اثر تزریق داخل تخم‌مرغی ال – گلوتامین بر عملکرد رشد قبل و پس از تفریخ، مورفولوژی روده و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی

مجید قشلاق علیایی[1*]، ابوالقاسم گلیان[2]، محمد رضا باسامی[3]، علیرضا حق پرست[3] و علیرضا هروی موسوی[2]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۳۱

[1] استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

[2] به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

[3] به ترتیب استادیاران گروه بهداشت و پیشگیری بیماری‌های طیور و گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

[*] مسئول مکاتبه: majidolyayee@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر تزریق داخل تخم‌مرغی اسید آمینهٔ ال – گلوتامین بر عملکرد رشد قبل و پس از تفریخ، صفات لاشه، خصوصیات مورفولوژی ژژنوم و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی بود. در این تحقیق از ٤٨٠ تخم‌مرغ بارور مادر گوشتی راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٦ گروه آزمایشی، ٤ تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ تخم‌مرغ استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل شاهد (بدون تزریق)، شاهد با تزریق آب استریل، تزریق محلول ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤۰ میلی‌گرم گلوتامین در یک میلی لیتر آب استریل در روز ۱۷/۵ جنینی از قسمت پهن تخم‌مرغ به مایع آمنیوتیک بود. پس از تفریخ، از هر تکرار ۱۰ جوجه به قفس‌های گوشتی منتقل و تا سن ٤۲ روزگی پرورش یافتند. نتایج این تحقیق نشان داد وزن تفریخ و افزایش وزن روزانه در گروه دریافت کنندهٔ محلول ٤۰ میلی‌گرم گلوتامین در مقایسه با گروه شاهد به ترتیب ۳/٦ و ۳/۸ درصد بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). تغذیه جنینی گلوتامین وزن نسبی عضلات سینه در ۲٤ روزگی را ارتقاء داد ($P<۰/۰۵$)، ولی بر وزن نسبی کبد، سنگدان و قلب تأثیر معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). در مقایسه با گروه شاهد، تزریق داخل تخم‌مرغی گلوتامین ارتفاع ویلی و عمق کریپت ژژنوم جوجه‌های گوشتی ۳ و ۲٤ روزگی را افزایش داد. پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی با تغذیه جنینی ٤۰ میلی‌گرم گلوتامین نسبت به گروه شاهد بهبود یافت. نتایج حاصله پیشنهاد می‌کند که تزریق ٤۰ میلی‌گرم ال – گلوتامین به مایع آمنیوتیک جنین‌های درحال رشد می‌تواند وزن جوجه‌های تفریخ شده، افزایش وزن روزانه، خصوصیات مورفولوژیک روده و پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: تزریق داخل تخم‌مرغ، جوجه درآوری، سیستم ایمنی، گلوتامین، مورفولوژی روده

مقدمه

تخم‌مرغ ظرفی بیولوژیکی است که اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، مواد معدنی و ویتامین‌های مورد نیاز برای رشد و نمو جنین را از مرحله تشکیل زیگوت تا تبدیل آن به جوجه فراهم می‌کند (ضمیری ۱۳۸۰). مواد مغذی مورد نیاز جنین تا قبل از تخم‌گذاری توسط مادر

تأمین می‌شود، بنابراین با خروج تخم از بدن مادر، جنین پرندگان فقط به مواد مغذی موجود در تخم دسترسی دارند (فوی و همکاران ۲۰۰٦). تحقیقات زیادی به منظور بهبود رشد و نمو جنین از طریق دستکاری مواد مغذی تخم‌مرغ صورت گرفته است (المورانی ۱۹۸۲، اوتا و کید ۲۰۰۱، اوتا و همکاران ۱۹۹۹ و تاکو و همکاران ۲۰۰٤). شارما و بورمستر (۱۹۸۲) روش موفقیت آمیزی برای تزریق داخل تخم‌مرغی داروها، واکسن‌ها و مواد مغذی در طی دوران جوجه‌کشی معرفی کردند و برای اولین بار واکسیناسیون داخل تخم‌مرغی را بر علیه بیماری مارک مورد استفاده قرار دادند. فن‌آوری تزریق داخل تخم‌مرغی نه تنها روشی برای واکسیناسیون پرندگان بر علیه برخی از بیماری‌ها است، بلکه روش عملی در تزریق برخی از مواد مغذی مورد نیاز جنین‌های در حال رشد است (مایورانو و همکاران ۲۰۱۲، یونی و همکاران ۲۰۰۵، فوی و همکاران a ,b ۲۰۰۵، ژای و همکاران ۲۰۰۸، کرالاپوراث و همکاران ۲۰۱۰ و جزیده و همکاران ۱۳۹۰). اصطلاح تغذیه داخل تخم‌مرغی[1] یا تغذیه جنینی به تأمین مواد مغذی مورد نیاز جنین‌های در حال رشد جوجه‌ها قبل از تفریخ اطلاق می‌گردد (فرکت و همکاران ۲۰۰۵). هدف از تزریق مواد مغذی به داخل تخم‌مرغ، بهبود وضعیت تغذیه‌ای جنین، افزایش قابلیت جوجه درآوری، ازدیاد انرژی قابل دسترس جنین، افزایش وزن تفریخ و ارتقاء عملکرد پرندگان پس از تفریخ می‌باشد که طی آن منابع مختلفی از پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی از طریق تزریق در کیسهٔ زرده، مایع آمنیون و اتاقک هوایی در اختیار جنین‌های در حال رشد قرار می‌گیرد (یونی و فرکت ۲۰۰٤، یونی و همکاران ۲۰۰۵، فرکت و همکاران ۲۰۰۵، اوتا و همکاران ۱۹۹۹ و اوتا و کید ۲۰۰۱). گلوتامین و گلوتامات در مجموع حدود ١٤ درصد از پروتئین تخم‌مرغ را تشکیل می‌دهند. این اسیدهای آمینه در گلوکونئوژنز و سنتز اسیدهای آمینهٔ غیر ضروری شرکت دارند و به عنوان پیش ساز سنتز بازهای پورینی و پیریمیدینی و قندهای آمینی هستند (وو ۲۰۰۹). گلوتامین جزء اسیدهای آمینهٔ گلوکوژنیک و فراوان‌ترین اسیدآمینهٔ موجود در پلاسمای خون، عضلات و سلول‌های جنینی است. از لحاظ تغذیه‌ای گلوتامین جزء اسیدهای آمینهٔ غیر ضروری تقسیم بندی می‌گردد؛ ولی شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در شرایط تنش و یا در دورهٔ رشد سریع بافت‌های بدن ممکن است سنتز اندوژنوس گلوتامین احتیاجات حیوانات را تأمین نکند، بنابراین در این شرایط به آن اسید آمینهٔ ضروری مشروط می‌گویند (وو ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ و لی و همکاران ۲۰۰۷). گلوتامین منبع اصلی انرژی برای سلول‌های با سرعت تکثیر زیاد از قبیل سلول‌های روده، لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های کلیه است (فلاحرتی و هیس ۱۹۹۹، فرانسیس و ریچارد ۲۰۰۲، گریمبل ۲۰۰۱، لاکی و ویلمور ۱۹۹۰ و نیوشولم و همکاران ۲۰۰۳). المورانی (۱۹۸۲) برای اولین بار با تزریق داخل تخم‌مرغی مخلوطی از اسیدهای آمینه در روز هفتم جوجه‌کشی مشاهده کرد وزن بدن پرندگان هنگام تفریخ بهبود می‌یابد. اثرات مثبت تغذیه جنینی با تزریق درون تخم‌مرغی محلول‌های حاوی نمک، ساکارز، مالتوز و دکسترین (یونی و فرکت ۲۰۰٤، یونی و همکاران ۲۰۰۵)، بتا هیدروکسی بتا متیل بوتیرات (تاکو و همکاران ۲۰۰٤)، آرژنین (فوی و همکاران a, b ۲۰۰۵)، متیونین – روی (تاکو و همکاران ۲۰۰۵)، مخلوطی از اسیدهای آمینه (اوتا و کید ۲۰۰۱) و ال –کارنیتین (ژای و همکاران ۲۰۰۸) مشاهده شده است. تغذیه داخل تخم‌مرغی علاوه بر افزایش وزن تفریخ پرندگان، می‌تواند موجب افزایش قدرت جوجه درآوری (یونی و فرکت ۲۰۰٤ و یونی و همکاران ۲۰۰۵)، بهبود و توسعهٔ خصوصیات موفولوژیک دستگاه گوارش و به ویژه روده کوچک (یونی و فرکت ۲۰۰٤ و تاکو و همکاران ۲۰۰٤)، افزایش تولید میوسین در دستگاه گوارش (تاکو و همکاران

