مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۴ شماره ۱/ سال۱۴۰۳/ صفحات ۷۷ تا ۹۱
DOI: 10.22034/as.2023.55746.1698

اثر تزریق درون تخم مرغی ال- آرژنین بر صفات لاشه، فراسنجه‌های خونی و بافت روده کوچک جوجه‌های گوشتی

مرضیه ابراهیمی*[۱]، سمیه امیدی[۲]، حسین جانمحمدی[۳] و داود کیانی فرد[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۲۸

[۱] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۳] استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۴] دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: تغذیه درون تخم‌مرغی به عنوان یک ابزار سودمند برای چیرگی بر محدودیت رشد اولیه، اثرگذاری مثبتی بر رشد و نمو دستگاه گوارش و عملکرد جوجه‌های گوشتی دارد. **هدف:** این آزمایش با هدف بررسی اثر تزریق درون‌تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-آرژنین بر عملکرد رشد، ترکیب و صفات لاشه، متابولیت‌های خونی و بافت روده جوجه‌های گوشتی انجام شد. **روش کار:** در این پژوهش، ۳۰۰ تخم‌مرغ بارور از مزرعه مرغ مادر گوشتی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار آزمایشی استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- تزریق درون تخم‌مرغی یک میلی لیتر اسید آمینه ال- آرژنین ۰/۵ درصد، ۲- تزریق درون تخم‌مرغی یک میلی لیتر اسید آمینه ال- آرژنین یک درصد، ۳- گروه شم شاهد (تزریق یک میلی لیتر آب مقطر به تنهایی) و یا گروه شاهد (بدون تزریق) بودند. تزریق در روز ۱۴ دوره انکوباسیون در مایع آمنیوتیک انجام شد. پس از تفریخ تخم‌مرغ‌ها، جوجه‌های تیمارهای ۰/۵ درصد آرژنین، ۱ درصد آرژنین و گروه شاهد (مجموع شم شاهد و شاهد) هر یک به چهار گروه مساوی تقسیم شده و دوره پرورش تا انتهای ۲۴ روزگی ادامه یافت. جوجه‌های ۲۴ روزه به صورت گروهی وزن کشی شدند. در روز ۲۴ تعداد ۳ قطعه جوجه از هر تکرار (۱۲ جوجه در هر تیمار) با میانگین وزنی نزدیک متوسط وزن گروه انتخاب و کشتار شدند. **نتایج:** اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-آرژنین بر جوجه‌درآوری، وزن جوجه یک روزه، نسبت وزن جوجه یک روزه به وزن تخم مرغ، وزن جوجه ۲۴ روزه، ضریب تبدیل خوراک، کلسترول، گلوکز، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای سرم معنی دار نبود ($P>0/05$). تری گلیسرید سرم و وزن نسبی ژژنوم در گروه تیمار ۰/۵ درصد آرژنین به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P<0/05$). همچنین تیمارها اثر معنی داری بر ارتفاع پرز، پهنای پرز، ضخامت مخاط، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه ، پهنای پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و پهنای پرز و قطر کریپت ایلئوم داشتند و در بیشتر شاخص‌ها بیشترین مقدار در تیمار ۱ درصد آرژنین مشاهده شد ($P<0/05$). **نتیجه گیری نهایی:** بر اساس نتایج کلی پژوهش، تزریق سطح ۰/۵ درصد آرژنین تاثیر مثبت بر رشد و مورفولوژی روده کوچک نشان داد.

واژگان کلیدی: ال-آرژنین، بافت روده، تزریق درون تخم‌مرغی، جوجه‌های گوشتی، صفات لاشه، فراسنجه‌های خونی

مقدمه

رویان پرندگان پیش از هچ با مقدار محدود مواد مغذی رشد و نمو می‌کنند (فویه و همکاران ۲۰۰۶). تغذیه درون تخم‌مرغی به عنوان یک ابزار سودمند برای چیرگی بر محدودیت رشد اولیه، اثرگذاری مثبتی بر رشد و نمو دستگاه گوارش و عملکرد جوجه‌های گوشتی دارد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷؛ فردوست و همکاران ۲۰۱۹). مشخص شده است که میوفیبریل‌های جوجه‌ها در زمان پیش از خروج از تخم شکل می‌گیرند و رشد ماهیچه‌ای پس از خروج از تخم وابسته به‌هایپرتروفی ماهیچه‌ها است (فرناندز و همکاران ۲۰۰۹). پژوهش‌های پیشین اثرهای مثبت تزریق درون تخم‌مرغی آرژنین را بر افزایش وزن و افزایش درصد جوجه‌درآوری در طیور گوشتی نشان داده اند (فویه و همکاران ۲۰۰۶؛ الدراجی و همکاران ۲۰۱۲ ؛ ادواردز و همکاران،۲۰۱۶؛ نایاک و همکاران ۲۰۱۶؛ ابراهیمی و همکاران a,b ۲۰۱۸). عبدالعلی زاده الوانق و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف آرژنین به لیزین اثر افزایشی بر وزن جوجه، بازده لاشه، وزن نسبی ران، وزن نسبی سینه، و وزن نسبی کبد داشت. در این مطالعه کاهش غلظت اوره سرم مشاهده شد.

