

بررسی تأثیرات تزریق مواد مغذی مختلف به کیسه زرده تخم مرغ‌های بارور، همراه با ۳۶ ساعت گرسنگی پس از تفریح، بر قابلیت جوجه کشی، عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

نگین امیری^۱، محمدسالار معینی^{۲*}، سیما تشریفی^۳ و محدثه اسلامی^۴
۱، ۲ و ۴. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام و طیور، دانشیار گروه علوم دامی و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد،
بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳. کارشناس، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی کرمان (دکتری تغذیه طیور)
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲)

چکیده

این تحقیق به منظور مطالعه اثر قابلیت تغذیه جنینی بر درصد جوجه درآوری، وزن اولیه بعد از هچ، عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی و مورفولوژی پرزهای روده انجام گرفت. در این مطالعه ۲۴۰ تخم مرغ بارور سویه گوشتی راس - ۳۰۸ (گله مادر در سن ۲۸ هفتگی)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار استفاده شدند. به هر تیمار سه تکرار و به هر تکرار ۱۶ عدد تخم مرغ اختصاص داده شد. تیمارها عبارت بودند از یک تیمار بدون تزریق (شاهد ۱) و تزریق ۰/۷ میلی‌لیتر از مواد مغذی شامل آب مقطر (شاهد ۲)، محلول اسیدهای آمینه، دکستروز ۱۰ درصد و دکستروز ۲۰ درصد، به کیسه زرده تخم مرغ‌های بارور در روز ۱۴/۵ انکوباسیون. جوجه‌ها بعد از هچ به مدت ۳۶ ساعت از دسترسی به خوراک محروم بودند. وزن تولد در تیمار اسید آمینه در مقایسه با تیمار بدون تزریق و تزریق آب مقطر به طور معناداری بیشتر بود ($P < 0/05$). بیشترین افزایش وزن در ۲۲ تا ۴۲ روزگی و کل دوره در تیمار تزریق دکستروز ۲۰ درصد مشاهده شد که با تیمارهای تزریق آب مقطر و بدون تزریق اختلاف معناداری داشت. بیشترین مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی به ۲۲ تا ۴۲ روزگی و کل دوره پرورش در تیمار آب مقطر مربوط بود. گلوکز خون جوجه‌ها پس از هچ در تیمار تزریق آب مقطر و بدون تزریق از سایر تیمارها کمتر بود، همچنین کلسترول در تیمار تزریق آب مقطر کمترین مقدار را نشان داد. تزریق دکستروز ۱۰ درصد سبب افزایش وزن نسبی تیموس (در هفت‌روزگی) شد. همچنین کمترین وزن نسبی بورس فابریسیوس در ۴۲ روزگی در تیمار بدون تزریق مشاهده شد. تزریق دکستروز ۱۰ درصد سبب افزایش طول پرز در مقایسه با سایر تیمارها در سه روزگی شد که البته با تیمار بدون تزریق اختلاف معناداری داشت. بر اساس نتایج این آزمایش، به نظر می‌رسد تزریق کربوهیدرات‌ها به داخل تخم می‌تواند در بهبود عملکرد جوجه‌ها مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه، تغذیه جنینی، جوجه گوشتی، دکستروز، کیسه زرده.

مقدمه

روز جوجه‌کشی، به درون حفره شکمی کشیده شده و سپس در روده خلفی محو می‌شود. جوجه همراه با کیسه زرده‌ای که حدود ۲۰ درصد از کل وزن بدن را

همراه با رشد جنین و مصرف مواد مغذی کیسه زرده، کیسه زرده کوچک و کوچک‌تر و سرانجام در بیستمین

معناداری را در مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی ایجاد نمی‌کند. پژوهش‌های متعدد نشان داده است که دسترسی سریع‌تر جوجه‌های گوشتی به غذا موجب افزایش وزن بدن، بهبود خصوصیات ریخت‌شناختی و عملکرد روده و افزایش بافت لنفوییدی مرتبط با روده (GALT)^۱ می‌شود (Geyra *et al.*, 2005; Uni *et al.*, 2001b). با توجه به اینکه رابطه مستقیمی بین مواد مغذی باقیمانده در زرده و رشد جوجه بعد از هج وجود دارد (Vieira & Moran, 1999)، در این مطالعه سعی شد تأثیر تزریق مواد غذایی مختلف به کیسه زرده در روز ۱۴/۵ انکوباسیون و گرسنه‌ماندن جوجه‌ها پس از تفریح بر وزن تولد و عملکرد جوجه‌های گوشتی، فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

تزریق مواد غذایی به داخل کیسه زرده

در روز ۱۴/۵ انکوباسیون، ۲۴۰ عدد تخم‌مرغ جنین‌دار با میانگین وزنی 56 ± 2 گرم از سویه گوشتی راس ۳۰۸ (گله مادر در سن ۲۸ هفتگی) استفاده شد و برای آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار که هر تکرار شامل ۱۶ عدد تخم‌مرغ بود، استفاده شدند. پنج تیمار آزمایشی عبارت بودند از: تیمار بدون تزریق (شاهد ۱) و تزریق ۰/۷ میلی‌لیتر (Zhai *et al.*, 2001) آب مقطر (شاهد ۲) و محلول‌های اسید آمینه^۲، دکسترین ۱۰ درصد، و دکسترین ۲۰ درصد. در روز ۱۴/۵ انکوباسیون، ابتدا قسمت پهن تخم‌مرغ با الکل ۹۶ درصد ضدعفونی شد و سپس عمل تزریق در عمق ۲۵ میلی‌متری تخم‌مرغ به وسیله سرنگ با سوزن درجه ۲۳ در کیسه زرده انجام گرفت. پس از تزریق، محل آن با چسب مایع مسدود شد (Tasharofi, 2012) و