[1] In ovo feeding (IOF)

۲۰۰٤)، افزایش بیان ژن‌ها و فعالیت بیولوژیک آنزیم‌های سلول‌های مخاط روده (کادام و همکاران ۲۰۰۸، تاکو و همکاران ۲۰۰٤ و بانجا و مندال ۲۰۰۵)، افزایش بیان ژن‌های تولید کنندهٔ ناقلین مواد مغذی در روده (فوی و همکاران b ۲۰۰۵)، افزایش ذخایر گلیکوژنی کبد (یونی و فرکت ۲۰۰٤)، افزایش اندازهٔ عضلات جوجه‌ها هنگام تفریخ (یونی و همکاران ۲۰۰۵)، افزایش ظرفیت هضمی و بهبود عملکرد سیستم ایمنی (بانجا و مندال ۲۰۰۵ و کادام و همکاران ۲۰۰۸) گردد.

هدف از این پژوهش بررسی اثرات تزریق داخل تخم‌مرغی اسید آمینهٔ ال – گلوتامین در مرحلهٔ آخر جوجه‌کشی بر عملکرد رشد قبل و پس ازتفریخ، صفات لاشه، مورفولوژی ژژنوم و پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

جوجه‌کشی: تخم‌مرغ‌های بارور با اندازهٔ استاندارد از مرغ‌های مادر گوشتی شرکت سیمرغ خراسان (سن ٤۲ هفتگی) جمع‌آوری شد. به منظور اطمینان از محل دقیق تزریق، قبل از شروع آزمایش با استفاده از نوربینی محل مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌ها در روز هفدهم جنینی مشخص و سپس یک مادهٔ رنگی (مرکب هندی) توسط سرنگ از قسمت پهن تخم‌مرغ وارد و محل دقیق تزریق مشخص شد. در شروع آزمایش ٤۸۰ تخم‌مرغ بارور سویه گوشتی راس ۳۰۸ به طور انفرادی وزن‌کشی و به صورت تصادفی در ٦ گروه آزمایشی توزیع و در سینی‌های دستگاه جوجه‌کشی[1] تجاری قرار گرفتند. در هر گروه آزمایشی ۲۰ عدد تخم‌مرغ با وزن مشابه در ٤ تکرار قرار گرفت. در روز ۱۵ جوجه‌کشی با استفاده از نوربینی تخم‌مرغ‌های با جنین مرده مشخص و حذف گردیدند. در روز ۱۷/۵ جوجه‌کشی به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ‌ها محلول‌های زیر توسط سرنگ با سوزن[2] شماره ۲۳ (۲۵ میلی‌متر طول) تزریق شد. گروه ۱) بدون تزریق (شاهد)، گروه ۲) تزریق یک میلی‌لیتر آب استریل، گروه ۳) تزریق یک میلی‌لیتر محلول حاوی ۱ درصد گلوتامین (۱۰ میلی‌گرم گلوتامین در یک میلی‌لیتر آب استریل)، گروه ٤) تزریق یک میلی‌لیتر محلول حاوی ۲ درصد گلوتامین (۲۰ میلی‌گرم گلوتامین در یک میلی‌لیتر آب استریل)، گروه ۵) تزریق یک میلی‌لیتر محلول حاوی ۳ درصد گلوتامین (۳۰ میلی‌گرم گلوتامین در یک میلی‌لیتر آب استریل)، گروه ٦) تزریق یک میلی‌لیتر محلول حاوی ٤ درصد گلوتامین (٤۰ میلی‌گرم گلوتامین در یک میلی‌لیتر آب استریل). pH تمام محلول‌های تزریقی با استفاده از هیدروکسید سدیم در ۷ تنظیم و تا روز تزریق در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. هنگام تزریق محلول‌ها تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم شدند. پس از اتمام تزریق، محل آن با الکل ضدعفونی و با استفاده از چسب مسدود گردید و سپس تخم‌مرغ‌های تزریق شده به سینی‌های جوجه‌کشی منتقل شدند. عمل تزریق هر یک از گروه‌های آزمایشی در حدود ۱۵ دقیقه و در داخل اتاق جوجه‌کشی و در دمای مشابه با دمای ستر صورت گرفت. در روز ۱۹ تخم‌مرغ‌های تزریق شده طبق برنامه جوجه‌کشی از ستر به هچری منتقل و بعد از ۵۰ ساعت جوجه‌های تفریخ شده از دستگاه خارج و پس از شمارش و وزن‌کشی جوجه‌های تفریخ شده، تعداد ۱۰ قطعه جوجه یکروزه (مخلوط نر و ماده) برای هر یک از تکرارهای گروه‌های آزمایشی انتخاب و بلافاصله به واحد پرورش منتقل شدند. اسید آمینهٔ ال- گلوتامین مورد استفاده در این مطالعه از شرکت اوونیک[3] آلمان تأمین شد.

مدیریت و پرورش جوجه‌های گوشتی: کلیه مراحل مزرعه‌ای این تحقیق در ایستگاه تحقیقات دام و طیور

[1] Petersime 57600

[2] B Braun Disposable needle

[3] Evonik industries

دانشگاه فردوسی مشهد صورت گرفت. پس از ضد عفونی و آماده سازی سالن پرورش، تعداد ۲٤۰ قطعه جوجه یکروزهٔ سویهٔ تجاری راس ۳۰۸ (مخلوط نر و ماده) در ۲٤ واحد آزمایشی مربوطه و در قفس‌های به ابعاد ٦۰ ×۱۲۰×۱۰۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. پرندگان در کل دورهٔ آزمایش دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. برنامهٔ پرورشی، بهداشتی و واکسیناسیون پرندگان با استفاده از راهنمای مدیریت پرورش راس ۳۰۸ (۲۰۰۷) و زیر نظر دامپزشک انجام گرفت.

طرح و جیره‌های غذایی آزمایشی: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ٦ تیمار، ٤ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار انجام گرفت. تمام گروه‌های آزمایشی پس از انتقال از واحد جوجه‌کشی به واحد پرورش با جیره‌های غذایی یکسان که بر اساس نیازهای غذایی توصیه راس ۳۰۸ (۲۰۰۷) برای دورهٔ آغازین (صفر تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲٤ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ٤۲ روزگی) تنظیم شده بود، تغذیه شدند. درصد اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی مواد مغذی جیرهٔ غذایی آزمایشی پرندگان در جدول ۱ نشان داده شده است.

عملکرد رشد پس از تفریخ، صفات لاشه و مورفولوژی روده: به منظور بررسی عملکرد رشد پس از تفریخ، در پایان هر دورهٔ آزمایشی وزن جوجه‌ها و خوراک مصرفی مربوط به هر واحد آزمایشی به صورت گروهی اندازه‌گیری شد. متوسط مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه بر اساس مرغ روز محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک به صورت گرم خوراک مصرفی به گرم افزایش وزن روزانه محاسبه شد. برای بررسی صفات لاشه و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در روز ۲٤ آزمایش پس از اعمال ٤ ساعت گرسنگی، از هر تکرار یک قطعه جوجه نر بر اساس متوسط وزن هر واحد به صورت تصادفی انتخاب، وزن‌کشی و کشتار گردید و وزن سنگدان، کبد بدون صفرا، قلب، پانکراس، عضلات سینه، ران‌ها، بال‌ها و چربی محوطه شکمی و تیموس (۳ لوپ ابتدایی سمت راست)، طحال و بورس فابریسیوس با استفاده از ترازوی دیجیتال و با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و سپس با تقسیم وزن‌های حاصل به وزن پرنده، وزن نسبی آن‌ها محاسبه گردید. در روز سوم و ۲٤ آزمایش پس از اعمال ٤ ساعت گرسنگی از هر تکرار بر اساس متوسط وزن هر واحد آزمایشی یک پرنده نر به صورت تصادفی انتخاب، توزین و کشتار گردید و وزن نسبی قسمت‌های مختلف روده کوچک (دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و کل روده کوچک) اندازه‌گیری شد. برای بررسی خصوصیات مورفولوژی روده در روز ۳ و ۲٤ آزمایش از قسمت میانی ژژنوم حدود ۱/۵ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد و پس از شستشو با سالین ۰/۸۵ درصد، در داخل محلول تثبیت کننده (فرمالین ۱۰ درصد) به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت و پس از ۲٤ ساعت آن محلول تعویض و تا روز آماده سازی نمونه‌ها داخل فرمالین قرار گرفتند. ارتفاع ویلی (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عمق کریپت، نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت، عرض ویلی و ضخامت لایه عضلانی بر حسب میکرومتر (μm) با استفاده از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر[1] اندازه‌گیری شد.