جوجه‌های گوشتی توانایی ژنتیکی برجسته‌ای برای رشد و تولید گوشت دارند که برای نیل به این پتانسیل، رشد و نمو دستگاه گوارش و به ویژه روده کوچک از اهمیت بالایی برخوردار است (ترک ۱۹۸۲). تزریق درون تخم‌مرغی برخی از مواد مغذی به درون مایع آمنیوتیک در مراحل انتهایی جوجه کشی، رشد روده کوچک به ویژه ارتفاع پرز و پهنای پرز را افزایش داده است (گیرا و همکاران ۲۰۰۱؛ ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷). بسیاری از پژوهش‌ها اثر بهبود دهنده تغذیه درون تخم مرغی اسیدهای آمینه و مواد مغذی را بر رشد و مورفولوژی روده کوچک را نشان داده‌اند (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷ و a,b ۲۰۱۸؛ الوان و همکاران ۲۰۱۹؛ فردوست و همکاران ۲۰۱۹). ابراهیمی و همکاران (a۲۰۱۸) گزارش کردند که تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین اثر افزایشی بر عمق کریپت، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و ایلئوم، قطر کریپت ژژنوم و عرض پرز دوازدهه و ژژنوم داشته است. با توجه به تعداد اندک پژوهش‌ها در مورد اثر تزریق آرژنین بر بافت روده، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-آرژنین بر صفات لاشه، متابولیت‌های خون و بافت روده جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۳۰۰ تخم‌مرغ بارور از مزرعه مرغ مادر گوشتی تجاری خوشخوان با سن گله ۲۷ هفته (با میانگین وزنی: ۳/۱۰± ۵۵/۷۷) تهیه شد. سپس تخم‌مرغ‌ها شماره‌گذاری شده و وزن اولیه آن‌ها ثبت شد. تخم‌مرغ‌ها بر اساس وزن طبقه‌بندی شده و در وزن‌های یکسان به تیمارها اختصاص داده شدند به طوری که ۱۰۰ تخم‌مرغ به گروه تیمار ۰/۵ درصد آرژنین و ۱۰۰ تخم‌مرغ به گروه تیمار ۱ درصد آرژنین، ۱۰۰ تخم مرغ به گروه‌های شاهد (۵۰ تخم‌مرغ در گروه شاهد و ۵۰ تخم‌مرغ در گروه شم شاهد) اختصاص یافتند و سپس در دستگاه جوجه‌کشی (شرکت سام نو با ظرفیت ۶۰۰ تخم‌مرغ) قرار داده شدند. بنابراین گروه‌های آزمایشی شامل ۱- تزریق درون تخم‌مرغی ۰/۵ درصد اسید آمینه ال- آرژنین (۵ میلی‌گرم ال- آرژنین[1] در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر)، ۲- تزریق درون تخم‌مرغی ۱ درصد اسید آمینه ال- آرژنین (۱۰ میلی‌گرم ال- آرژنین در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر)، ۳- شاهد {شم شاهد (تزریق ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به تنهایی) و شاهد (بدون تزریق)} بودند و تزریق در روز ۱۴ دوره انکوباسیون انجام شد (اوهتا و همکاران ۱۹۹۹؛ بهانجا و همکاران ۲۰۰۵، ۲۰۱۲؛ سالاری و همکاران ۲۰۱۴؛ ابراهیمی و همکاران۲۰۱۷). تفاوت معنی داری در نرخ رشد و جوجه درآوری این دو گروه شاهد وجود نداشت.

[1] Aldrich, W381918; 99%

در زمان آماده‌سازی محلول، pH آن با استفاده از اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال روی ۷ تنظیم شد. در زمان تزریق دمای محلول تزریقی به ۳۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٦۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه برای هر تیمار تزریق انجام شد. دمای ۱۸ روز اول دستگاه روی ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن روی ٦۰ درصد و به تعداد ٦ بار چرخش در شبانه روز تنظیم شد. نوربینی در روزهای ۷ و ١٤ به منظور حذف جنین‌های مرده انجام شد. در ۳ روز آخر دوره جوجه‌کشی دمای دستگاه روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن روی ۷۰ درصد تنظیم شده و تخم‌مرغ‌ها به سبدهای مخصوص هچری انتقال داده شدند. پس از تفریخ تخم‌مرغ‌ها، جوجه‌های تازه هچ شده به صورت انفرادی وزن‌کشی شدند و جوجه درآوری ثبت شد. سپس جوجه‌های مربوط به تیمارهای سطوح ۰/۵ و ۱ درصد آرژنین و گروه شاهد (مجموع جوجه‌های شم شاهد و شاهد) هر یک به چهار گروه مساوی تقسیم شده و در چهار قفس (تکرار) به صورت تصادفی قرار داده شدند (۳ تیمار با ٤ تکرار). تعداد ۱۰ جوجه مخلوط دو جنس در هر یک از تکرارهای تیمار ۰/۵ درصد آرژنین قرار داده شد. تعداد ۹ جوجه در سه تکرار اول و ۸ جوجه در تکرار چهارم تیمار ۱ درصد آرژنین و همچنین گروه کنترل قرار داده شد. دوره پرورش از زمان تفریخ تا انتهای ٢٤ روزگی در سالن پرورش طیور در ایستگاه آموزشی-پژوهشی خلعت پوشان دانشگاه تبریز ادامه یافت. در دوره پرورش همگی جوجه‌های گروه‌های آزمایشی جیره یکسانی را بر اساس جداول احتیاجات غذایی راس ۳۰۸ (۲۰۱٤) طی دوره آغازین از یک تا ۱۰ روزگی و دوره رشد از ۱۱ تا ٢٤ روزگی دریافت کردند (جدول ۱). تنظیم دمای سالن بر اساس راهنمای پرورش جوجه راس ۳۰۸ انجام شد (آویاژن، ۲۰۱٤). در طول آزمایش دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد و برنامه نوردهی به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی بود. همچنین در تمام مدت آزمایش تلفات، وزن جوجه‌های تلف شده و تعداد روزهای زنده‌مانی آنها ثبت شد. در ۱۰ و ٢٤ روزگی وزن جوجه‌هاپس از ٤ ساعت محدودیت مصرف خوراک، به صورت گروهی اندازه‌گیری شد و سپس افزایش وزن روزانه طی دوره بر اساس روز مرغ محاسبه شد. همچنین مصرف خوراک تجمعی در روزهای ۱۰ و ٢٤ اندازه گیری شد و پس از کسر هدرروی، مصرف خوراک بر اساس روز مرغ محاسبه شد. همچنین ضریب تبدیل غذایی بر حسب روزمرغ محاسبه و گزارش شد.

به منظور بررسی صفات لاشه، در روز ٢٤ تعداد ۳ قطعه جوجه (یک خروس و دو مرغ) از هر تکرار (۱۲ جوجه از هر تیمار) با میانگین وزنی نزدیک به متوسط وزن گروه انتخاب و کشتار شدند. بعد از کشتار، وزن لاشه پوست کنده(دارای محتویات شکمی)، وزن لاشه (بدون محتویات شکمی)، وزن سینه، وزن ران، وزن چربی محوطه شکمی، وزن سنگدان، وزن قلب، وزن کبد، وزن پانکراس و وزن پیش معده اندازه گیری شده و به صورت نسبتی از وزن زنده (وزن نسبی لاشه پوست کنده، بازده لاشه، وزن نسبی سینه، وزن نسبی ران، وزن نسبی چربی محوطه شکمی، وزن نسبی سنگدان، وزن نسبی قلب، وزن نسبی کبد، وزن نسبی پانکراس و وزن نسبی پیش معده) گزارش شدند.

به منظور اندازه گیری متابولیت‌های خونی، در روز ٢٤ تعداد ۳ قطعه جوجه (یک خروس و دو مرغ) از هر تکرار (۱۲ جوجه از هر تیمار) با میانگین وزنی نزدیک به متوسط وزن گروه انتخاب شدند. پرندگان خونگیری شده (سیاهرگ بال) و نمونه‌های خون در لوله‌های بدون هپارین نگه‌داری شدند. با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در ۱۵ دقیقه، سرم جداسازی شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری متابولیت‌های خون (غلظت‌های گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل و ازت اوره‌ای[1] سرم) نگه‌داری شد. غلظت‌های پلاسمایی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و اوره با روش آنزیمی-کالریمتری و با تهیه کیت‌های شرکت زیست شیمی در یک مرحله با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Alyson

[1] Blood urea nitogen

300) ساخت کشورانگلستان، با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. سپس ازت اوره‌ای خون بر اساس سطح اوره خون مورد محاسبه قرار گرفت (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷) .

به منظور بررسی مورفولوژی بافت روده، در زمان کشتار، وزن و طول سه بخش روده کوچک؛ دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم اندازه‌گیری شد و وزن‌ها صورت نسبتی از وزن زنده گزارش شدند. همچنین نمونه‌های سه قسمت روده در فرمالین ۱۰ درصد نگه‌داری شد و به منظور تعیین ارتفاع پرزها، پهنای پرزها، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، ضخامت مخاط و قطر کریپت‌ها به آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انتقال یافت.

مراحل بافت شناسی مربوط به نمونه‌های روده شامل تثبیت نمونه‌ها با فرمالین ۱۰ درصد به مدت یک هفته، پردازش بافت (شامل آبگیری با استفاده از درجات صعودی الکل، شفاف کردن با استفاده از زایلول و آغشتگی نمونه‌ها با پارافین)، قالب گیری با استفاده از قالب‌های لوک‌هارت، برش بافت با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل MRS 3500، چسباندن برش‌ها روی لام و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین بود. در پایان ارتفاع پرز، پهنای پرز، عمق کریپت، ضخامت مخاط و قطر کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم در ۱۲ برش با استفاده از گراتیکول مدرج خطی و چهار خانه و همچنین عدسی چشمی کالیبره در گروه‌های شاهد و تیمار اندازه‌گیری شد (شکل ۱).

نرخ جوجه‌درآوری با استفاده از رویه لجستیک و رویه Freq و با استفاده از آنالیز جداول توافقی انجام شد (این روش برای متغییر گسسته می‌باشد) به طوری که نرخ جوجه درآوری متغیر وابسته و تیمارها متغیر مستقل در نظر گرفته شد. نرخ جوجه‌درآوری همچنین با رویه GLM نرم افزار SAS 9.2 بررسی شد. در پایان داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS 9.2 در قالب طرح کاملا تصادفی آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی -کرامر انجام شد. همچنین نتایج به صورت میانگین ±خطای استاندارد گزارش شدند.

نتایج و بحث

جوجه‌درآوری

بر اساس نتایج (با استفاده ازهر دو روش رویه لجستیک و رویه GLM)، میانگین جوجه‌درآوری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت و درصد جوجه‌درآوری در گروه شم شاهد ۲۸/۰۶ درصد، در گروه شاهد ٤٨/١٦ درصد، در گروه تزریق درون تخم مرغی ۰/۵ درصد آرژنین ٤٩/٠٨ درصد و در گروه تزریق درون تخم مرغی ۱ درصد آرژنین ۳۹/۸۹ درصد بود (P>۰/۰۵). تفاوت معنی داری در جوجه درآوری این دو گروه شاهد وجود نداشت، که احتمالا به دلیل تفرق داده ها باشد.

برخلاف نتایج پژوهش حاضر، ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۸a) با تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال-آرژنین به ال-لیزین، ال-دراجی و همکاران (۲۰۱۲) با تزریق درون تخم مرغی ال آرژنین در تخم بلدرچین ژاپنی و ادواردز و همکاران (۲۰۱٦) با تزریق درون تخم مرغی ال آرژنین در تخم‌مرغ بهبود جوجه‌درآوری را مشاهده کردند. سوبرامانیان و همکاران (۲۰۱۹) با تزریق درون تخم مرغی ۱۰۰ میکروگرم ال-آرژنین در روزهای ١٤ و ١٨ دوره جوجه کشی افزایش زنده مانی جوجه‌ها را گزارش کردند و نشان دادند که زنده مانی بر اساس روز تزریق و دوز تزریق متغیر بوده است و روز ١٤ به عنوان بهترین روز برای تزریق درون تخم مرغی آرژنین گزارش شد.

Table 1- Ingredient composition and nutrient concentrations of the starter and grower diets of broilers

Ingredients (%)	Starter (d 1-10)	Grower (d 1-24)
Corn grain	51.55	58.69
Corn gluten meal	1	2.5
Soybean meal	38.6	29.8
Anchovy fish meal	2.5	4
Fatty acid	1.4	0.8
Dicalcium phosphate	2	1.75
Sodium bicarbonate	1.2	1.1
Common salt	0.18	0.17
Calcium carbonate	0.06	-
Vitamin and Mineral premix	0.6	0.5
DL-Methionine	0.33	0.32
L-Lysine HCl	0.25	0.27
Vitamin D3	0.1	-
Vitamin E	0.1	-
Choline chloride	0.08	-
Anti-coccidial powder	0.05	0.05
0.05% antifungal powder	-	0.05
Nutrient concentration (%)		
Metabolizable energy (kcal/kg)	3000	3050
Crude protein	21.5	19.5
Lysine	1.33	1.1
Methionine	0.55	0.52
Available phosphorus	0.5	0.45
Calcium	1	0.9
Sodium	0.2	0.18
Chloride	0.2	0.18

