشد نیز بهبود یابد (۱۴). نتایج این پژوهش نشان داد تزریق داخل تخم‌مرغی ژل رویال سبب تقویت سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی شد که با نتایج Jafari Ahangari و همکاران (۹)، Jalali و همکاران (۱۴) و Gohari و همکاران (۸) مطابقت داشت. وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی به‌منظور قضاوت در خصوص سامانه ایمنی پرنده مورد استفاده قرار می‌گیرد. بورس فابریسیوس در پرندگان، سلول‌های لنفوسیت نوع B را تولید می‌کند که این سلول‌ها در سامانه ایمنی و ایمنی خونی نقش موثری دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد تزریق ژل رویال در دوره جنینی موجب افزایش وزن نسبی بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی شد که می‌تواند به‌عنوان نشانه‌ای از تقویت سامانه ایمنی درنظر گرفته شود (۸). ژل رویال احتمالاً از طریق نابود سازی عوامل بیماری‌زای داخلی و به تبع آن تکامل آناتومیکی بافت لنفاوی بورس فابرسیوس و نیز افزایش سلول‌های دفاعی بالغ پرنده باعث بهبود وضعیت سامانه ایمنی و تنظیم فرآیندهای ایمنی آن‌ها می‌شود (۹). علاوه بر این مشخص شده است که ژل رویال به‌طور مستقیم با تحریک بافت‌های لنفاوی و به‌صورت غیرمستقیم از طریق تغییر بهبود در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش موجب بهبود سامانه ایمنی می‌گردد (۱۹). یافته‌های این پژوهش نشان داد تغذیه جنینی با ژل رویال موجب افزایش غلظت IgM و آنتی‌بادی کل در پاسخ به تزریق SRBC شد. بنابراین ژل رویال در دوز بالا توانست موجب تقویت سامانه ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی گردد. اثرات تقویت‌کننده سامانه ایمنی ژل رویال به‌دلیل وجود ترکیبی به‌نام آپالبومین (Apalbumin) که دارای تاثیر ضدحساسیت نیز می‌باشد (۲۰). علاوه بر این افزایش خون‌سازی و تولید آنتی‌بادی‌های سرم (آلفا-۱ و آلفا-۲ گلوبولین) پس از مصرف ژل رویال مشاهده شده است (۲۱). ژل رویال می‌تواند تولید سلول‌های ایمنی (لنفوسیت‌های نوع T) را به‌منظور مبارزه بر علیه عوامل بیماری‌زایی و التهابی تحریک کند. ژل رویال حاوی مقدار قابل توجهی از گاماگلوبولین‌ها، اسیدهای آمینه، هورمون‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، آنزیم‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها (مانند ویتامین E و A) است که موجب تقویت سامانه ایمنی می‌گردد (۱۶). اخیراً تعدیل پاسخ‌های ایمنی از سلول‌های نوع T و کشت سلول‌های دندریتیک توسط ۱۰-۳- دی هیدروکسی دکانوئیک اسید استخراج شده از ژل رویال مشاهده شده است (۲۲). Ahmad و همکاران، نشان دادند که 10-HDA در غلظت‌های پایین تکثیر سلول‌های نوع T را تحریک می‌کند اما در غلظت‌های بالا با کاهش دادن تولید اینترلوکین ۲ و افزایش دادن اینترلوکین ۱۰ موجب ممانعت از تکثیر سلول‌های نوع T می‌شود (۲۲). بنابراین نقش این ترکیب در تنظیم سامانه ایمنی به‌میزان دوز آن وابسته است. تاکنون بیش‌ترین اثرات تعدیل سامانه ایمنی ژل رویال به اجزای پروتئینی آن بالاخص "پروتئین ۳" و آپالبومین-۱ نسبت داده شده است (۱۹). پروتئین ۳ به‌عنوان عامل ضدالتهاب غالب در ژل رویال توصیف شده که اثرات ضدحساسیت نیز دارد. در مقابل آپالبومین-۱ به‌عنوان اصلی‌ترین گلیکوپروتئین عسل و ژل رویال، فعالیت‌های تحریک‌کنندگی سامانه ایمنی و پیش‌التهابی را با تنظیم بیش از حد تولید فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α) (Tumor necrosis factor alpha) برعهده دارد (۲۳). یکی از مهم‌ترین خصوصیات ژل رویال وجود ترکیبات زیست فعال