بررسی عملکرد سیستم ایمنی: برای بررسی ایمنی هومورال از تست گلبول قرمز گوسفندی[2] استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر خون گوسفند در شیشه حاوی EDTA تهیه و پس از سه بار شستشو با بافر فسفات سالین ۰/۹ درصد، در نهایت یک محلول ۱۰ درصد تهیه گردید. سپس دو جوجه از هر واحد آزمایشی به صورت تصادفی انتخاب و در روز هجدهم (تزریق اولیه) ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد SRBC و در روز سی‌ام (تزریق ثانویه) ۱ میلی‌لیتر از آن محلول داخل ورید بال تزریق شد. برای اندازه‌گیری پاسخ آنتی-بادی علیه SRBC به روش هماگلوتیناسیون، در روز بیست و چهارم و سی‌ام (پاسخ ایمنی اولیه) و روز سی‌و

[1] OLYMPUS BX41
[2] Sheep red blood cell (SRBC)

ششم و چهل و دوم (پاسخ ایمنی ثانویه) خونگیری شد. جهت بررسی پاسخ ایمنی به تزریق واکسن نیوکاسل، در روز چهارم و یازدهم واکسن بصورت قطره چشمی اعمال و سپس در روز ۳۵ و ٤١ خونگیری انجام و عیار سرمی آنتی‌بادی تولید شده بر علیه ویروس نیوکاسل با استفاده از روش ممانعت هماگلوتیناسیون تعیین شد. برای بررسی فعالیت ایمنی سلولی از واکنش حساسیت پوستی بازوفیلیک[1] به لکتین فیتوهماگلوتینین ناشی از *Phaseolus vulgaris*[2] (PHA-P) استفاده گردید. بدین منظور در روز ۲۲ آزمایش ۲ قطعه جوجه از هر تکرار بصورت تصادفی انتخاب و ضخامت پرده بین انگشت سوم و چهارم پای راست آنها توسط میکرومتر دیجیتال اندازه‌گیری و فوراً به صورت زیرپوستی ۱۰۰ میکروگرم PHA-P محلول در ۰/۱ میلی‌لیتر سالین استریل تزریق گردید. پاسخ التهابی پرندگان به عنوان پاسخ ایمنی سلولی با اندازه‌گیری دوباره ضخامت پرده پا پس از٢٤ و ٤٨ ساعت از تزریق PHA-P (روز ۲۳ و ٢٤ آزمایش)، و اختلاف تورم ایجاد شده در ساعات ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از تزریق محاسبه شد.

تجزیه آماری: داده‌های بدست آمده از این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخهٔ ۹/۱ (۲۰۰۳) و رویه مدل عمومی خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تیتر آنتی‌بادی از رویه GENMOD استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر تزریق سطوح مختلف اسید آمینهٔ ال – گلوتامین بر قابلیت جوجه درآوری، وزن جوجه‌های تفریخ شده و نسبت وزن جوجه‌های تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ در جدول ۲ نشان داده شده است. تزریق سطوح مختلف گلوتامین تأثیر معنی‌داری بر وزن تفریخ جوجه‌ها داشت (P<۰/۰۵)، بطوریکه بیشترین وزن تفریخ با تزریق محلول دارای ٤٠ میلی‌گرم گلوتامین در میلی لیتر (٤١/١٣ گرم) و کمترین آن در گروه شاهد (تزریق آب استریل) مشاهده گردید (۳۹/۵۸ گرم). تغذیه جنینی سطوح مختلف اسید آمینهٔ ال – گلوتامین بر نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، بطوریکه نسبت وزن جوجه‌های تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ با افزایش مقدار تزریق گلوتامین به مایع آمنیوتیک جنین‌های در حال رشد افزایش یافت. وزن تفریخ پرندگان عامل مهمی در افزایش وزن نهایی جوجه‌های گوشتی می‌باشد. وزن تفریخ جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر اندازهٔ تخم‌مرغ و میزان پروتئین آن می‌باشد (المورانی ۱۹۸۲). با توجه به اینکه گلوتامین در سنتز بازهای پورینی و پیریمیدینی نقش دارد و این نوکلئوتیدها برای رشد سلول‌های با سرعت تکثیر بالا از قبیل سلول‌های سیستم ایمنی، سلول‌های جنینی و ترفوبلاست‌ها ضروری است (وو ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰)، می‌توان افزایش وزن تفریخ جوجه‌های گوشتی را به آن مرتبط دانست. تحقیقات متعددی نشان داده است که دسترسی جنین‌های درحال رشد به مواد مغذی برای رشد و توسعهٔ عضلات ضروری و مهم است (یونی و فرکت ٢٠٠٤، فرکت و همکاران ۲۰۰۵ و اوتا و همکاران ۱۹۹۹). تزریق برخی از مواد مغذی به مایع آمنیوتیک جنین‌های در حال رشد می‌تواند رشد و توسعهٔ دستگاه گوارش و توانایی آن برای هضم مواد مغذی را ارتقاء بخشد (فرکت و همکاران ۲۰۰۵). این نتایج با یافته‌های سایر محققین هماهنگی دارد (المورانی ۱۹۸۲، یونی و همکاران ۲۰۰۵، فرکت و همکاران ۲۰۰۵ و اوتا و همکاران ۱۹۹۹). در مطالعهٔ حاضر وزن تفریخ پرندگان با تزریق محلول ٤٠ میلی‌گرم گلوتامین در مقایسه با گروه شاهد (بدون تزریق)، ٣/٦ درصد افزایش یافت. یونی و فرکت (٢٠٠٤) گزارش کردند با تغذیهٔ جنینی وزن

[1] Cutanous basophil hypersensitivity (CBH)
[2] Phytohemagglutinin-P (PHA-P)

تفریخ پرندگان ۳ تا ۷ درصد افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش نسبت وزن تفریخ جوجه‌های گوشتی به وزن تخم‌مرغ‌های انکوبه شده می‌باشد. تزریق گلوتامین به داخل تخم‌مرغ‌های جوجه‌کشی تأثیر معنی‌داری بر میزان جوجه درآوری نداشت (P>۰/۰۵) که با نتایج کادام و همکاران (۲۰۰۸)، موسوی و همکاران (۱۳۸۷)، یونی و فرکت (۲۰۰٤) و یونی و همکاران (۲۰۰۵) مشابه ولی با نتایج المورانی (۱۹۸۲) و شارما و بورمستر (۱۹۸۲) هماهنگ نمی‌باشد.