تشکیل می‌دهد، سر از تخم در می‌آورد. کیسه زرده حاوی مقدار زیادی چربی، پروتئین و حدود ۱ درصد کربوهیدرات است (Burley, 1989). در شرایط عملی، بیشتر جوجه‌ها از زمان تفریح تا ۴۸ ساعت بعد به آب و غذا دسترسی ندارند (Noy & Sklan, 1999). تأخیر در دسترسی به آب و غذا به دهیدراتاسیون و کاهش وزن بدن (۰/۱۸ گرم در ساعت) (Noy & Sklan, 2001)، محدود شدن توسعه بافت‌ها و اندام‌های حیاتی مانند روده (Dibner & Richards, 2004)، سیستم ایمنی، عضله، مستعد شدن جوجه برای ابتلا به عوامل بیماری‌زا (Dibner *et al.*, 2008) و کاهش گلوکز خون به مقدار ۱۵-۱۰ درصد (Hazelwood & Lorenz, 1959) می‌انجامد. آثار تأخیر زمان دسترسی به آب و غذا تا حدود زیادی به ذخایر موجود در کیسه زرده بستگی دارد. از طرف دیگر، زرده وقتی می‌تواند سریع‌تر جذب شود و انرژی ذخیره‌شده در خود را به مصرف جوجه برساند که امکان دسترسی هر چه سریع‌تر به دان را بعد از هج داشته باشد. مسئله مهم در لزوم جذب هرچه سریع‌تر زرده، وجود آنتی‌بادی‌های منتقله از مادر به زرده است. آنتی‌بادی‌های مادری از طریق زرده به جوجه منتقل می‌شوند. این آنتی‌بادی‌ها به شرطی می‌توانند باعث جلوگیری از بیماری‌ها شوند که هرچه سریع‌تر و حداکثر در مدت ۴۸ ساعت از طریق زرده وارد جریان خون جوجه شوند. همچنان که اشاره شد برای جذب زرده، جوجه باید در کوتاه‌ترین مدت بعد از هج به آب و دان برسد که از اینجا اهمیت تغذیه اولیه جوجه به خوبی مشخص می‌گردد (Petek *et al.*, 2007). همچنین ارتباط نزدیکی بین محتویات کیسه زرده و عملکردهای بعدی جوجه‌های گوشتی وجود دارد (Vieira & Moran, 1999). در آزمایشی که تزریق در روز هفتم جوجه‌کشی به کیسه زرده صورت گرفت، وزن جوجه‌های به دست آمده از تخم‌مرغ‌های تیمار شده با اسید آمینه در روز هفتم جوجه‌کشی در مقایسه با گروه شاهد و گروهی که تزریق آب مقطر در آن‌ها صورت گرفته بود، بیشتر بود و جوجه‌درآوری در بین تیمارها اختلاف معناداری نداشت (Ohta *et al.*, 2001). Tasharofi (2012) گزارش کرد تزریق مواد مغذی به کیسه زرده جنین در روز ۸/۵ جوجه‌کشی، هیچ تفاوت

1. Gut associated lymphoid tissue

۲. محلول اسید آمینه ساخت شرکت B.Braun کشور آلمان بود. ترکیب محلول آمینواسید بر حسب گرم در هر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر: ۵/۱۰ ایزولوسین، ۸/۹۰ لوسین، ۵/۶۰ لیزین، ۳/۸۰ متیونین، ۵/۱۰ فنیل‌آلانین، ۴/۱۰ ترئونین، ۱/۸۰ تریپتوفان، 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.

گروهی از جوجه‌های هر پن با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۵ گرم، در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ انجام گرفت و با استفاده از روش روزمرغ (به منظور امکان تصحیح برای تلفات احتمالی)، افزایش وزن روزانه هر جوجه و مقدار خوراک مصرفی به دست آمد و سپس ضریب تبدیل با در دست داشتن دو مورد فوق برآورد شد.

ارزیابی خصوصیات ریخت‌شناسی روده

نمونه‌های روده (ژژنوم) که در کشتار روز سوم پرورش برداشته شده بودند، در فرمالین ۴ درصد (حجمی) تثبیت، دهیدراته و تمیز شده و سپس در پارافین نگهداری شدند. برش‌های متوالی به ضخامت ۲ میکرون از ژژنوم تهیه شدند و روی اسلایدهای شیشه‌ای قرار گرفتند. نمونه‌ها توسط محلول زایلان، پارافین‌زدایی و در محلول‌های درجه‌بندی‌شده الکل آب‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها با هماتوکسیلین و اتوزین رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری لایکا (Leica system, GmbH, Weizlar, Germany) و برنامه نرم‌افزاری لایکا کوبن ۵۵۰ بررسی شدند. ارزیابی‌ها شامل ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بود (Pilarski et al., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (2005) استفاده شد و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده گردید.

نتایج و بحث

درصد هج و وزن جوجه‌ها پس از هج

بر اساس نتایج این پژوهش، اثر تزریق مواد غذایی در کیسه زرده بر درصد جوجه درآوری معنادار ($P < 0.05$) بود. بیشترین درصد تفریح به گروه بدون تزریق (شاهد ۱) تعلق داشت (جدول ۲). علت این امر می‌تواند مربوط به عمل تزریق باشد، هرچند علت روشن نیست. نتایج این پژوهش مشابه با نتایج Tasharofi (2012) و Kidd et al. (2007) بود. اما در آزمایش دیگری

تخم‌مرغ‌ها در دستگاه ستر قرار گرفتند. پس از تفریح، جوجه‌های هر گروه آزمایشی شمارش و وزن‌کشی شده و بلافاصله به سالن پرورش انتقال یافتند.