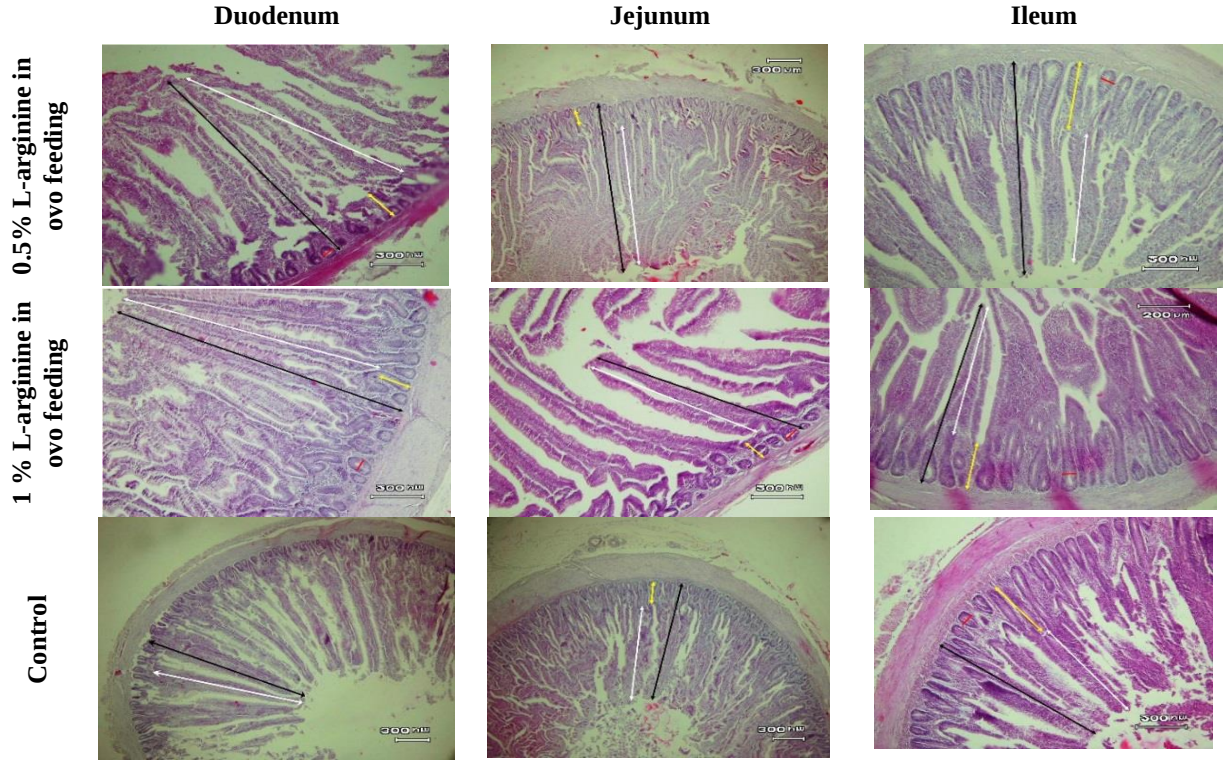

Figure 1- Duodenum, jejunum, ileum tissues in different in ovo injections of L-arginine treatments (black arrow indicates mucosal thickness, yellow arrow indicates crypt depth, white arrow indicates villus height and red arrow indicates villus thickness).

وزن جوجه‌ها، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک

بر اساس نتایج وزن جوجه یک روزه، نسبت وزن جوجه یک روزه به وزن تخم مرغ، وزن جوجه ۱۰ و ۲٤ روزه هیچ یک تحت تاثیر تیمارهای تزریق درون تخم مرغی آرژنین قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). همچنین نتایج نشان دادند که افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در بازه زمانی ۱ تا ۲٤ روزگی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵) (جدول ۲). مخالف با نتایج پژوهش حاضر، گائو و همکاران (۲۰۱۷) با تزریق درون تخم مرغی ۱ درصد آرژنین افزایش وزن جوجه یک روزه و همچنین افزایش وزن تا ۷ روزگی را گزارش کردند. نایاک و همکاران (۲۰۱٦) با تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد آرژنین در روز ۱۸ دوره جنینی و سپس پرورش جوجه‌های گوشتی تا روز ۲۱، افزایش وزن در زمان هچ، افزایش وزن بدن در روز ۲۱ دوره پرورش و افزایش وزن روزانه طی این دوره را گزارش کردند، با این حال مصرف خوراک و بازده خوراک مصرفی تحت تاثیر تیمار تزریق درون تخم مرغی آرژنین قرار نگرفت. ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۸a) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف آرژنین به لیزین اثر افزایشی بر وزن جوجه داشت. ساکی و همکاران (۲۰۱۳) عدم تاثیر معنی دار تزریق درون تخم مرغی آرژنین بر وزن زنده جوجه‌ها و مصرف خوراک را تا ۲۱ روزگی گزارش کردند، با این حال، ضریب تبدیل خوراک به طور معنی‌داری در اثر تیمار تزریق درون تخم مرغی آرژنین پایین‌تر از گروه شاهد بود. عبدالعلی‌زاده الوانق و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین تا سطح ۹۰/۷ درصد موجب افزایش معنی‌داری در وزن جوجه‌ها شد. قوچخانی و همکاران (۲۰۱۷) با تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لیزین افزایش وزن جوجه یک روزه را گزارش کردند.

صفات لاشه

بیشتر شاخص‌های صفات لاشه در کشتار ۲٤ روزگی (وزن نسبی لاشه پوست کنده، بازده لاشه، وزن نسبی سینه، وزن نسبی ران، وزن نسبی چربی محوطه شکمی، وزن نسبی سنگدان، وزن نسبی قلب، وزن نسبی کبد، وزن نسبی پانکراس و وزن نسبی پیش معده) تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند (P>۰/۰۵)، (جدول۲). نتایج پژوهش حاضر مخالف با سایر پژوهش‌ها بود به طوری که عبدالعلی‌زاده الوانق و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف آرژنین به لیزین اثر افزایشی بر وزن نسبی لاشه پوست کنده، بازده لاشه، وزن نسبی ران، وزن نسبی سینه، و وزن نسبی کبد داشت. قوچخانی و همکاران (۲۰۱۷) با تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لیزین افزایش وزن نسبی لاشه پوست کنده،بازده لاشه، وزن نسبی سینه و وزن نسبی قلب را گزارش کردند. سایر پژوهش‌ها اثر سطوح بالای آرژنین در جیره غذایی را بر بهبود رشد گزارش کردند. ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۳ و ۲۰۱٤) با افزودن آرژنین به مقدار ۱۵۳ و ۱٦۸ درصد آرژنین قابل هضم توصیه شده بر مبنای برنامه غذایی راس (افزایش نسبت آرژنین به لیزین) اثر افزایشی بر رشد را مشاهده کرده و گزارش دادند که افزودن آرژنین تا این سطح اثر منفی بر جذب لیزین نداشته و از رشد حمایت می‌کند. فرناندز و همکاران (۲۰۰۹) نیز در آزمایش مشابهی نشان دادند که جیره‌های غذایی با ۵ سطح آرژنین قابل هضم (۱/۳۹، ۱/٤۹، ۱/۵۸، ۱/٦۹ و ۱/۷۹ درصد) که دارای نسبت‌های آرژنین به لیزین به ترتیب ۱/۱۰۳، ۱/۱۸۳، ۱/۲٦۲، ۱/۳٤۱ و ۱/٤۲۱ (مقدار ثابت لیزین ۱/۲٦ درصد) در مرحله آغازین بودند، موجب افزایش خطی وزن ماهیچه سینه، فیله سینه و قطر میوفیبریل‌ها شد. جیاوو و همکاران (۲۰۱۰) با مقایسه سطوح مختلف آرژنین (۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ و ۱٤۰ درصد احتیاجات NRC ۱۹۹٤) نشان دادند که مکمل آرژنین به طور معنی‌داری رشد ماهیچه ران و سینه را افزایش می‌دهد و با افزایش سطح آرژنین این افزایش به ویژه در سینه بیشتر افزایش می‌یابد. وو و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که مکمل آرژنین در اردک وزن زنده بدن و نسبت وزن ماهیچه سینه به وزن زنده بدن را افزایش می‌دهد.