جدول۱- ترکیب مواد خوراکی و میزان مواد مغذی جیره‌های غذایی آزمایشی در دورهٔ آغازین، رشد و پایانی

اجزای جیره (درصد)	آغازین (۱۰-۰ روزگی)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی)	پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)
ذرت	۵۲/۵۱	۵۶/۳۰	۶۱/۸۰
کنجاله سویا	۳۷/۲۹	۳۲/۵۰	۲۴/۷۵
گلوتن ذرت	۱/۳۵	۲/۲۸	۳/۸۵
روغن ذرت	۴	۴/۶۱	۵
دی کلسیم فسفات	۱/۷۵	۱/۵۱	۱/۴۲
سنگ آهک	۱/۳۲	۱/۲۲	۱/۱۹
دی ال متیونین	۰/۴۰	۰/۳۱	۰/۲۴
لیزین هیدروکلراید	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۳۵
نمک طعام	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵
مکمل ویتامینی – معدنی[1]	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
بی کربنات سدیم	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۵۵
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/kg)	۳۰۲۵	۳۱۰۰	۳۲۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۵	۲۱	۱۹
کلسیم (درصد)	۱	۰/۹	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۵	۰/۴۵	۰/۴۳
لیزین (درصد)	۱/۴۳	۱/۲۴	۱/۰۹
متیونین (درصد)	۰/۷۶	۰/۶۵	۰/۵۷
متیونین +سیستئین (درصد)	۱/۰۷	۰/۹۵	۰/۸۴
آرژنین (درصد)	۱/۴۵	۱/۲۷	۱/۰۸
ترئونین (درصد)	۰/۹۴	۰/۸۳	۰/۷۴
تعادل الکترولیتی[3] (mEq/kg)	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰

۱- مکمل ویتامینی و مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A (به شکل استات)، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله‌کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E (بصورت دی ال – آلفا توکوفرول)،۱۵ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K_3، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B_{12}، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین ، ۳۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیرودوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛اسید پنتوتنیک ،۸ میلی گرم ؛کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم؛ بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم.

۲- تعادل الکترولیتی بر حسب میلی اکی والان در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی بدین صورت محاسبه شد: $Na^+ + K^+ - Cl^-$

جدول ۲- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر وزن جوجه تفریخ شده، نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ و قابلیت جوجه درآوری

تیمار	وزن تخم‌مرغ (گرم)	وزن جوجه تفریخ شده (گرم)	وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ (درصد)	جوجه درآوری (درصد)
شاهد (بدون تزریق)	۵۷/۵۱	۳۹/۷۰^{bc}	۶۹/۰۳^{b}	۹۰
شاهد (تزریق آب استریل)	۵۷/۱۵	۳۹/۵۸^{c}	۶۹/۲۴^{b}	۹۱/۷۵
گلوتامین ۱۰	۵۷/۰۱	۴۰/۲۰^{abc}	۷۰/۱۹^{ab}	۹۳/۲۵
(میلی‌گرم به ۲۰	۵۷/۰۴	۴۰/۰۸^{abc}	۷۰/۲۷^{ab}	۸۸/۲۵
ازای هر ۳۰	۵۷/۲۲	۴۰/۸۷^{ab}	۷۱/۴۲^{a}	۹۱/۷۵
تخم‌مرغ) ۴۰	۵۷/۹۸	۴۱/۱۳^{a}	۷۰/۹۴^{a}	۹۲/۵
استاندارد خطا	۰/۱۵۳	۰/۱۸	۰/۲۴	۱/۳۱
درصد احتمال	ns	*	**	ns

a-c. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری باهم دارند (P<۰/۰۵).

* معنی‌داری در سطح ۵٪ ** معنی‌داری در سطح ۱٪ ns: غیر معنی‌دار

اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر عملکرد رشد پس از تفریخ در دوره آغازین، رشد و پایانی در جدول ۳ نشان داده شده است. تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر میزان مصرف خوراک روزانه در هر سه دورهٔ آزمایشی و کل دوره تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). افزایش وزن روزانه در دورهٔ آغازین، رشد و کل دورهٔ آزمایشی تحت تأثیر تغذیه جنینی قرار گرفت (P<۰/۰۵). در دورهٔ آغازین بیشترین میزان افزایش وزن روزانه در گروه تزریق شده با ۴۰ میلی‌گرم گلوتامین در دورهٔ جنینی مشاهده شد (۱۸/۹۷ گرم در روز) و کمترین میزان افزایش وزن بدن (۱۶/۷۷ گرم در روز) مربوط به گروه شاهد (تزریق آب استریل) بود. افزایش وزن روزانه در کل دورهٔ آزمایش تحت تأثیر تزریق سطوح مختلف گلوتامین قرار گرفت (P<۰/۰۵)، بطوریکه بیشترین مقدار افزایش وزن روزانه در گروه دریافت کنندهٔ محلول ۴۰ میلی‌گرم گلوتامین (۵۵/۴۶ گرم در روز) و کمترین آن (۵۲/۶۵ گرم در روز) در گروه شاهد (آب استریل)، مشاهده گردید. ضریب تبدیل خوراک در تمام دوره‌های آزمایشی بجز دورهٔ آغازین تحت تأثیر تزریق گلوتامین قرار نگرفت (P>۰/۰۵). این نتایج با گزارشات پیشین مطابقت دارد (یونی و فرکت، ۲۰۰۴، فرکت و همکاران ۲۰۰۵، فوی و همکاران a, b ۲۰۰۵، موسوی و همکاران ۱۳۸۷ و کرالاپوراث و همکاران ۲۰۱۰). کادام و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند تزریق داخل تخم‌مرغ می‌تواند افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک را در جوجه‌های گوشتی بهبود بخشد. فوی و همکاران (a۲۰۰۵) با تزریق مواد مغذی به جنین بوقلمون نشان دادند که تغذیه جنینی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های گوارشی سلول‌های مخاطی روده را حداکثر تا دو هفته پس از تفریخ افزایش دهد. با افزایش فعالیت آنزیم‌های سلول‌های مخاطی روده، عملکرد رشد پس از تفریخ پرندگان بهبود می‌یابد. تغذیه جنینی علاوه بر تأمین مواد مغذی برای رشد و توسعهٔ جنین می‌تواند بیان ژن‌هایی که رشد و توسعهٔ ظرفیت هضمی را کنترل می‌کنند را تحت تأثیر قرار داده (تاکو و همکاران ۲۰۰۵)، و موجب ارتقاء عملکرد رشد پرندگان پس از تفریخ گردد.

اثر تزریق گلوتامین بر وزن نسبی اندام‌های داخلی پرندگان از قبیل سنگدان، کبد بدون صفرا، قلب و پانکراس و صفات لاشه در سن ۲۴ روزگی در جدول ۴ نشان داده شده است. وزن نسبی سنگدان، کبد بدون صفرا، قلب و پانکراس تحت تأثیر تغذیه درون تخم‌مرغی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). تزریق داخل تخم‌مرغی گلوتامین تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی عضلات سینه و بازده لاشه داشت (P<۰/۰۵)، ولی بر وزن نسبی ران‌ها، بال‌ها،

چربی محوطه شکمی تأثیر نداشت (P>۰/۰۵). این نتایج با گزارشات سایر محققین هماهنگ بود (کادام و همکاران ۲۰۰۸، یونی و فرکت ۲۰۰۵ و اوتا و همکاران ۱۹۹۹). بافت عضلانی محل اصلی سنتز گلوتامین با منشاء داخلی می‌باشد و در انسان بیش از ۹۰ درصد کل ذخیرهٔ بدنی گلوتامین در عضلات قرار دارد (نیوشولم و همکاران ۲۰۰۳). افزایش غلظت گلوتامین پلاسما می‌تواند فعالیت ژن پروتئین کیناز mTOR را افزایش دهد، این پروتئین رشد، تمایز، زنده‌مانی و حرکت سلول و سنتز پروتئین درون سلولی را تنظیم می‌کند (وو ۲۰۱۰). بنابراین افزایش غلظت خارج سلولی گلوتامین می‌تواند سنتز پروتئین را تحریک کرده و از تجزیهٔ پروتئین عضلات بدن جلوگیری نماید (وو ۲۰۱۰)؛ که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین گلوتامین ممکن است افزایش سنتز و تجمع پروتئین در بافت‌های بدن و رشد دام را از طریق تحریک ترشح هورمون‌های آنابولیکی مانند انسولین و جلوگیری از تولید گلوکوکورتیکوئیدها اعمال کند (وو ۲۰۰۹).