نحوه پرورش و نمونه‌گیری

در تمام دوره آزمایش با کنترل سیستم تهویه، رطوبت نسبی سالن حدود ۵۰ درصد حفظ گردید. دما در زمان ورود جوجه‌ها ۳۳ درجه بود و در دوره آزمایش بر طبق پیشنهاد کاتالوگ راس ۳۰۸ کنترل شد. نوردهی در سالن به صورت ۲۴ ساعته بود. در سالن پرورش، جوجه‌های هج شده به واحدهای آزمایشی (بر روی بستر) مربوطه منتقل شده و شش هفته تحت شرایط استاندارد پرورش یافتند. در شروع آزمایش، جوجه‌های تازه هج شده به مدت ۳۶ ساعت از زمان هج از دسترسی به خوراک محروم شدند و سپس تمام تیمارها آزادانه به جیره غذایی یکسانی دسترسی داشتند، زیرا در شرایط تجاری نیز جوجه‌ها معمولاً پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از هج به مرغداری رسیده و تغذیه آنها آغاز می‌گردد. بعد از هج و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی، از یک جوجه در هر تکرار برای اندازه‌گیری فراسنج‌های خونی شامل گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون‌گیری شد. پس از خون‌گیری، نمونه‌های خون در لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شد. سپس نمونه‌ها ۵ دقیقه داخل سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت تا پلاسما جدا شود و با استفاده از سمپلر، پلاسما برداشته و داخل میکروتیوب‌ها ریخته شد. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند. گلوکز، کلسترول، LDL و HDL موجود در نمونه‌های سرم با استفاده از روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری زیست شیمی و مقدار تری‌گلیسرید با استفاده از روش آنزیمی GPO/Trinder تعیین شد. همچنین یک قطعه جوجه از هر تکرار در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۴۲ برای اندازه‌گیری وزن نسبی طحال، تیموس و بورس فابرسیوس کشتار شد. جیره‌های این آزمایش برای تمام گروه‌های آزمایشی یکسان بوده و بر اساس توصیه راهنمای تغذیه جوجه گوستی راس - ۳۰۸ تنظیم شدند (Aviagen, 2007) (جدول ۱). وزن‌کشی به صورت

محققان گزارش کردند که تزریق محلول اسید آمینه در روز هفتم جنینی به کیسه زرده تخم مرغ‌های بارور در مقایسه با گروه شاهد (عدم تزریق)، اثر معناداری بر نرخ جوجه‌دراوری ندارد (Ohta *et al.*, 2001).

تزریق مواد مغذی به داخل تخم مرغ‌ها تأثیر معناداری بر وزن جوجه‌های تفریخ شده داشت ($P < 0.05$). وزن جوجه‌های حاصل از تخم مرغ‌های تیمار شده با تزریق آب مقطر و بدون تزریق، کمتر از سایر تیمارها بود (جدول ۲).

جدول ۱. ترکیب جیره جوجه‌های گوشتی در مراحل آغازین، رشد و پایانی

دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)	دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	دوره آغازین (تا ۱۰ روزگی)	مواد خوراکی
۵۷/۶۰	۶۰/۴۰	۵۳/۴۲	ذرت
۱۰/۰۰	-	-	گندم
۲۶/۵۰	۳۳/۰۰	۳۷/۸۰	کنجاله سویا (۴۴)
۲/۲۰	۲/۷۰	۴/۰۰	روغن آفتابگردان
۱/۰۰	۱/۰۵	۱/۳۰	پودر پوسته صدف
۱/۴۵	۱/۵۶	۱/۸۹	دی کلسیم فسفات
۰/۳۳	۰/۳۴	۰/۳۷	نمک طعام
۰/۲۴	۰/۲۷	۰/۳۹	دی آل - متیونین
۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۳۳	آل - لیزین هایدروکلراید
۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل ویتامینی + معدنی ۱
ترکیب شیمیایی جیره			
۳۰۳۵	۳۰۰۰	۲۹۸۵	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری / کیلوگرم)
۱۸/۰۱	۲۰/۰۰	۲۱/۷۰	پروتئین خام (درصد)
۱/۰۳	۱/۱۸	۱/۴۰	لیزین (درصد)
۰/۵۲	۰/۵۸	۰/۷۱	متیونین (درصد)
۰/۸۲	۰/۹۰	۱/۰۶	متیونین + سیستین (درصد)
۰/۸۰	۰/۸۵	۱/۰۴	کلسیم (درصد)
۰/۴۰	۰/۴۳	۰/۵۰	فسفر (درصد)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۶	سدیم (درصد)
۲/۵۳	۲/۸۱	۳/۳۳	لینولئیک اسید (درصد)

۱. مقدار در هر کیلوگرم مخلوط مکمل معدنی و ویتامین: ویتامین A (۳۶۰۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین D₃ (۸۰۰۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین E (۷۲۰۰ واحد بین‌المللی)، ویتامین K₃ (۸۰۰ میلی‌گرم)، ویتامین B₁₂ (۶ میلی‌گرم)، پیریدوکسین (۱۱۷۶ میلی‌گرم)، تیامین (۷۰۰ میلی‌گرم)، ریبوفلاوین (۲۶۴۰ میلی‌گرم)، اسید پانتوتنیک (۳۹۲۰ میلی‌گرم)، نیاسین (۱۱۸۸۰ میلی‌گرم)، بیوتین (۴۰ میلی‌گرم)، کولین (۲۰۰۰ میلی‌گرم)، فولاسین (۴۰۰ میلی‌گرم)، اتوکسی کوئین (۱۰۰۰ میلی‌گرم). در هر کیلوگرم مکمل معدنی: سلنیوم (۸۰ میلی‌گرم)، مس (۴۰۰۰ میلی‌گرم)، ید (۲۹۶ میلی‌گرم)، آهن (۲۰۰۰ میلی‌گرم)، منگنز (۳۹۶۸۰ میلی‌گرم)، روی (۳۳۸۸۰ میلی‌گرم).

جوجه را فراهم می‌آورد (Noy & Sklan, 2001). از آنجایی که پروتئین قسمت عمده وزن جنین را تشکیل می‌دهد، تزریق محلول اسید آمینه در تخم مرغ، محرکی برای مصرف اسید آمینه توسط جنین است و همزمان با این عمل، تجزیه اسید آمینه توسط جنین کاهش می‌یابد. بنابراین، تزریق محلول اسید آمینه را می‌توان به عنوان عامل بهبود وزن جوجه‌های یک‌روزه تولید شده در نظر گرفت (Ohta *et al.*, 2001). تزریق مواد مغذی مختلف تأثیر معناداری بر میانگین وزن جوجه‌ها بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی نداشت (جدول ۲).