مشخص شده است که آرژنین از طریق چندین مسیر از جمله تحریک آزادسازی هورمون‌های پانکراسی و هیپوفیزی (انسولین و هورمون رشد)، تولید پلی آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) و تولید اکسید نیتریک رشد پرندگان را بهبود می‌دهد (جوبگن و همکاران ۲۰۰۶، فرناندز و همکاران ۲۰۰۹ و خواجعلی و وایدرمن ۲۰۱۰). با این حال تزریق درون تخم مرغی آرژنین نتوانست بهبود معنی دار وزن و شاخص‌های لاشه در ۲۴ روزگی را در پی داشته باشد.

بر اساس نتایج تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال- آرژنین بر غلظت کلسترول، گلوکز، پروتئین تام و BUN سرمی معنی دار نبود (P>۰/۰۵)، در حالی که غلظت تری‌گلیسرید سرم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۱) و بیشترین مقدار در سطح ۰/۰۵ درصد آرژنین مشاهده گردید (جدول۲). مخالف با نتایج این پژوهش عبدالعلی‌زاده الوانق(۲۰۱۷) گزارش کردند تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین تا سطح ۹۰/۷درصد غلظت اوره سرم خون را به طور معنی‌داری کاهش داد. ابراهیمی و همکاران(۲۰۱۳، ۲۰۱۵، ۲۰۱۶a) نشان دادند که افزایش آرژنین جیره غذایی جوجه‌های گوشتی موجب کاهش غلظت پلاسمایی تری گلیسرید، کلسترول و اوره شد. قوچخانی و همکاران (۲۰۱۷) با تغذیه درون تخم¬مرغی نسبت‌های مختلف دی- ال‌متیونین به ال-لیزین اثر افزایشی بر غلظت پروتئین کل سرمی و کاهش غلظت تری¬گلیسرید و اوره سرم را گزارش کردند. در پژوهش حاضر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف آرژنین موجب افزایش غلظت تری‌گلیسرید پلاسمایی شد که ممکن است از طریق نقش گلوکوژنیک آرژنین در افزایش قند خون و بنابراین افزایش ساخت تری‌گلیسرید اعمال شده باشد (کورزو و کید، ۲۰۰۳؛ ملمد و همکاران ۲۰۱۵).

وزن نسبی ژژنوم به طور معنی داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و بیشترین وزن در تیمار ۰/۵ درصد آرژنین مشاهده شد (P<۰/۰۵)، این در حالی است که سایر شاخص‌های وزنی و طولی روده کوچک تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵)، (جدول ۳).

نتایج بافت شناسی بافت دوازدهه نشان داد ارتفاع پرز، پهنای پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ضخامت مخاط تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند و بهترین پاسخ در تیمار ۱ درصد آرژنین مشاهده شد (جدول ۳). از سوی دیگر، قطر کریپت بافت دوازدهه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، (جدول ۳). نتایج بافت شناسی بافت ژژنوم نبود تاثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایش بر ارتفاع پرز، عمق کریپت، قطر کریپت و ضخامت مخاط را نشان داد (P>۰/۰۵)، (جدول ۳). اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-آرژنین بر پهنای پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بافت ژژنوم معنی دار بود (P<۰/۰۵) و هر دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد ال-آرژنین پاسخ بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند (جدول۳). نتایج بافت شناسی بافت ایلئوم نشان داد ارتفاع پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ضخامت مخاط تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵)، (جدول ۳). نتایج افزایش پهنای پرز ایلئوم را بر اثر تزریق درون تخم‌مرغی ۱ درصد ال-آرژنین نسبت به گروه‌های ۰/۵ درصد آرژنین و شاهد نشان داد (P<۰/۰۵)، (جدول ۳). قطر کریپت ایلئوم به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای تزریق درون تخم‌مرغی ال-آرژنین قرار گرفت (P≤۰/۰۱) و کم‌ترین مقدار در گروه ۰/۵ درصد ال-آرژنین مشاهده شد (جدول ۳).

Table 2- The impact of L-arginine in ovo feeding on growth performance, carcass traits, and blood metabolites of broiler chickens.

Traits*	Different levels L-arginine in ovo feeding			P-value
	0.5%	1 %	Control	
Performance				
Chick weight (d 1, g/bird)	39.67±0.38	38.76±0.41	39.31±0.42	0.26
Chick weight to egg weight ratio (%)	71.21±0.68	69.39±0.73	70.51±0.75	0.19
Chicken weight (d 10, g/bird)	226.77±20.88	219.45±20.88	218.50±20.88	0.95
Chicken weight (d 24, g/bird)	821.44±24.89	830.03±24.89	854.64±24.89	0.63
Daily weight gain (d 1-24, g/bird/d)	31.86±1.06	31.57±1.06	33.47±1.06	0.42
Feed intake (d 1-24, g/bird)	54.43±3.27	62.79±3.27	66.27±3.27	0.08
Feed conversion ratio (d 1-24)	1.63±0.06	1.83±0.06	1.77±0.06	0.10
Carcass traits (d 24, %)				
Relative weight of scalped carcass	71.52±0.55	71.79±0.55	71.64±0.55	0.94
Carcass yeild	59.14±0.45	58.71±0.45	58.07±0.45	0.25
Relative weight of breast	24.08±0.30	24.40±0.30	23.55±0.30	0.14
Relative weight of thigh	16.67±0.31	16.97±0.31	16.87±0.31	0.78
Relative weight of abdominal fat	0.37±0.04	0.35±0.04	0.39±0.04	0.67
Relative weight of gizzard	2.64±0.08	2.47±0.08	2.47±0.08	0.07
Relative weight of heart	0.67±0.02	0.65±0.02	0.62±0.02	0.26
Relative weight of liver	2.31±0.07	2.28±0.07	2.26±0.07	0.87
Relative weight of pancrease	0.37±0.02	0.33±0.02	0.33±0.02	0.22
Relative weight of proventriculus	0.49±0.01	0.47±0.01	0.47±0.01	0.62
Blood metabolites				
Cholesterol (mg/dl)	132.98±5.93	123.70±5.13	127.17±5.63	0.50
Glucose (mg/dl)	219.94±8.03	212.27±6.95	208.83±7.62	0.60
Total protein(g/dl)	2.72±0.12	2.62±0.11	2.46±0.12	0.30
Triglyceride (mg/dl)	33.22±1.62^{a}	29.08±1.04^{ab}	25.11±1.53^{b}	<0.01
Blood urea nitrogene (BUN, mg/dl)	1.61±0.15	1.52±0.13	1.26±0.14	0.22

* Data are included least square means±standard error. ^{a,b} Means within the same line with different superscripts