جدول ۳- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره آغازین (۱۰-۰ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)

تیمار		مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز)				افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز)				ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)			
		۱۰-۰	۲۴-۱۱	۴۲-۲۵	۴۲-۱	۱۰-۰	۲۴-۱۱	۴۲-۲۵	۴۲-۱	۱۰-۰	۲۴-۱۱	۴۲-۲۵	۴۲-۱
شاهد (بدون تزریق)		۲۱/۱۵	٦٦/٦۰	۱٤۷/۱۵	۸۸/۲٤	۱٦/۹۳^{c}	٤۳/۸۷^{b}	۸۳/۲۸	۵۳/٤۱^{bc}	۱/۲۵^{ab}	۱/۵۰	۱/۷۷	۱/٦۵
شاهد (تزریق آب استریل)		۲۱/٦۰	٦۵/۸۳	۱٤٦/۵۳	۸۷/۵۱	۱٦/۷۷^{c}	٤۳/۲۷^{b}	۸۳/۰٦	۵۲/٦۵^{c}	۱/۲۹^{a}	۱/۵۳	۱/۷۷	۱/٦٦
گلوتامین (میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ)	۱۰	۲۲/۲٦	٦۷/۱٦	۱٤۵/۹٤	۸۸/۳۹	۱۷/۵۲^{bc}	٤٤/۸٦^{ab}	۸۳/٦٤	۵٤/٤۱^{abc}	۱/۲۷^{a}	۱/۵۰	۱/۷۵	۱/٦٤
	۲۰	۲۲/۲۱	٦٦/۷۷	۱٤٤/۷۰	۸۷/۸۰	۱۸/٦۰^{ab}	٤۳/۷۵^{b}	۸۳/۱۳	۵۳/۷۵^{bc}	۱/۱۹^{b}	۱/۵۲	۱/۷٤	۱/٦۳
	۳۰	۲۱/۵٦	٦۸/۰٦	۱٤۷/٦۰	۸۹/۲۷	۱۷/۹۱^{abc}	٤۵/٤۹^{ab}	۸۳/۷۲	۵٤/٤۱^{ab}	۱/۲۱^{b}	۱/٤۹	۱/۷٦	۱/٦٤
	٤۰	۲۲/۷٦	٦۸/٤۷	۱٤٦/۱۸	۸۹/۱۰	۱۸/۹۷^{a}	٤٦/۷٤^{a}	۸٤/٦۵	۵۵/٤٦^{a}	۱/۲۰^{b}	۱/٤۷	۱/۷۲	۱/٦۱
استاندارد خطا		۰/۲۳	۰/٦۱	۱/۰۵	۰/۵۰	۰/۲۱	۰/۳۷	۰/٤۵	۰/۲٦	۰/۰۱	۰/۰۱۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸
درصد احتمال		ns	ns	ns	ns	*	*	ns	*	**	ns	ns	ns

a-c. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری باهم دارند (P<۰/۰۵).

* معنی‌داری در سطح ۵٪ ** معنی‌داری در سطح ۱٪ ns: غیر معنی‌دار

جدول ۴- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی (درصدی از وزن بدن)

تیمار		سنگدان	کبد بدون صفرا	قلب	پانکراس	عضلات سینه	ران‌ها	بال‌ها	چربی محوطه شکمی	بازده لاشه
شاهد (بدون تزریق)		۰/۵۸۱	۲/٤۵	۰/۵۹	۰/٤۵۸	۲۱/۹۵^{ab}	۱۵/۸۰	۵/٤۰	۱/۱۵	٦٤/۳٤^{b}
شاهد (تزریق آب استریل)		۰/٦۱۷	۲/۵۱	۰/٦۲	۰/۳۹۰	۲۱/۲۳^{b}	۱٦/۵۵	۵/۳۲	۱/۲۰	٦٤/۰۷^{b}
گلوتامین (میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ)	۱۰	۰/٦٤۳	۲/۵٤	۰/٦٤	۰/٤۲٦	۲۱/۸٦^{ab}	۱۵/۱٦	۵/۱۷	۱/۲۰	٦٤/۱۹^{b}
	۲۰	۰/٦٦۹	۲/۳۰	۰/٦۷	۰/۳۸۳	۲۲/۵۳^{a}	۱٦/۳۷	۵/٤٤	۱/۰۱	٦۵/٦٤^{ab}
	۳۰	۰/٦۳٦	۲/٦٦	۰/٦۵	۰/٤۲۳	۲۳/۰۵^{a}	۱٦/۱۹	۵/۳۱	۱/۲۹	٦٦/۷۰^{a}
	٤۰	۰/۷۰٤	۲/۸٤	۰/۷۱	۰/٤۵۲	۲۳/۰۹^{a}	۱٦/٤۷	۵/۳۷	۱/۱۰	٦٦/۹٦^{a}
استاندارد خطا		۰/۰٤٤	۰/۰۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۲۲۳	۰/۲٤۰	۰/۰٦۸	۰/۰٤٤	۰/۳۹۹
درصد احتمال		ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	*

a-b. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری باهم دارند (P<۰/۰۵).

* معنی‌داری در سطح ۵٪ ** معنی‌داری در سطح ۱٪ ns: غیر معنی‌دار

اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر وزن نسبی بخش‌های مختلف روده کوچک (دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و کل روده کوچک) در سن ۳ و ۲٤ روزگی در جدول ٥ نشان داده شده است. تزریق داخل تخم‌مرغی اسید آمینهٔ ال – گلوتامین بر وزن نسبی ژژنوم و کل روده کوچک در سن ۳ روزگی و وزن نسبی ژژنوم، ایلئوم و کل روده کوچک در ۲٤ روزگی تأثیر معنی‌داری داشت (P<۰/۰٥)؛ ولی تغذیه جنینی گلوتامین بر وزن نسبی دوازدهه و ایلئوم در سن ۳ روزگی و وزن نسبی دوازدههٔ در سن ۲٤ روزگی بی‌تأثیر بود (P>۰/۰٥).

در جدول ٦ اثر تزریق درون تخم‌مرغی گلوتامین بر خصوصیات مورفولوژیکی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۳ و ۲٤ روزگی نشان داده شده است. تغذیه جنینی سطوح مختلف گلوتامین تأثیر معنی‌داری بر مورفولوژی ژژنوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۳ و ۲٤ روزگی داشت (P<۰/۰٥). ارتفاع ویلی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۳ روزگی تحت تأثیر تزریق سطوح مختلف گلوتامین قرار گرفت (P<۰/۰٥)، بطوریکه بیشترین و کمترین ارتفاع ویلی به ترتیب در گروه دریافت کنندهٔ ٤۰ میلی‌گرم گلوتامین و گروه شاهد مشاهده شد (به ترتیب ٤۹۹/۰۲ و ٤٥۳/٦٥ میکرومتر). همچنین بیشترین عمق کریپت و ضخامت لایهٔ ماهیچه‌ای در سن ۳ روزگی به ترتیب ۱۱۲/۹٦ و ۹۳/٦٤ میکرومتر بود که با تزریق ٤۰ میلی‌گرم گلوتامین مشاهده شد (جدول ٦). اختلاف معنی‌داری در عرض ویلی ژژنوم رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۳ روزگی مشاهده شد که بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب مربوط به گروه شاهد با تزریق آب استریل و گروه تزریق شده با ۳۰ میلی‌گرم گلوتامین بود (به ترتیب ۹۰/٥٦ و ۷٦/٤٤ میکرومتر). بررسی مورفولوژیکی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۲٤ روزگی نشان داد که تغذیه جنینی ارتفاع ویلی، عمق کریپت، عرض ویلی و ضخامت لایه عضلانی ژژنوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد (جدول ٦). افزودن گلوتامین به جیرهٔ غذایی خوک، بوقلمون، اردک و جوجه‌های گوشتی موجب توسعه و گسترش دستگاه گوارش و بهبود عملکرد آن می‌شود (کیت و همکاران ۲۰۰۲، بارتل و باتال ۲۰۰۷ و ماک و هانکارد ۲۰۱۱). گلوتامین در بیوسنتز هگزوز آمین دخالت دارد و این مادهٔ اخیر برای حفظ یکپارچگی دیوارهٔ روده از طریق تشکیل میوسین و گلیکوپروتئین ضروری است (ماک و هانکارد ۲۰۱۱). افزایش طول ویلی‌های روده کوچک می‌تواند با افزایش سطح جذب مواد مغذی، کارایی مصرف خوراک را در اوایل زندگی جوجه‌های گوشتی افزایش دهد و بدین ترتیب موجب بهبود عملکرد آنها می‌گردد. گلوتامین از لحاظ کمی مهمترین منبع انرژی برای بافت روده قلمداد می‌شود (سوبا ۱۹۹۳ و وو ۲۰۱۰). گزارش شده است که گلوتامین مهمترین بخش جیرهٔ غذایی در حفظ پیوستگی و استحکام دستگاه گوارش است (نیوشولم و همکاران ۲۰۰۳). گلوتامین در سنتز پلی‌آمین‌هایی از جمله پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین نقش دارد که این پلی‌آمین‌ها مولکول‌های ضروری برای تکثیر، تمایز و رشد سلول‌های روده‌ای هستند. با توجه به اینکه کریپت‌های روده‌ای محل سلول‌های در حال تمایز جذبی، سلول‌های گابلت، پانت، انتروانددوکرین و سلول‌های بنیادی است، که توانایی تمایز به سلول های دیگر را دارد، بنابراین افزایش عمق کریپت بنظر می‌رسد ناشی از اثرات مفید گلوتامین در رشد و تمایز سلول‌های روده‌ای باشد. این نتایج با یافته‌های سایر محققین هماهنگ بود، به طوریکه با تغذیهٔ جنینی یونی و فرکت (۲۰۰٤) و تاکو و همکاران (۲۰۰٤) بهبود خصوصیات مورفولوژی رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی، افزایش ترشحات روده (ماک و هانکارد ۲۰۱۱)، افزایش بیان ژن‌های کد کنندهٔ آنزیم‌های سلول‌های مخاطی روده و افزایش فعالیت بیولوژیک آنها (تاکو و همکاران ۲۰۰٥ و فوی و همکاران ۲۰۰٥) و افزایش ظرفیت جذبی دستگاه گوارش (فرکت و همکاران ۲۰۰٥) را گزارش کردند.