نتایج پژوهش حاضر مشابه با نتایج Al-Murran (1982)، Ohta & Kidd (2001)، Tako *et al.* (2004) و Uni *et al.* (2005) بود اما با نتایج Ohta *et al.* (1999, 2001) مطابق نبود. این نتایج را می‌توان بدین گونه توجیه کرد که کیسه زرده از پرده‌های خارجی جنینی و مخزن بزرگی از ذخایر غذایی است. قسمتی از این ذخیره غذایی طی زمان جوجه‌کشی استفاده نشده و در روزهای آخر جوجه‌کشی به داخل حفره شکمی کشیده می‌شود. در این زمان کیسه زرده تقریباً ۲۰ درصد وزن جوجه‌ها را تشکیل داده و انرژی و پروتئین مورد نیاز برای نگهداری و رشد

جدول ۲. اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر درصد جوجه‌درآوری و وزن جوجه‌ها بعد از تفریح و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی

تیمار	درصد هچ	وزن جوجه تفریح شده (گرم)	وزن جوجه بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی
تزریق آب مقطر	۷۲/۹۱ ^b	۳۵/۵۱ ^b	۳۳/۹۵
تزریق اسید آمینه	۷۲/۹۱ ^b	۳۸/۳۳ ^a	۳۵/۴۱
تزریق دکستروز ۱۰ درصد	۸۹/۵۸ ^{ab}	۳۷/۰۳ ^{ab}	۳۴/۵۸
تزریق دکستروز ۲۰ درصد	۸۳/۳۳ ^{ab}	۳۷/۰۳ ^{ab}	۳۴/۷۹
بدون تزریق	۹۵/۸۳ ^a	۳۶/۲۲ ^b	۳۵/۰۰
Pvalue	۰/۰۵۳	۰/۰۲۷	۰/۴۱۶
SEM	۵/۵۱	۰/۵۰۵	۰/۵۱۸

SEM: انحراف استاندارد از میانگین.

a,b. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، اختلاف معناداری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

عملکرد رشد جوجه‌های تفریح‌شده

تزریق آب مقطر در مقایسه با تیمارهای بدون تزریق و تزریق اسیدآمینه بیشتر بود، اما با تیمارهای دکستروز ۱۰ و ۲۰ درصد اختلاف معناداری نداشت ($P < 0.05$).

اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر عملکرد رشد جوجه‌ها در جدول ۳ گزارش شده است. در بازه‌های زمانی ۲۲ تا ۴۲ روزگی و کل دوره پرورش، مصرف خوراک در تیمار

جدول ۳. اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل در بازه‌های زمانی مختلف

P-value	SEM	تیمار					سن
		بدون تزریق	دکستروز ۲۰ درصد	دکستروز ۱۰ درصد	اسید آمینه	آب مقطر	
مصرف خوراک (گرم/روز/پرنده)							
۰/۰۹۳	۰/۶۳۳	۲۷/۱۳	۲۸/۷۳	۲۹/۹۲	۲۷/۹۴	۲۸/۷۴	۱-۲۱ روزگی
۰/۰۴۷	۳/۹۹	۱۱۱/۶۰ ^b	۱۲۴/۶۰ ^{ab}	۱۲۲/۶۶ ^{ab}	۱۱۵/۲۲ ^b	۱۳۰/۴۷ ^a	۲۲-۴۲ روزگی
۰/۰۲۱	۲/۰۷	۶۳/۱۲ ^c	۷۱/۷۵ ^{ab}	۷۰/۸۰ ^{ab}	۶۶/۳۳ ^{bc}	۷۴/۳۹ ^a	۱-۴۲ روزگی
افزایش وزن (گرم/روز/پرنده)							
۰/۰۸۹	۰/۷۵۶	۱۵/۱۷	۱۸/۳۴	۱۸/۱۱	۱۷/۲۶	۱۷/۰۸	۱-۲۱ روزگی
۰/۰۹۱	۲/۶۲	۶۴/۰۰	۷۳/۷۶	۷۳/۶۱	۶۸/۱۱	۶۶/۶۸	۲۲-۴۲ روزگی
۰/۰۳۲	۱/۴۷	۳۵/۹۶ ^b	۴۳/۲۱ ^a	۴۲/۶۰ ^a	۳۹/۶۲ ^{ab}	۳۹/۳۴ ^{ab}	۱-۴۲ روزگی
ضریب تبدیل غذایی							
۰/۲۳۶	۰/۰۶۳	۱/۷۹	۱/۵۷	۱/۶۵	۱/۶۳	۱/۶۸	۱-۲۱ روزگی
۰/۰۲۳	۰/۰۵۵	۱/۷۵ ^{ab}	۱/۶۹ ^b	۱/۶۶ ^b	۱/۶۹ ^b	۱/۹۵ ^a	۲۲-۴۲ روزگی
۰/۰۳۷	۰/۰۵۰	۱/۷۵ ^{ab}	۱/۶۶ ^b	۱/۶۶ ^b	۱/۶۷ ^b	۱/۸۹ ^a	۱-۴۲ روزگی

SEM: انحراف استاندارد از میانگین.

a,b,c. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، اختلاف معناداری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

مقار مربوط بود که به‌طور معناداری بیش از تیمارهای تزریق انواع مواد مغذی دیگر بود ($P < 0.05$). این نتایج مشابه با نتایج Acar et al. (2001) بود اما با نتایج آزمایش‌های Lopez & Leeson (1995) مطابقت نداشت. نشان داده شده است که تزریق مواد مغذی به افزایش حدود ۶ تا ۱۲ میلی‌گرم گلیکوزن در هر گرم از بافت کبد

در این آزمایش مشاهده شد که حتی تزریق آب مقطر در مقایسه با تزریق‌نشدن هر گونه ماده غذایی، می‌تواند سبب افزایش مصرف خوراک شود. در ارتباط با تأثیر نوع ماده تزریقی بر ضریب تبدیل در بازه‌های زمانی ۲۲ تا ۴۲ و ۱ تا ۴۲ روزگی تفاوت معنادار مشاهده شد. بیشترین ضریب تبدیل در این بازه‌های زمانی به تیمار تزریق آب

هفتم انکوباسیون به آلبومین جنین سبب افزایش گلوکز خون جوجه‌های یک‌روزه در مقایسه با گروه شاهد (بدون تزریق) و کنترل (تزریق آب مقطر) می‌شود. Bhanja *et al.* (2007) نیز نشان دادند که تزریق گلوکز سبب افزایش گلوکز خون جوجه‌های یک‌روزه می‌گردد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. افزایش قند خون در اواخر دوره جنینی ممکن است در نتیجه افزایش گلوکاگون و افزایش فرایند گلیکوژنولیز باشد (Lu *et al.*, 2007). گلوکز اولین و مهم‌ترین ماده مغذی برای رشد و نمو جنین است و با توجه به اینکه مقدار کربوهیدرات داخل تخم‌مرغ کم بوده و حدود یک درصد تخم‌مرغ را تشکیل می‌دهد؛ در نتیجه فعالیت چرخه گلیکولیز، از اکسیداسیون چربی در زمان کمبود اکسیژن برای تنفس جنینی در مقایسه با تنفس ریوی ضروری‌تر است (Høiby *et al.*, 1987). همچنین برخی پژوهشگران نیز پیشنهاد کرده‌اند که همبستگی مثبتی بین غلظت گلوکز خون و وزن بدن جوجه وجود دارد (Christensen *et al.*, 2000; Ebrahimnezhad *et al.*, 2011).