ضدهایپرکلسترولمی آن است (۲۴) که می‌تواند کاهش غلظت کلسترول کل و LDL سرم خون جوجه‌های گوشتی را در مطالعه حاضر توضیح دهد. در مطالعات انسانی نشان داده شده است که مصرف ژل رویال متابولیسم لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها را افزایش داده و پس از آن سطوح کلسترول بد را کاهش می‌دهد (۲۵). Chiu و همکاران، دریافتند که کاهش غلظت کلسترول، آپولیپوپروتئین B و تری‌گلیسرید به‌دلیل ساختن بلوک‌های LDL به‌عنوان اثرات فلاونوئیدهای موجود در ژل رویال است. این پژوهشگران نشان دادند که ژل رویال می‌تواند از طریق تنظیم بیان ژن‌های BAGCE1 و RAGE و افزایش بیان ژن‌های LRP1 و IDE، سرعت متابولیسم چربی‌های بدن را افزایش داده و سپس سطح کلسترول خون را کاهش دهد (۲۵). هم‌چنین برخی از مطالعات دیگر نشان داده‌اند که بیوفلاونوئیدها می‌توانند ساخت کلسترول را از طریق تاخیر فعالیت آنزیم ACAT در سلول‌های کبدی کاهش دهند (۲۶). نتایج این مطالعه نشان داد تزریق ژل رویال اثر منفی بر صفات جوجه‌درآوری نداشت. با این‌حال سبب افزایش عملکرد رشد، کاهش غلظت کلسترول تام و LDL سرم و تقویت سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی شد. بنابراین به‌نظر می‌رسد تغذیه جنین جوجه‌های گوشتی با ژل رویال می‌تواند یک راهکار علمی مناسب برای افزایش راندمان تولید گوشت مرغ، بهبود وضعیت ایمنی بوده و کاهش ذخیره کلسترول در بدن پرنده را موجب شود.

منابع

1. **Abdolmohamadi, M., Khodaei Motlagh, M. and Karimi, K., 2015.** Effect of injection of Garlic (*Allium sativum*) extract and Lovastatin on serum cholesterol in hypercholesterolemic broiler chicks. Journal of Animal Environment. 7(3): 95-102. (In Persian)
2. **Kadam, M.M., Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Thakur, R., Vasan, P., Bhattacharyya, A. and Tyagi, J.S., 2008.** Effect of in *ovo* threonine supplementation on early growth, immunological re-sponses and digestive enzyme activities in broiler chickens. Br. Poult. Sci. 49: 736-741.
3. **Cardinal, K.M., Kipper, M., Andretta, I. and Machado, A., 2019.** Withdrawal of antibiotic growth promoters from broiler diets: performance indexes and economic impact. Poult. Sci. 98: 6659-6667.
4. **Ramadan, M.F. and Al-Ghamdi, A., 2012.** Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. J. Functional Foods. 4: 39-52.
5. **Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez Lopez, J. and Perez-Alvarez, J.A., 2008.** Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. J. Food Sci. 73: R117-124.
6. **Vucevic, D., Melliou, E., Vasilijic, S., Gasic, S., Ivanovski, P., Chinou, I. and Colic, M., 2007.** Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell mediated immune response in vitro. Int. Immunopharmacol. 7: 1211-1220.
7. **Kurkure, N., Kognole, S., Pawar, S., Ganorkar, A., Bhandarkar, A., Ingle, V. and Kalorey, D., 2000.** Effect of royal jelly as immunonomodulator in chicks. J. Immunol. Immunopathol. 2: 84-87.
8. **Gohari, M., Khodaei, H.R. and Toghyani, M., 2019.** The Effect of in *ovo* injection of royal jelly on the hatchability, quality of one-day broiler chickens, the performance and some immune related traits in hatched chickens. Iranian J. Appl. Anim. Sci. 9: 519-527.