مشابه با نتایج پژوهش حاضر، ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۸a) گزارش کردند اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف آرژنین به لیزین بر طول ژژنوم، طول ایلئوم، طول روده کوچک و وزن نسبی روده کوچک و همچنین عمق کریپت، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و ایلئوم، قطر کریپت ژژنوم و پهنای پرز دوازدهه و ژژنوم معنی‌دار بود و بالاترین مقدار در بیشتر شاخص‌ها در نسبت ۹۰/۷ درصد آرژنین به لیزین مشاهده شد. دایی و همکاران (۲۰۲۰) با تزریق درون تخم مرغی آرژنین افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه جوجه‌های ۱۴ روزه، افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم جوجه‌های ۳ و ۱۴ روزه و افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ایلئوم جوجه‌های ۳ روزه سویه تخم گذار را گزارش کردند. ادواردز و همکاران (۲۰۱۶) با تزریق ال- آرژنین به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ در روز ۹ جوجه‌کشی افزایش وزن و طول ایلئوم به همراه افزایش تعداد پرزهای ژژنوم روده کوچک را گزارش کردند. گائو و همکاران (۲۰۱۷) با تزریق درون تخم مرغی ۱ درصد آرژنین افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت را به همراه کاهش عمق کیپت در جوجه‌های گوشتی گزارش کردند. همچنین بهبود شاخص‌های آنزیمی روده کوچک با تزریق درون تخم مرغی آرژنین گزارش شده است (فویه و همکاران ۲۰۰۷؛ گائو و همکاران ۲۰۱۷ و یو و همکاران ۲۰۱۸). ابراهیمی و همکاران (b۲۰۱۶) با افزایش سطوح

آرژنین خوراک جوجه‌های گوشتی بهبود شاخص‌های هیستومورفولوژیکی روده کوچک جوجه‌های گوشتی را گزارش کردند. کاسترو و همکاران (۲۰۲۰) با افزایش سطوح آرژنین جیره جوجه‌های گوشتی بهبود نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه را با تغذیه ۱/۲٤ درصد گزارش کردند. همچنین الوان و همکاران (۲۰۱۹) با تزریق درون تخم مرغی متیونین سیستئین بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی روده کوچک و همچنین افزایش ارتفاع پرز، پهنای پرز و عمق کریپت ژژنوم در جوجه‌های گوشتی را گزارش کردند. ابراهیمی و همکاران(a۲۰۱۸) گزارش کردند تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لیزین موجب افزایش وزن نسبی ایلئوم، طول ایلئوم، وزن نسبی روده کوچک، طول و طول نسبی روده کوچک، قطر کریپت (به جز دوازدهه)، عمق کریپت، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی شد.

پلاسکه و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که ارتفاع پرز همبستگی مثبتی با افزایش وزن زنده بدن و مصرف خوراک دارد. کریپت به عنوان کارخانه تولید پرز در نظر گرفته می‌شود (یاسون و همکاران ۱۹۸۷). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به عنوان یک شاخص برای تخمین ظرفیت هضمی روده کوچک در نظر گرفته می‌شود. کاهش در نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به عنوان یک عامل مضر در هضم و جذب در نظر گرفته می‌شود. همچنین کاهش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت با افزایش سرعت تکثیر سلول‌های کریپتی و تعداد سلول‌های دارای DNA تجزیه شده (نشان‌دهنده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) همراه است که هر دو نشان دهنده ترن‌آور بالاتر سلول‌های روده است (پلاسکه و همکاران ۱۹۹۷). افزایش تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال روده‌ای با افزایش هزینه متابولیکی نگه‌داری مسیر رودی، عملکرد رشد را تحت تاثیر قرار می‌دهد (هرسام و همکاران ۲۰۰٤). مک‌براید و کلی (۱۹۹۰) تخمین زدند انرژی نگه داری اپی‌تلیوم روده‌ای و ساختارهای محافظ آن ۲۰ درصد کل انرژی مصرفی حیوان را شامل می‌شود و هر چه بازسازی موکوس روده‌ای بیشتر باشد، انرژی خالص قابل استفاده برای حیوان کمتر خواهد بود. کلی و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند ارتفاع پرز به صورت مثبتی با وزن بدن و مصرف خوراک همبستگی دارد. با توجه به مشاهده آثار مثبت و افزایش دهنده آرژنین بر ارتفاع پرز و عمق کریپت، به نظر می‌رسد قسمتی از این اثرات آرژنین از طریق تولید پلی‌آمین‌ها در سلول‌های کریپت روده و پرزهای روده‌ای (وانگ و همکاران ۲۰۰۹؛ وو و همکاران a۲۰۰۰ و b) است. نتیجه افزایش پلی‌آمین‌ها افزایش تولید پروتئین و DNA و رشد بافت روده (بلاشیر و همکاران ۲۰۰۷؛ وو و همکاران ۲۰۰۹) است. تن و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند آرژنین تولید پروتئین را افزایش داده و تجزیه پروتئین در بافت روده را کاهش می‌دهد.

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش تاثیر غیر معنی دار تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-آرژنین بر جوجه‌درآوری، وزن جوجه یک روزه، نسبت وزن جوجه یک روزه به وزن تخم مرغ، وزن جوجه ۲٤ روزه، افزایش وزن روزانه وضریب تبدیل خوراک نشان داد. با این حال تزریق درون تخم‌مرغی ال-آرژنین اثر معنی دار و بهبود دهنده بر تری گلیسرید سرم، وزن نسبی ژژنوم، ارتفاع پرز، پهنای پرز، ضخامت مخاط، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه ، پهنای پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و پهنای پرز و قطر کریپت ایلئوم داشت. بر اساس نتایج کلی پژوهش، تزریق سطح ۰/۵ درصد آرژنین تاثیر مثبت بر رشد و مورفولوژی روده کوچک نشان داد.

Table 3-The impact of L-arginine in ovo feeding on small intestine weight and length parameters and small intestine histology of 24-day old chickens.