جدول ۵- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر وزن نسبی بخش‌های مختلف روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۳ و ۲۴ روزگی (درصدی از وزن بدن)

تیمار		۳ روزگی				۲۴ روزگی			
		دوازدهه	ژژنوم	ایلئوم	کل روده کوچک	دوازدهه	ژژنوم	ایلئوم	کل روده کوچک
شاهد (بدون تزریق)		۲/۳۷	۴/۵۲^{bc}	۳/۰۴	۹/۹۳^{b}	۱/۰۶	۱/۷۱^{c}	۱/۲۷^{b}	۴/۰۴^{d}
شاهد (تزریق آب استریل)		۲/۳۵	۴/۲۶^{c}	۳/۱۷	۹/۷۸^{b}	۱/۱۰	۱/۹۵^{abc}	۱/۳۶^{b}	۴/۴۱^{dc}
	۱۰	۲/۵۳	۵/۱۰^{ab}	۳/۶۸	۱۱/۳۱^{a}	۱/۰۸	۱/۷۷^{bc}	۱/۳۱^{b}	۴/۱۶^{dc}
گلوتامین	۲۰	۲/۶۵	۵/۰۷^{ab}	۳/۲۷	۱۰/۹۹^{ab}	۱/۰۲	۱/۹۸^{ab}	۱/۴۹^{ab}	۴/۴۹^{bc}
(میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ)	۳۰	۲/۵۲	۵/۲۲^{ab}	۳/۸۸	۱۱/۶۲^{a}	۱/۱۷	۲/۰۲^{ab}	۱/۶۲^{a}	۴/۸۱^{ab}
	۴۰	۲/۷۲	۵/۴۴^{a}	۴/۰۴	۱۲/۲۰^{a}	۱/۲۳	۲/۱۲^{a}	۱/۷۴^{a}	۵/۰۸^{a}
استاندارد خطا		۰/۰۶۹	۰/۱۲۵	۰/۱۴۲	۲/۱۹	۰/۰۲۷	۰/۰۴۸	۰/۰۵۵	۰/۱۱۴
درصد احتمال		ns	*	ns	**	ns	*	*	**

a-d. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

* معنی‌داری در سطح ۵٪ ** معنی‌داری در سطح ۱٪ ns: غیر معنی‌دار

جدول ۶- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر مورفولوژی ژژنوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۳ و ۲۴ روزگی

تیمار		۳ روزگی					۲۴ روزگی			
		ارتفاع ویلی (µm)	عمق کریپت (µm)	عرض ویلی (µm)	ضخامت لایه عضلانی (µm)	ارتفاع ویلی (µm)	عمق کریپت (µm)	عرض ویلی (µm)	ضخامت لایه عضلانی (µm)
شاهد (بدون تزریق)		۴۵۳/۶۵^{c}	۹۸/۲۸^{bc}	۸۴/۲۲^{bc}	۸۸/۷۶^{ab}	۱۱۲۹/۹۱^{bc}	۱۲۶/۴۰^{b}	۱۲۹/۷۹^{a}	۱۲۵/۴۷^{bc}
شاهد (تزریق آب استریل)		۴۶۶/۱۳^{bc}	۹۷/۰۴^{c}	۹۰/۵۶^{a}	۸۱/۲۶^{c}	۱۱۰۷/۹۹^{c}	۱۴۸/۸۸^{a}	۱۲۴/۰۲^{ab}	۱۱۱/۸۹^{c}
گلوتامین (میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ)	۱۰	۴۷۰/۷۲^{bc}	۱۰۳/۸۱^{bc}	۸۵/۲۹^{ab}	۸۲/۱۰^{bc}	۱۱۸۶/۶۲^{ab}	۱۱۸/۷۰^{b}	۱۲۱/۶۸^{ab}	۱۲۷/۳۱^{bc}
	۲۰	۴۷۹/۱۵^{ab}	۱۰۱/۶۱^{bc}	۸۲/۳۸^{bc}	۸۸/۸۷^{ab}	۱۱۳۷/۳۹^{bc}	۱۲۹/۳۳^{b}	۹۲/۲۸^{d}	۱۳۴/۹۶^{ab}
	۳۰	۴۸۷/۱۱^{ab}	۱۰۴/۴۹^{b}	۷۶/۴۴^{d}	۸۴/۰۵^{bc}	۱۱۹۱/۴۵^{ab}	۱۶۶/۰۶^{a}	۱۰۲/۸۵^{dc}	۱۴۹/۴۱^{a}
	۴۰	۴۹۹/۰۲^{a}	۱۱۲/۹۶^{a}	۷۹/۶۴^{dc}	۹۳/۶۴^{a}	۱۲۰۴/۱۹^{a}	۱۵۵/۷۴^{a}	۱۱۲/۹۱^{bc}	۱۴۱/۹۴^{ab}
استاندارد خطا		۳/۳۱	۱/۰۱	۰/۸۵۸	۰/۹۹	۸/۷۷	۲/۸۴	۲/۴۰	۲/۷۳
درصد احتمال		**	**	**	**	**	**	**	**

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری باهم دارند (P<۰/۰۵).