9. **Jafari Ahangari, Y., Hashemi, S.R., Akhlaghi, A., Atashi, H., Esmaili, Z., Ghorbani, M., Mehmandoyi, A., Mastani, R., Azadegan, A. and Davoodi, H., 2012.** Effect of in *ovo* injection of royal jelly on post-hatch growth performance and immune response in broiler chickens challenged with Newcastle disease virus. Iranian J. Appl. Anim. Sci. 3: 201-206.
10. **Aviagen. 2014.** Ross 308: Broiler Nutrition Specifications. Aviagen Ltd., Newbridge, UK.
11. **Hosseini, S.M., Farhangfar, H. and Nourmohammadi, R., 2018.** Effects of a blend of essential oils and overcrowding stress on the growth performance, meat quality and heat shock protein gene expression of broilers. Br. Poult. Sci. 59: 92-99.
12. **Gore, A.B. and Qureshi, M.A., 1997.** Enhancment of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. Poult. Sci. 76: 984-991.
13. **Van der Zijpp, A.J., 1983.** The effect of genetic origin, source of antigen, and dose of antigen on the immune response of cockerels. Poult. Sci. 62: 205-211.
14. **Jalali, A.S., Hasanzadeh, S. and Malekinejad, H., 2012.** Achillea millefolium inflorescence aqueous extract ameliorates cyclophosphamide-induced toxicity in rat testis: stereological evidences. Chinese Journal of Natural Medicines. 10(4): 247-254.
15. **Uni, Z., Ferket, P., Tako, E. and Kedar, O., 2005.** In *ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. Poult. Sci. 84: 764-770.
16. **Zhai, W., Gerard, P., Pulikanti, R. and Peebles, E., 2011.** Effects of in *ovo* injection of carbohydrates on embryonic metabolism, hatchability, and subsequent somatic characteristics of broiler hatchlings. Poult. Sci. 90: 2134-2143.
17. **Uni, Z. and Ferket, R., 2004.** Methods for early nutrition and their potential. World's Poult. Sci. J. 60: 101-111.
18. **Tako, E., Ferket, P.R. and Uni, Z., 2005.** Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestinal functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration. J. Nutr. Biochem. 16: 339-346.
19. **Babaei, S., Rahimi, S., Karimi-Torshizi M.A., Tahmasebi, G. and Khaleghi Miran, S.N., 2016.** Effects of propolis, royal jelly, honey and bee pollen on growth performance and immune system of Japanese quails. Vet. Res. Forum. 7: 13-20.
20. **Majtan, J., Kovacova, E., Bilikova, K. and Šimuth, J., 2006.** The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1-major honeybee royal jelly protein-on tnfα release. Int. Immunopharmacol. 6: 269-278.
21. **Krylov, V. and Sokolskii, C., 2000.** Royal jelly. Agroprompoligrafist Krasnodar. 214 p. (In Russian)
22. **Ahmad, S., Campos, M.G., Fratini, F., Zewdu altaye, S. and Li, J., 2020.** New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. Int. J. Mol. Sci. 21: 382.
23. **Yang, YC., Chou, W.M., Widowati, D.A., Lin, P. and Peng, CC., 2018.** 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. BMC Complement Altern. Med. 18: 202.
24. **Nagai, T. and Inoue, R., 2004.** Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. Food Chem. 84: 181-186.
25. **Chiu, H.F., Chen, B.K., Lu, Y.Y., Han, Y.C., Shen, Y.C., Venkatakrishnan, K., Golovinskaia, O. and Wang, C.K., 2017**. Hypocholesterolemic efficacy of royal jelly in healthy mild hypercholesterolemic adults. Pharm. Biol. 55: 497-502.
26. **Guo, H., Saiga, A., Sato, M., Miyazawa, I., Shibata, M., Takahata, Y. and Morimatsu, F., 2007.** Royal jelly supplementation improves lipoprotein metabolism in humans. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 53: 345-348.