	Different levels L-arginine in ovo feeding			
Traits*	**0.5%**	**1 %**	**Control**	**P-value**
Small intestine weight and length				
Relative weight of duodenum (%)	0.82±0.04	0.78±0.04	0.77±0.04	0.70
Duodenum length(cm)	24.33±0.75	22.87±0.75	23.92±0.75	0.38
Relative weight of the jejunum (%)	1.63±0.06^{a}	1.36±0.06^{b}	1.45±0.06 ^{b}	0.02
Jejunum length (cm)	51.67±1.32	48.37±1.32	50.67±1.32	0.21
Relative weight of ileum (%)	1.24±0.04	1.24±0.04	1.30±0.04	0.52
Ileum length (cm)	50.75±1.55	50.00±1.55	53.17±1.55	0.33
Relative intestinal weight (%)	3.68±0.12	3.38±0.12	3.53±0.12	0.20
Length of small intestine (cm)	126.75±2.90	121.25±2.90	127.75±2.90	0.25
Relative length of small intestine (%)	14.95±0.39	14.10±0.39	14.39±0.39	0.32
Small intestine histology				
Duodenum				
Villus height (µm)	1122.00±47.79^{b}	1311.75±47.79^{a}	1179.75±47.79^{ab}	0.05
Villus thickness(µm)	169.52±11.60^{a}	176.04±11.60^{a}	130.40±11.60^{b}	0.04
Crypt depth (µm)	198.86±9.58^{a}	192.34±9.58^{a}	153.22±9.58^{b}	0.02
Villus height/crypt depth ratio (%)	5.68±0.29^{b}	6.85±0.29^{a}	7.71±0.29^{a}	<0.01
Crypt diameter (µm)	61.94±5.95	68.46±5.95	65.20±5.95	0.75
Mucosal thickness (µm)	1402.50±23.17^{b}	1518.00±23.17^{a}	1427.25±23.17^{b}	0.01
Jejunum				
Villus height (µm)	1006.50±56.02	1056.00±56.02	932.25±56.02	0.33
Villus thickness(µm)	153.22±10.59^{a}	149.96±10.59^{a}	104.32±10.59^{b}	0.02
Crypt depth (µm)	152.13±7.96	159.74±7.96	182.56±7.96	0.06
Villus height/crypt depth ratio (%)	6.62±0.40^{a}	6.65±0.40^{a}	5.15±0.40^{b}	0.04
Crypt diameter (µm)	58.68±5.36	74.98±5.36	78.24±5.36	0.06
Mucosal thickness (µm)	1262.25±77.05	1311.75±77.05	1179.75±77.05	0.50
Ileum				
Villus height (µm)	594.00±52.68	569.25±52.68	610.50±52.68	0.86
Villus thickness(µm)	117.36±10.54^{b}	159.74±10.54^{a}	114.10±10.54^{b}	0.02
Crypt depth (µm)	179.30±7.98	153.22±7.98	156.48±7.98	0.09
Villus height/crypt depth ratio (%)	3.30±0.31	3.75±0.31	3.89±0.31	0.41
Crypt diameter (µm)	55.42±4.31^{b}	71.72±4.31^{a}	78.75±4.31^{a}	0.01
Mucosal thickness (µm)	841.50±59.17	750.75±59.17	924.00±59.17	0.17

* Data are included least square means±SE. a,b,c Different superscripts within the same line means significant differences (P<0.05).

References

Abdolalizadeh Alvanegh F, Ebrahimi M, Daghigh Kia H, 2017. Effect of in ovo injection of different ratios of L-arginine to L-lysine on body growth, muscle production, and blood metabolites concentration of day old Ross broiler chicks. Iranian Journal of Animal Science 48: 207-217. (In Persian).

Al-Daraji HJ, Al-Mashadani AA, Al-Mashadani WK, Al-Hassani AS, Mirza HA, 2012. Effect of in ovo injection with L-arginine on productive and physiological traits of Japanese quail. South African Journal of Animal Science 42(2): 139-145.

Bhanja SK, Baran Mandal A, Agarwal SK, Majumdar S, 2012. Modulation of post hatch-growth and immunocompetence through in ovo injection of limiting amino acids in broiler chickens. Indian Journal of Animal Sciences 82(9): 993-998.

Bhanja SK, 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-Australasian Journal of Animal Sciences 18(4): 524-531.

Blachier F, Mariotti F, Huneau JF, Tomé D, 2007. Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. Amino acids 33(4): 547-562.

Castro FL, Teng PY, Yadav S, Gould RL, Craig S, Pazdro R, Kim WK, 2020. The effects of L-Arginine supplementation on growth performance and intestinal health of broiler chickens challenged with Eimeria spp. Poultry Science 99(11): 5844-5857.

Corzo A, Kidd MT, 2003. Arginine needs of the chick and growing broiler. International Journal of Poultry Science 2(6): 379-382.

Dai D, Wu SG, Zhang HJ, Qi GH, Wang J, 2020. Dynamic alterations in early intestinal development, microbiota and metabolome induced by in ovo feeding of L-arginine in a layer chick model. Journal of Animal Science and Biotechnology 11(1): 1-16.

Ebrahimi M, Abdolalizadeh Alvanagh F, Adibmoradi M, Janmohammadi H, Rajabi Z, 2018a. The impact of in ovo feeding with different L- arginine to L- lysine ratios on small intestine histological characteristics and immune system organs in day-old chicks. Animal Science Research 2: 177-191. (In Persian).

Ebrahimi M, Ghochkhani R, Adibmoradi M, Rajabi Z, 2018b. The effect of in ovo injection of different DL-methionine to L-lysine ratios on small intestinal histomorphology and immune system organs in day-old broiler chicks. Veterinary Clinical Pathology 12: 55-68. (In Persian).

Ebrahimi M, Janmohammadi H, Daghigh Kia H, Moghaddam G, Rajabi Z, Rafat SA, Javanmard A, 2017. The effect of L-lysine in ovo feeding on body weight characteristics and small intestine morphology in a day-old Ross broiler chicks. Revue de Médecine Vétérinaire 168: 116-125.

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, 2015. The effects of feeding high levels of L-arginine at the starter period on meat production and its quality, and blood parameters in broiler chicks. Irananin Journal of Animal Science Research 46: 169-179. (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, 2016a. Evaluation of 24 days feeding L-arginin on performance, meat quality and blood metabolites in broilers. Animal Science Research 25: 61-72. (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Ghafari Balesini M, 2016b. The effects of dietary L-arginine on some parameters of meat quality, intestine histology and immune system of 46-d old broiler chickens. Animal Science Research 26: 83-96. (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Tebianian M, Adibmoradi M, Nourijelyani K, 2013. Evaluation of the effect of feeding L-arginine on growth performance, carcass traits and blood parameters in broiler chickens. Irananin Journal of Animal Science Research 44: 157-166. (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Tebianian M, Adibmoradi M, Nourijelyani K, 2014. The effects of L-arginine supplement on growth, meat production, and fat deposition in broiler chickens. Irananin Journal of Animal Science Research 5: 281-290. (In Persian).

Edwards NM, Heberle ND, Hynd PI, 2016. The effect of in ovo administration of L-arginine on the hatchability and embryological development of broiler chicks. ASAP Animal Production.

Elwan HA, Elnesr SS, Xu Q, Xie C, Dong X, Zou X, 2019. Effects of in ovo methionine-cysteine injection on embryonic development, antioxidant status, IGF-I and tlr4 gene expression, and jejunum histomorphometry in newly hatched broiler chicks exposed to heat stress during incubation. Animals 9(1): 25.