در این آزمایش کلاسترول خون در تیمارهای تزریق آب مقطر و بدون تزریق کمترین مقدار بود، اگرچه از لحاظ آماری معنادار نبود ($P=0/06$). Ebrahimnezhad *et al.* (2011) با تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر گلوکز ۲۰ و ۲۵ درصد گزارش کردند که کلاسترول در ۲۱ و ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه کنترل (بدون تزریق) تفاوت معناداری ندارد. بر طبق گزارش Sturkie (1995) بالابودن سطح کلاسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در جوجه‌ها پس از خروج از تخم ارتباطی با جیره ندارد که این می‌تواند نتیجه استفاده بیشتر جوجه از کیسه زرده باشد.

در این پژوهش تفاوت معناداری در فراسنجه‌های خونی بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی مشاهده نشد ($P>0/05$). هرچند به لحاظ مقداری، گلوکز خون در تیمارهای تزریق آب مقطر و اسید آمینه کمتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴). در نتیجه ۳۶-۲۴ ساعت محرومیت از غذا، گلیکوژن کبد ممکن است تا ۹۰ درصد کاهش یابد. با کاهش ذخایر گلیکوژن در یک دوره طولانی محرومیت از غذا، مقدار گلوکز خون پرندگان در مقایسه با زمان قبل از محرومیت غذایی ۱۵-۱۰ درصد کاهش می‌یابد؛ سپس دوباره شروع

جنین منجر 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 (Uni *et al.*, 2005). Ohta *et al.* (2001) مشاهده کردند که با تزریق مواد مغذی در تخم‌مرغ سطوح اسیده‌های آمینه پلاسما جوجه‌های یک‌روزه در مقایسه با لیزین کاهش می‌یابد که در نتیجه این امر می‌تواند باعث تجمع اسیده‌های آمینه در بافت‌ها و تولید پروتئین بیشتر شود که متعاقباً به افزایش بیشتر وزن روزانه منجر خواهد شد. همچنین طبق تحقیقات Acar *et al.* (2001) با افزایش مصرف اسیده‌های آمینه، مصرف خوراک کاهش می‌یابد. در مراحل آخر دوره جوجه‌کشی، کیسه زرده به داخل حفره شکمی کشیده می‌شود. احتمالاً با تزریق مواد مغذی در کیسه زرده، منبعی جدید و اضافی از اسیده‌های آمینه برای جنین در مرحله اول و جوجه‌های تازه از تخم خارج شده در هفته اول زندگی فراهم می‌آید. این منبع اضافی اسیده‌های آمینه می‌تواند سبب کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردد.

در کل دوره پرورش، تزریق دکستروز ۲۰ درصد به‌طور معناداری سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌های تفریخ‌شده گردید ($P<0/05$) و کمترین افزایش وزن روزانه در این بازه زمانی به تیمار بدون تزریق مربوط بود. نتایج این پژوهش مشابه با نتایج Hajihosaini & Mottaghtalab (2004) و Bhanja *et al.* (2007) بود، اما در آزمایش Lopez & Leeson (1995) با تزریق مواد مغذی تأثیری بر میانگین افزایش وزن روزانه در دوره‌های ۲۱-۴۲ و ۴۲-روزگی مشاهده نشد.

فراسنجه‌های خونی

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر فراسنجه‌های خون در شروع پرورش و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی به ترتیب در جدول ۴ نشان داده شده است. در ارتباط با تأثیر تزریق مواد غذایی مختلف بر مقدار گلوکز خون جوجه‌ها پس از تفریخ اختلاف معنادار مشاهده شد. گلوکز خون در تیمار آب مقطر و بدون تزریق به‌طور معناداری در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود ($P<0/05$). Ebrahimnezhad *et al.* (2011) گزارش کردند که تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر گلوکز ۲۰ و ۲۵ درصد در روز

به افزایش می‌کند تا به حد طبیعی برسد (Hazelwood & Lorenz, 1959). قابل ذکر است که در رابطه با تأثیر تغذیه گرسنگی، گزارشی در دسترس نیست.

جدول ۴. اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر فراسنجه‌های خون در روز اول پرورش و بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی (میلی گرم بر دسی لیتر)

تیمار						
P-value	SEM	بدون تزریق	دکستروز ۲۰ درصد	دکستروز ۱۰ درصد	اسید آمینه	آب مقطر
فراسنجه‌های خون در روز اول پرورش (میلی گرم بر دسی لیتر)						
۰/۰۰۰۳	۶/۵۰	۱۳۹/۳۳ ^b	۱۶۸/۳۳ ^a	۱۷۷/۰۰ ^a	۱۸۶/۳۳ ^a	۱۲۸/۰۰ ^b
۰/۱۸۱	۶/۶۹	۵۵/۳۳	۷۱/۰۰	۵۷/۳۳	۷۵/۶۶	۷۲/۳۳
۰/۰۶۰	۳۱/۳۹	۳۶۰/۳۳	۴۰۷/۳۳	۴۲۷/۰۰	۴۴۲/۰۰	۳۰۳/۳۳
۰/۶۹۳	۱۰/۸۰	۱۰۲/۶۷	۹۴/۳۳	۱۱۳/۰۰	۹۶/۶۷	۹۳/۳۳
۰/۶۱۸	۳۶/۱۱	۲۴۷/۸۷	۲۹۸/۸۰	۳۰۲/۵۳	۳۳۰/۲۰	۳۰۲/۲۰
فراسنجه‌های خونی بعد از ۳۶ ساعت گرسنگی (میلی گرم بر دسی لیتر)						
۰/۲۶۹	۱۷/۶۹	۱۸۸/۰۰	۱۹۱/۳۳	۲۲۹/۰۰	۱۷۲/۳۳	۱۸۰/۶۷
۰/۷۰۴	۲۱/۴۲	۸۴/۰۰	۷۳/۰۰	۱۱۴/۳۳	۸۵/۶۷	۷۹/۶۷
۰/۱۴۲	۵۰/۱۷	۴۶۰/۰۰	۴۵۲/۰۰	۶۲۷/۰۰	۴۵۴/۶۷	۵۰۶/۳۳
۰/۴۷۹	۱۳/۲۲	۱۰۴/۳۳	۱۰۴/۰۰	۱۳۲/۳۳	۱۲۶/۳۳	۱۱۹/۶۷
۰/۱۷۳	۴۴/۹۳	۳۳۸/۴۰	۳۳۳/۴۰	۴۷۱/۸۰	۳۱۱/۲۰	۳۷۱/۰۰