* معنی‌داری در سطح ۵٪ ** معنی‌داری در سطح ۱٪ ns: غیر معنی‌دار

اثر تزریق گلوتامین بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در سن ۲۴ روزگی و عملکرد سیستم ایمنی در جدول ۷ نشان داده شده است. وزن نسبی اندام‌های لنفاوی شامل طحال و بورس فابریسیوس تحت تأثیر تزریق سطوح مختلف گلوتامین قرار گرفت (P<۰/۰۵)، اما بر وزن نسبی تیموس تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). اثرات سودمند گلوتامین بر سیستم ایمنی حیوانات در مطالعات متعددی گزارش شده است (کلاسینگ ۲۰۰۷، لاکی و ویلمور ۱۹۹۰، ماک و هانکارد ۲۰۱۱، گریمبل ۲۰۰۱، فلاحرتی و هیس ۱۹۹۹ و فرانسیس و ریچارد ۲۰۰۲). تیموس، طحال و بورس فابریسیوس جزء اندام‌های لنفوئیدی اولیه هستند که در سیستم ایمنی نقش دارند. حجم تیموس خیلی متغییر بوده و اندازهٔ نسبی آن در حیوانات نوزاد بیشترین است و اندازهٔ مطلق آن در سن بلوغ از سایر مواقع بیشتر است و پس از بلوغ بتدریج تحلیل می‌رود (ارف ۲۰۰۴). کادام و همکاران (۲۰۰۸) و بانجا و مندال (۲۰۰۵) در وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی با تزریق داخل تخم‌مرغی اسیدهای آمینه تأثیر معنی‌داری مشاهده نکردند که با نتیجهٔ تحقیق حاضر مغایرت دارد. برای بررسی ایمنی هومورال، تیتر آنتی

بادی تولید شده بر علیه گلبول قرمز گوسفندی و تیتر آنتی بادی تولید شده بر علیه ویروس بیماری نیوکاسل مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۷). اثر تزریق داخل تخم‌مرغی سطوح مختلف گلوتامین بر پاسخ ایمنی اولیه ٦ روز بعد از تزریق اول (٢٤ روزگی) و پاسخ ایمنی ثانویه به تزریق آنتی‌ژن SRBC در ١٢ روز بعد از تزریق دوم (٤٢ روزگی) معنی‌دار نبود (P>٠/٠٥)، ولی تزریق گلوتامین ایمنی اولیه در ١٢ روز بعد از تزریق اول (٣٠ روزگی) و پاسخ ایمنی ثانویه در ٦ روز پس از تزریق ثانویه آنتی‌ژن (٣٦ ر تأثیر معنی‌دار دبا بررسی تیتر آنتی بادی تولید شده بر علیه ویروس بیماری نیوکاسل مشخص شد که تغذیه جنینی سطوح مختلف گلوتامین بر میزان تیتر آنتی بادی نیوکاسل در سن ٣٦ روزگی تأثیر معنی‌داری داشت (P<٠/٠٥)، اما در ٤٢ روزگی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (P>٠/٠٥). بیشترین تیتر آنتی‌بادی بر علیه نیوکاسل در ٣٦ روزگی در گروهی که در دوران جنینی ٣٠ میلی‌گرم گلوتامین دریافت کردند (٩/٠ بر حسب log_2) و کمترین آن در گروه شاهد (تزریق آب استریل) (٦/٥ بر حسب log_2) مشاهده شد (جدول ٧) .

این نتایج هماهنگ یافته‌های سایر محققین است (بانجا و مندال ٢٠٠٥، کادام و همکاران ٢٠٠٨، وو ٢٠٠٩ و ٢٠١٠). اسید آمینهٔ ال- گلوتامین نقش مهمی در تشدید پاسخ‌های ایمنی دارد؛ سلول‌های سیستم ایمنی نیاز زیادی به گلوتامین دارند که می‌تواند تکثیر سلول‌های T، تمایز سلول‌های B، فاگوسیتوز ماکروفاژها، توانایی ارائهٔ آنتی‌ژن، ترشح سایتوکاین‌ها و قدرت کشندگی سلول‌های سیستم ایمنی را افزایش دهد (وو ٢٠١٠، نیوشولم و همکاران ٢٠٠٣، لی و همکاران ٢٠٠٧، بارتل و باتال ٢٠٠٧). ال- گلوتامین در تمایز سلول‌های B به سلول‌های تولید کنندهٔ آنتی بادی نقش دارد، با افزایش سطح گلوتامین تولید آنتی بادی بر علیه آنتی‌ژن افزایش می‌یابد؛ که با نتایج تحقیق حاضر هماهنگ است. از آنجاییکه بیان ایمونوگلوبین‌های G و A وابسته به سلول T یاریگر (Th) است و گلوتامین تعداد سلول‌های Th را افزایش می‌دهد، بنابراین انتظار بر این است که گلوتامین غلظت ایمونوگلوبین‌های G و A را افزایش دهد.

اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر پاسخ ایمنی با واسطهٔ سلول در جدول ٧ نشان داده شده است.

جدول ٧- اثر تزریق سطوح مختلف گلوتامین بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (تیموس، طحال و بورس فابریسیوس)، عملکرد سیستم ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی

تیمار		وزن نسبی اندام‌های لنفاوی (درصدی از وزن زنده)			پاسخ ایمنی هومورال						پاسخ ایمنی سلولی (تغییر ضخامت پرده پا (mm)	
					تزریق SRBC				تیتر آنتی بادی نیوکاسل			
					اولیه		ثانویه					
		تیموس	طحال	بورس فابریسیوس	٢٤ روزگی	٣٠ روزگی	٣٦ روزگی	٤٢ روزگی	٣٦ روزگی	٤٢ روزگی	٢٣ روزگی	٢٤ روزگی
شاهد (بدون تزریق)		٠/٤٥١	٠/١١٨^{bc}	٠/٢٢٠^{bc}	٥/٥	٤^{b}	٧^{ab}	٥	٥^{bc}	٤/٦٧	٠/٥٥^{c}	٠/٣٦^{b}
شاهد (آب استریل)		٠/٤١١	٠/١٢٠^{bc}	٠/٢٠٨^{c}	٥/٥	٤^{b}	٦/٥^{b}	٦	٤/٣٣^{c}	٤	٠/٥٩^{c}	٠/٣٧^{b}
گلوتامین	١٠	٠/٤٣٢	٠/١١٧^{c}	٠/٢١٠^{c}	٦	٣/٥^{b}	٧^{ab}	٥/٥	٦/٣٣^{ab}	٥/٣٣	٠/٧٢^{bc}	٠/٤٧^{ab}
(میلی‌گرم به	٢٠	٠/٤٨٣	٠/١٢٥a^{bc}	٠/٢٦١^{ab}	٧	٥^{ab}	٨^{ab}	٥/٥	٦^{ab}	٥	٠/٧٧^{ab}	٠/٤٨^{ab}
ازای هر	٣٠	٠/٤٦٢	٠/١٣٣^{a}	٠/٢٢٨^{bc}	٦/٥	٦/٥^{a}	٩^{a}	٦/٥	٦/٦٧^{a}	٥/٣٣	٠/٩٥^{a}	٠/٦٣^{ab}
تخم‌مرغ)	٤٠	٠/٤٩٩	٠/١٣٩^{a}	٠/٢٧٢^{a}	٧/٥	٧^{a}	٨/٥^{ab}	٦/٥	٧^{a}	٥/٦٧	٠/٩٣^{a}	٠/٧٤^{a}
استاندارد خطا		٠/٠١٢	٠/٠٠٣	٠/٠٠٨	٠/٣٥٥	٠/٤٤٤	٠/٣٣٣	٠/٢٤١	٠/٢٧٨	٠/٢٦٨	٠/٠٣٨	٠/٠٤٣
درصد احتمال		ns	*	*	ns	**	*	ns	*	ns	**	*

a-c. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌داری باهم دارند (P<٠/٠٥). * معنی‌داری در سطح ٥٪ ** معنی‌داری در سطح ١٪
ns: غیر معنی‌دار

بیشترین التهاب پرده پا بعد از ٢٤ و ٤٨ ساعت از تزریق PHA-P در گروه دریافت کنندهٔ ٤٠ میلی‌گرم گلوتامین در دوران جنینی مشاهده شد. آزمون التهاب پرده پا پرندگان به عنوان شاخصی از توانایی سیستم ایمنی با واسطهٔ سلولی است (کادام و همکاران ۲۰۰۸). از آنجاییکه تزریق PHA-P موجب افزایش تکثیر سلول‌های T می‌گردد، و تکثیر سلول‌های T با افزایش قابلیت دسترسی گلوتامین افزایش می‌یابد، بنابراین گلوتامین می‌تواند پاسخ‌های ایمنی سلولی را ارتقاء بخشد که با نتایج این تحقیق هماهنگی دارد (بانجا و مندال ۲۰۰۵ و وو ۲۰۱۰). کادام و همکاران (۲۰۰۸۹ با تغذیه جنینی در پاسخ‌های ایمنی جوجه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نکردند که مغایر با نتیجهٔ این مطالعه است. به نظر می‌رسد نوع ماده مغذی تزریق شده، محل و مقدار تزریق علت اصلی این تفاوت‌ها باشد.