SEM: انحراف استاندارد از میانگین.

a, b میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، اختلاف معناداری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

وزن نسبی طحال، تیموس و بورس

سلول‌های موجود در بافت‌های لنفوییدی نیاز دارد که این امر بیشتر تحت تأثیر متابولیسم گلوکز قرار داشته و برای حداکثر تقسیمات سلولی و رشد سریع‌تر بافت‌های لنفوییدی، مصرف بیشتر کربوهیدرات ضرورت دارد. تحقیقات نشان می‌دهند تغذیه اولیه، رشد بهتر دستگاه ایمنی (بلوغ دستگاه ایمنی اولیه و ثانویه) را به دنبال دارد که موجب مقاومت بهتر جوجه‌ها در برابر بیماری می‌گردد (Yi et al., 2005). بنابراین، کاهش نیافتن وزن نسبی تیموس در تیمارهای تحت تزریق، می‌تواند نشان‌دهنده نبود تنش ناشی از گرسنگی پس از هچ در جوجه‌ها باشد. اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین وزن نسبی بورس فابریسیوس در چهل و دومین روز پرورش معنادار بود ($P < 0.05$) (جدول ۵). کمترین میانگین وزن نسبی بورس فابریسیوس در چهل و دومین روز پرورش به تیمار بدون تزریق مربوط بود. نتایج حاصل از میانگین وزن نسبی بورس فابریسیوس با نتایج تحقیقات Dibner et al. (2008) مشابه است، اما با نتایج Hajihosaini (2004)، Herfiana (2007) و Kadam et al. (2008) مطابقت ندارد. تحقیقات نشان می‌دهند که دسترسی زود هنگام به

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی طحال، تیموس و بورس در جدول ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این پژوهش، تزریق انواع مواد غذایی در کیسه زرده اثر معناداری بر وزن نسبی طحال، در بازه‌های زمانی مختلف نداشت (جدول ۵). نتایج پژوهش حاضر با نتایج Kadam et al. (2008) مشابه بود.

اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین وزن نسبی تیموس در روز هفتم دوره پرورش معنادار بود ($P < 0.05$) (جدول ۵). در این سنین کمترین وزن نسبی تیموس در تیمار بدون تزریق و بیشترین آن در تیمار دکستروز ۱۰ درصد مشاهده شد. نتایج حاصل با نتایج تحقیقات Herfiana (2007) و Tasharofi et al. (2005) مشابه است، اما در آزمایش‌های Kadam et al. (2008) و Hajihosaini (2004) تزریق مواد مغذی بر میانگین وزن نسبی تیموس تأثیری نداشت. عملکرد تیموس و سلول‌های تولیدی از این اعضا ممکن است در اثر کمبودهای مواد مغذی و استرس‌های شدید دچار تغییر و تحول شود. بلوغ و فعالیت بیشتر سیستم ایمنی، به تکثیر

و نسبت طول پرز به عمق کریپت جوجه‌ها در سه‌روزگی در جدول ۶ گزارش شده است. در ارتباط با تأثیر تزریق مواد غذایی مختلف بر میانگین طول پرز اختلاف معناداری مشاهده شد ($P < 0.05$). کمترین میانگین طول پرز در تیمار بدون تزریق مشاهده شد که با تیمارهای تزریق دکستروز ۱۰ درصد و اسید آمینه اختلاف معناداری داشت. بیشترین میانگین طول پرز در تیمار تزریق دکستروز ۱۰ درصد مشاهده گردید. *Mousavi et al.* (2008) و *Tako et al.* (2004) گزارش کردند که تزریق گلوتامین، دکستروز و مخلوط ساکارز و دکستروز به کیسه آمینون در انتهای دوره جنینی سبب افزایش طول پرزها می‌گردد. همچنین تزریق مواد مغذی، تفاوت معناداری را در عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت تیمارهای مختلف ایجاد نکرد ($P > 0.05$). البته در این آزمایش به لحاظ عددی، در تیمار تزریق دکستروز ۱۰ درصد، بیشترین نسبت طول پرز به عمق کریپت نیز مشاهده شد.

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 (*Dibner et al.*, 1998). گرسنه‌ماندن 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 به شروع هرچه سریع‌تر مصرف غذا وابسته است تا ایمنی در مخاطات تکامل یابد و پرنده را در برابر ورود بیماری‌ها از راه دستگاه تنفسی که از راه‌های عمده ورود آلودگی است، محافظت کند. 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 (*Yi et al.*, 2005).

طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت ژنوم

اثر تزریق مواد مغذی مختلف بر طول پرز، عمق کریپت

جدول ۵. اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر وزن نسبی طحال، تیموس و بورس فابریسیوس در سنین مختلف (درصد وزن بدن)

تیمار							
P-value	SEM	بدون تزریق	دکستروز ۲۰ درصد	دکستروز ۱۰ درصد	اسید آمینه	آب مقطر	سن (روز)
وزن نسبی طحال در سنین مختلف (درصد وزن بدن)							
۰/۲۸۸	۰/۰۰۶	۰/۰۱۸	۰/۰۲۷	۰/۰۳۴	۰/۰۳۸	۰/۰۳۱	۱
۰/۵۸۵	۰/۰۱۲	۰/۰۲۲	۰/۰۲۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۲	۰/۰۴۶	۳
۰/۰۸۵	۰/۰۰۴	۰/۰۴۹	۰/۰۵۷	۰/۰۶۳	۰/۰۶۷	۰/۰۵۲	۷
۰/۶۳۱	۰/۰۱۱	۰/۰۷۲	۰/۰۸۵	۰/۰۹۲	۰/۰۷۳	۰/۰۹۱	۱۴
۰/۱۴۱	۰/۰۰۸	۰/۰۹۵	۰/۱۱۰	۰/۱۰۳	۰/۱۱۷	۰/۰۸۳	۴۲
وزن نسبی تیموس در سنین مختلف (درصد وزن بدن)							
۰/۵۴۸	۰/۰۱۹	۰/۰۹۳	۰/۰۹۴	۰/۱۳۰	۰/۱۰۱	۰/۰۸۴	۱
۰/۹۶۹	۰/۰۳۶	۰/۱۹۱	۰/۱۹۶	۰/۲۱۶	۰/۱۸۸	۰/۱۸۱	۳
۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۳	۰/۱۵۰ ^d	۰/۲۹۲ ^b	۰/۴۱۳ ^a	۰/۲۴۰ ^{bc}	۰/۲۰۹ ^{cd}	۷
۰/۵۳۹	۰/۰۴۲	۰/۳۵۸	۰/۴۱۶	۰/۳۳۴	۰/۳۱۸	۰/۰۲۳	۱۴
۰/۷۵۶	۰/۰۲۸	۰/۱۸۸	۰/۲۲۲	۰/۱۶۹	۰/۲۰۰	۰/۱۹۹	۴۲
وزن نسبی بورس فابریسیوس در سنین مختلف (درصد وزن بدن)							
۰/۰۰۵۳	۰/۰۱۲	۰/۱۰۴	۰/۱۶۸	۰/۱۰۳	۰/۱۵۱	۰/۰۹۰	۱
۰/۲۱۸	۰/۰۱۲	۰/۰۹۱	۰/۰۹۱	۰/۰۸۰	۰/۰۶۴	۰/۰۵۳	۳
۰/۲۹۰	۰/۰۱۹	۰/۱۰۳	۰/۱۵۷	۰/۱۴۲	۰/۱۵۴	۰/۱۱۶	۷
۰/۱۴۸	۰/۰۳۹	۰/۲۴۲	۰/۲۲۷	۰/۲۱۱	۰/۱۸۲	۰/۲۲۸	۱۴
۰/۰۰۱	۰/۲۶۷	۰/۱۴۴ ^b	۲/۲۳ ^a	۱/۶۹ ^a	۲/۰۰ ^a	۱/۹۹ ^a	۴۲

a,b,c,d میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، اختلاف معناداری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

SEM: انحراف استاندارد از میانگین.

بررسی‌های پیشین نشان داده است که تغذیه بلافاصله بعد از مرحله تفریح، تکامل ریخت‌شناسی روده کوچک را تسریع می‌کند (Noy & Sklan, 1998)، در حالی که تأخیر در دسترسی به غذا از تکامل لایه موکوسی روده کوچک جلوگیری می‌کند (Uni et al., 1998). همچنین مشخص شد که تأخیر در دسترسی به آب و غذا به رشد و توسعه روده آسیب زده که این تأخیر به کاهش طول پرزها و سطح جذب روده و نیز کاهش اندازه کریپت‌ها، نسبت کریپت‌ها به پرزها و سرعت انتقال انتروسیست‌ها خواهد انجامید (Geyra et al., 2001a). تغذیه جنینی کربوهیدرات می‌تواند رشد و توسعه دستگاه گوارش از طریق افزایش تکثیر و تمایز انتروسیست‌ها (Tako et al., 2004) یا کاهش پروتئین (Ostaszewski & Nissen, 1988) را افزایش دهد. در آزمایش Uni et al. (1998) محرومیت غذایی اولیه موجب کاهش رشد و نمو موکوس روده شد، ولی پس از یک تا دو هفته، رشد و نمو روده‌ها به وضعیت طبیعی بازگشت. بر طبق گزارش Tako et al. (2004) تأثیر تزریق کربوهیدرات‌ها بر رشد و توسعه روده، ۴۸ ساعت پس از تفریح دارای بیشترین مقدار است.

جدول ۶. اثر تزریق مواد غذایی مختلف بر طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت در سه‌روزگی

P-value		SEM		تیمار		آب مقطر		
		بدون تزریق	دکستروز ۲۰ درصد	دکستروز ۱۰ درصد	اسید آمینه			
۰/۰۵۰	۱۴/۴۶	۲۰۳/۸۳ ^b	۲۴۸/۸۳ ^{ab}	۲۷۳/۸۷ ^a	۲۵۸/۸۷ ^a	۲۴۴/۹۷ ^{ab}		ارتفاع پرزها (میکرومتر)
۰/۵۹۶	۲/۲۷	۳۰/۵۳	۳۲/۲۰	۳۵/۷۳	۳۳/۸۶	۳۳/۳۰		عمق کریپت (میکرومتر)
۰/۸۲۴	۰/۶۸۴	۶/۸۱	۷/۷۳	۷/۷۸	۷/۷۴	۷/۳۷		نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت

SEM: انحراف استاندارد از میانگین.

a,b,c میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، اختلاف معناداری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت آقای مهندس بذرافشان، مدیریت محترم داخلی کارخانه جوجه‌کشی ماهان که نهایت همکاری را در این پروژه داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که تزریق داخل تخم‌مرغی مواد مغذی می‌تواند در بهبود عملکرد، ایمنی جوجه‌ها و رشد پرزها مؤثر باشد و در بین مواد مغذی، احتمالاً تزریق دکستروز ۱۰ درصد سودمندتر خواهد بود.