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند که تزریق ٤٠ میلی‌گرم اسید آمینهٔ ال – گلوتامین به مایع آمنیوتیک جنین‌های در حال رشد می‌تواند عملکرد رشد قبل و پس از تفریخ، صفات لاشه، خصوصیات مورفولوژیک روده و پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی که امکان اجرای این طرح (شماره طرح ۲۲۰۵۷) را فراهم آوردند، از مدیریت محترم جوجه‌کشی سیمرغ واحد خراسان رضوی آقای دکتر شهیدی، دکتر فخرآبادی و مهندس روحانی و همچنین از شرکت اوونیک دگوسا (Evonik Industry, Germany) و آقای مهندس افسر نماینده ویژه آن برای مساعدت و همکاری صمیمانه در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

ضمیری ج، ۱۳۸۰. تولید مثل در پرندگان اهلی (ترجمه)، انتشارات دانشگاه شیراز.

موسوی س ن، شیوازاد م، چمنی م، صادقی ع ا و لطف الهیان ه، ۱۳۸۷. بررسی استفاده از تغذیه جنینی جوجه‌های گوشتی به عنوان یک روش تغذیه اولیه، دانش کشاورزی ایران، جلد ٥ شماره ٤، صفحه ٤٢٥-٤١٧.

جزیده ف، دانشیار م و فرهومند پ. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر تزریق داخل تخم مرغی اسید آمینه گلوتامین بر کیفیت جوجه یکروزه، اولین کنگره علوم و فن آوری‌های نوین کشاورزی.

Al-Murrani WK, 1982. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. Br Poult Sci 23: 171-174.

Bartell SM and Batal AB, 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.

Bhanja SK and mandal AB, 2005. Effect of in ovo injection of critical amino acids on pre and post hatch growth, immunocompetence and development of digestive organs in broiler chickens. Asian Aust J of Anim Sci 18: 524-531.

Erf GF, 2004. Cell- mediated immunity in poultry. Poult Sci 83: 580-590.

Ferket PR, Uni Z, Tako E, Foye OT and Oliveira JE, 2005. In ovo feeding nutrition: impact on gene expression, gut development, and growth performance. In: The Annual Nutrition Conference. University of Arkansas. 160-172.

Flaherty LO and Hayes DB, 1999. Immunonutrition and surgical practice. Proc Nutr Soc 58: 831–837.

Foye O, Ferket P and Uni Z, 2005a. The effects of in ovo feeding of arginine and/or beta-hydroxy-beta-metylbutyrate (HMB) on glycogen metabolism and growth in turkey poults. Poult Sci 84: (Supplement1):9.

Foye O, Ferket P and Uni Z, 2005b. The effects of in ovo feeding of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and arginine on jejunal expression and function in turkeys. Poult Sci 84: (Supplement 1):41.

Foye O, Uni Z and Ferket P, 2006 .Effect of in ovo feeding egg white protein HMB, and carbohydrates onglycogen status and neonatal growth of turkeys. Poult Sci85 : 1185-1192.

Francis JA and Richard DG, 2002. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. Br J Nutr87:Suppl S3–S8.

Grimble RF, 2001. Nutritional modulation of immune function. Proc Nutr Soc 60: 389-397.

Kadam MM, Bhanja SK, Mandal AB, Thakur R, Vason P, Bhattacharyya A and Tyagi JS, 2008. Effect of in ovo threonine supplementation on early growth, Immunological responses and digestive enzyme activates in broiler chickens. Br Poult Sci 49: 736-741.

Keralapurath MM, Corzo A, Pulikanti R, Zhai W and Peebles ED, 2010. Effects of inovo injection of l-carnitine on hatchability and subsequent broiler performance and slaughter yield. Poult Sci 89: 1497–1501.

Kitt SJ, Miller PS, Lewis AJ and Fischer RL, 2002. Efffects of glutamine on growth performance and small intestine villus height in weanling pigs. In Nebraska Swine Rep Univ, 29–32.

Klasing KC, 2007. Nutrition and the immune system. Br Poult Sci 48: 525-537.

Lacey JM and Wilmore DW, 1990. Is glutamine a conditionally essential amino acid? Nut Rev 48: 297–309.

Li PY, Defa Y, Sung L, Kim W and Wu G, 2007. Amino acids and immune function. Br J of Nutr 98: 237–252.

Maiorano GA, Sobolewska D, Cianciullo K, Walasik G, Elminowska A, Sławińska S, Tavaniello J, Zylińska J, Bardowski D and Bednarczyk M, 2012. Influence of in ovo prebiotic and symbiotic administration on meat quality of broiler chickens. Poult Sci 91:2963-2969.

Mok E andHankard R, 2011. Glutamine Supplementation in Sick Children: Is It Beneficial?J of Nutr Met Review Article.1-41.

Newsholme p, procopio J, Lima MMR, Curi TC and Curi R, 2003. Glutamine and Glutamate – their central role in cell metabolism and function. Cell Biochem Funct 21: 1-9.

Ohta Y and Kidd MT, 2001. Optimum site for in ovo amino acid injection in broiler breeder eggs. Poult Sci 80: 1425-1429.

Ohta Y, Tsushima N, Koide K, Kidd MK 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.

Ross 308, Broiler Management Manual, 2007. Aviagen limited. Newbridge, MidlothinUK.

SAS Institute. 2003. SAS User's Guide: Statistics. SAS Inst. Inc, Cary NC.

Sharma JM and BurmesterBR, 1982. Resistance to Marek's Disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. Avian Diseases 26: 134-149.

Souba WW, 1993. Intestinal glutamine metabolism and nutrition. J of Nutr Biochem 4: 2–8.

Tako E, Ferket PR 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.

Tako E, Ferket PR and Uni Z, 2004. Effects of in ovo feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine. Poult Sci 83: 2023-2028.

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

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

Wu G, 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition.Amino Acids 37:1–17.

Wu G, 2010. Functional amino acids in growth, reproduction and health. Adv Nutr 1: 31-37.

Zhai W, Neuman S, Latour MA, Hester PY, 2008. The effect of in ovo injection of l-carnitine on hatchability of White Leghorns. Poult Sci 87: 569–572.

Influence of in ovo injection of L-Glutamine on pre- and post- hatch growth performance, small intestine morphology and immune responses in broiler chickens

M Gheshlagh Olyayee[1*], A Golian[2], MR Bassami[3], A Haghparast[3] and A Heravi Moussavi[2]

Received: January 07, 2014 Accepted: April 20, 2014

[1]Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz
[2]Professor and Associate Professor, respectively, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Clinical Sciences and Department of Pathobiology, respectively, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[*]Corresponding author: E mail: majidolyayee@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of in ovo injection of L- Glutamine on pre and post hatch growth performance, carcass traits, jejunum morphology and immune responses of broiler chickens. Four hundred eighty fertile Ross 308 broiler breeder eggs in a completely randomized design were used into 6 experimental groups, 4 replicates of 20 eggs each. Treatment groups were: non-injected control, sham control (sterile water), 10, 20, 30 and 40 mg glutamine were dissolved in 1ml sterile water and then inoculated into amniotic fluid of the 17.5 d- old embryo through broad end of the egg. After hatch, 10 chicks per each replicate were distributed in pens and reared up to 42 d of age. The results showed that the hatchling weights and overall daily body weight gain were 3.6% and 3.8% higher in the group given 40 mg glutamine than noninjected control, respectively ($P<0.05$). At day 24, relative weight of breast muscle was influenced by embryo feeding of glutamine ($P<0.05$), but relative weights of liver, gizzard and heart were not affected ($P>0.05$). Compared with untreated control, glutamine was enhanced jejunal villi height and crypt depth in 3 and 24 days of post hatch. By 40 mg glutamine injection, the humoral and cell mediated immune responses were improved. The results suggest that in ovo injection of 40 mg L-glutamine into amniotic fluid of growing embryo can improve hatchling weight, average daily gain, morphometric development of the intestinal tract and humoral and cellular immune responses of broiler chickens.

Key words: Glutamine, Hatchability, Immune system, In ovo injection, Small intestine morphology