REFERENCES

- Acar, N., Patterson, P. & Barbato, G. (2001). Appetite suppressant activity of supplemental dietary amino acids and subsequent compensatory growth of broilers. *Poultry Science*, 80, 1215-1222.
- 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, 171-174.
- Aviagen. (2007). *Nutrition Specification for Ross 308*. Aviagen Limited, Newbridge Scotland.
- Bhanja, S., Mandal, A., Agarwal, S., Majumdar, S. & Bhattacharyya, A. (2007). Effect of in ovo injection of vitamins on the chick weight and post-hatch growth performance in broiler chickens. In: *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*, Strasbourg, France, 26-30 August. pp. 143-146.
- Burley, R. & Vadehra, V. (1989). *The avian egg: chemistry and biology*, John Wiley & Sons Inc. New York.
- Christensen, V., Grimes, J., Donaldson, W. & Lerner, S. (2000). Correlation of body weight with hatchling blood glucose concentration and its relationship to embryonic survival. *Poultry Science*, 79, 1817-1822.
- Dibner, J. & Richards, J. (2004). The digestive system: Challenges and opportunities. *The Journal of Applied Poultry Research*, 13, 86-93.

8. Dibner, J., Knight, C. Kitchell, M., Atwell, C., Downs, A. & Ivey, F. (1998). Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 425-436.
9. Dibner, J., Richards, J. & Knight, C. (2008). Microbial imprinting in gut development and health. *The Journal of Applied Poultry Research*, 17, 174-188.
10. Ebrahimnezhad, Y., Salmanzadeh, M., Aghdamshahryar, H., Beheshti, R. & Rahimi, H. (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, 347-351.
11. Geyra, A., Uni, Z. & Sklan, D. (2001a). Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80, 776-782.
12. Geyra, A., Uni, Z. & Sklan, D. (2001b). The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *British Journal of Nutrition*, 86, 53-61.
13. Hajihosaini, M. & Mottaghitalab, M. (2004). Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on hatchability and growth of hatched chickens. *Journal of Agriculture Science*, 1, 23-31. (in Farsi)
14. Hajihosaini, M. (2004). *Effect of Amino Acid Injection in Broiler Breeder Eggs on Growth and Performance of Hatched Chickens*. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Iran. (in Farsi)
15. Hazelwood, R. & Lorenz, F. (1959). Effects of fasting and insulin on carbohydrate metabolism of the domestic fowl. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 197, 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*. M.Sc. dissertation, Department of Animal Sciences. *Institut Pertanian Bogor, Indonesia*.
17. Højby, M., Aulie, A. & Bjornes, P.O. (1987). Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Physiology*, 86, 91-94.
18. Kadam, M., Bhanja, S., Mandal, A., Thakur, R., Vasani, P., Bhattacharyya, A. & Tyagi, J. (2008). Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *British poultry science*, 49, 736-741.
19. Kidd, M. T., Taylor, J. W., Page, C., Lott, B. D. & Chamblee, T. N. (2007). Hatchery feeding of starter diets to broiler chicks. *The Journal of Applied Poultry Research*, 16, 234- 239.
20. Lopez, G. & Leeson, S. (1995). Response of broiler breeders to low-protein diets. 1. Adult breeder performance. *Poultry Science*, 74, 685-695.
21. Lu, J., McMurtry, J. & Coon, C. (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, 673-683.
22. Mousavi, S. N., Shivazad, M., Chamani, M., Sadeghi, E. A. & Lotf elahiyan, H. (2008). Study of *in Ovo* feeding as an early nutrition method. *Iranian Journal of Dynamic agriculture*, 5, 417-425. (in Farsi).
23. Noy, Y. & Sklan, D. (1998). Yolk utilisation in the newly hatched poult. *British poultry science*, 39, 446-451.
24. Noy, Y. & Sklan, D. (1999). Different types of early feeding and performance in chicks and poults. *The Journal of Applied Poultry Research*, 8, 16-24.
25. Noy, Y. & Sklan, D. (2001). Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80, 1490-1495.
26. Ohta, Y. & Kidd, M. (2001). Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs. *Poultry Science*, 80, 1425-1429.
27. Ohta, Y., Kidd, M. & Ishibashi, T. (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, 1430-1436.
28. Ohta, Y., Tsushima, N., Koide, K., Kidd, M. & Ishibashi, T. (1999). Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poultry Science*, 78, 1493-1498.
29. Ostaszewski, P. & Nissen, S. (1988). Effect of hyperglucagonemia on whole-body leucine metabolism in immature pigs before and during a meal. *American Journal of Physiology*, 254, 372-377.
30. Petek, M., Yilmaz, E. & Cibik, R. (2007). Effect of first feed intake time on broiler performance and carcass traits. *Journal of Applied Animal Research*, 32, 203-206.
31. Pilarski, R., Bednarczyk, M., Lisowski, M., Rutkowski, A., Bernacki, Z., Wardenńska, M. & Gulewicz, K. (2005). Assessment of the effect of α -galactosides injected during embryogenesis on selected chicken traits. *Folia boii*, 53, 13-20.
32. SAS Institute, 2005. Statistical Analysis System, version 9.1 (release TS1M3). SAS Institute Inc., Cary North Carolina United States.
33. Sturkie, P. D. (1986). *Avian Physiology*. 4th ed., Springer Science.

34. Tako, E., Ferket, P. R. & Uni, Z. (2004). Effect of in ovo feeding of carbohydrates and β -Hydroxy- β -Methyl butyrate and carbohydrate on the development of chicken intestine. *Poultry Science*, 83, 2023-2028.
35. Tasharofi, S. (2012). *Effect of in-ovo injection of protein, amino acids and carbohydrate on performance, growth of digestive tract and immune system in broilers*. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Tehran, Iran. (in Farsi)
36. Tasharofi, S. & Rahimi, S. (2005). Comparison of early feeding and antibiotic on performance, growth of digestive tract and development of immune system. In: *Proceedings of World Poultry Congress*, Turkey.
37. Uni, Z., Ferket, P., Tako, E. & Kedar, O. (2005). In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science*, 84, 764-770.
38. Uni, Z., Ganot, S. & Sklan, D. (1998). Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, 77, 75-82.
39. Vieira, S. & Moran, E. (1999). Effects of delayed placement and used litter on broiler yields. *The Journal of Applied Poultry Research*, 8, 75-81.
40. Yi, G., Allee, G., Knight, C. & Dibner, J. (2005). Impact of glutamine and oasish hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, 84, 283-293.
41. Zhai, W., Rowe, D.E. & Peebles, E.D. (2001). Effects of commercial in ovo injection of carbohydrates on broiler embryogenesis. *Poultry Science*, 90, 1295-1301.