Fernandes JI, Murakami AE, Martins EN, Sakamoto MI, Garcia ER, 2009. Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein: deoxyribonucleic acid rate of its skeletal myofibers in broilers. Poultry Science 88(7): 1399-1406.

Foye OT, Ferket PR, Uni Z, 2007. The effects of in ovo feeding arginine, β-hydroxy-β-methyl-butyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. Poultry Science 86(11): 2343-2349.

Foye OT, Uni Z, McMurtry JP, Ferket PR, 2006. The effects of amniotic nutrient administration,"in-ovo feeding" of arginine and/or ß-hydroxy-ß-methyl butyrate (HMB) on insulin-like growth factors, energy metabolism and growth in turkey poults. International Journal of Poultry Science 5(4): 309-317.

Frdoost B, Ebrahimi M, Moghaddam G, Olyaee M, Adib Moradi M, Alijani S, 2019. The effect of in ovo feeding of L-methionine on carcass traits, small intestine morphology, and blood metabolites of day-old broiler chicks. Animal Science Research 29(1): 175-188.

Gao T. M. M. Zhao, Y. J. Li, L. Zhang, J. L. Li, L. L. Yu, F. Gao and G. H. Zhou. 2017. Effects of in ovo feeding of L-arginine on the development of digestive organs, intestinal function and post-hatch performance of broiler embryos and hatchlings. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2017: 1–10.

Geyra A, Uni Z, Sklan D, 2001. 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(1): 53-61.

Ghochkhani R, Ebrahimi M, Daghigh Kia H, and Rafa SA. 2017. Effects of in ovo feeding with different ratios of D-L methionine to L- lysine on carcass parameters and blood metabolite concentrations in day-old Ross broiler chicks. Animal Science Research 27(1): 143-158

Hersom MJ, Krehbiel CR, Horn GW, 2004. Effect of live weight gain of steers during winter grazing: II. Visceral organ mass, cellularity, and oxygen consumption. Journal of Animal Science 82(1): 184-197.

Jiao P, Guo Y, Yang X, Long F, 2010. Effects of dietary arginine and methionine levels on broiler carcass traits and meat quality. Journal of Animal and Veterinary Advances 9(11): 1546-1551.

Jobgen WS, Fried SK, Fu WJ, Meininger CJ, Wu G, 2006. Regulatory role for the arginine–nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. The Journal of Nutritional Biochemistry 17(9): 571-588.

Kelly D, Smyth JA, McCracken KJ, 1991. Digestive development of the early-weaned pig: 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. British journal of Nutrition 65(2): 169-180.

Khajali F, Wideman RF, 2010. Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. World's Poultry Science Journal 66(4): 751-766.

McBride BW, Kelly JM, 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. Journal of Animal Science 68(9): 2997-3010.

Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, 2015. Williams Textbook of Endocrinology E-Book. Elsevier Health Sciences.

Nayak N, Rajini RA, Ezhilvalavan S, Sahu AR, Kirubaharan JJ, 2016. Influence of inovo arginine feeding on post-hatch growth performance and economics of broilers. Journal of Animal Science 6: 585-591.

Ohta Y, Tsushima N, Koide K, Kidd MT, Ishibashi T,1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. Poultry Science 78(11): 1493-1498.

Pluske JR, Hampson DJ, Williams IH, 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. Livestock Production Science 51(1-3): 215-236.

Saki A, Haghighat M, Khajali F, 2013. Supplemental arginine administered in ovo or in the feed reduces the susceptibility of broilers to pulmonary hypertension syndrome. British Poultry Science 54(5): 575-580.

Salary J, Sahebi-Ala F, Kalantar M, Matin HR, 2014. In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 4: 616- 619.

SAS Institute Inc, 2008. SAS/STAT User's Guide, Version 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Subramaniyan SA, Kang DR, Park JR, Siddiqui SH, Ravichandiran P, Yoo DJ, Na CS, Shim KS, 2019. Effect of in ovo injection of l-arginine in different chicken embryonic development stages on post-hatchability, immune response, and Myo-D and myogenin proteins. Animals 9(6): 357.

Tan B, Yin Y, Kong X, Li P, Li X, Gao H, Li X, Huang R, Wu G, 2010. L-Arginine stimulates proliferation and prevents endotoxin-induced death of intestinal cells. Amino Acids 38: 1227–1235.

Turk DE, 1982. The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. Poultry Science 61(7): 1225-1244.

Wang WW, Qiao SY, Li DF, 2009. Amino acids and gut function. Amino acids 37(1): 105-110.

Wu G, Bazer FW, Davis TA, Kim SW, Li P, Rhoads JM, Satterfield MC, Smith SB, Spencer TE, Yin Y 2009. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. Amino Acids 37(1): 153-168.

Wu G, Flynn NE, Knabe DA, 2000a. Enhanced intestinal synthesis of polyamines from proline in cortisol-treated piglets. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 279(2): 395- 402.

Wu G, Flynn NE, Knabe DA, Jaeger LA, 2000b. A cortisol surge mediates the enhanced polyamine synthesis in porcine enterocytes during weaning. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 279(2): 554-559.

Wu LY, Fang YJ, Guo XY, 2011. Dietary L-arginine supplementation beneficially regulates body fat deposition of meat-type ducks. British Poultry Science 52: 221-226.

Yason CV, Summers BA, Schat KA, 1987. Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: Pathology. American Journal of Veterinary Research 48(6): 927-938.

Yu LL, Gao T, Zhao MM, Lv PA, Zhang L, Li JL, Jiang Y, Gao F, Zhou GH, 2018. In ovo feeding of L-arginine alters energy metabolism in post-hatch broilers. Poultry Science 97(1):140-8.

The impact of in ovo injection with L- arginine on carcass traits, blood metabolites, and small intestine histology of broiler chickens

Marziyeh Ebrahimi[1‡], Somayeh Omidi[2], Hossein Janmohammadi[3], Davoud Kianifard[4]

Received: February 3, 2022 Accepted: July 19, 2022

[1] Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
[2] Msc student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
[3] Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
[4] Associate professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Iran
* Corresponding author: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research
Journal of Animal Science/vol.34 No.1/ 2024/pp 77-91
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/as.2022.50227.1647

Introduction: At the last days of incubation, avian mortality commonly happens due to the lack of enough nutrients and amino acids (Fardoost et al. 2019). However, in ovo injection or in ovo feeding is considered a new technique for improving growth of chickens (Ebrahimi et al. 2017). Most studies indicated improving effect of in ovo feeding of nutrients (especially amino acids) on small intestine growth and histology as well as higher absorptive capacity of digestive system (Ebrahimi et al. 2017, 2018a,b; Elwan et al. 2019; Fardoost et al. 2019). Previous studies indicated an improving effect of excess feeding of arginine on growth performance, carcass traits, blood metabolites, and intestinal histology of broilers (Ebrahimi et al. 2013, 2014, 2016b). However, there are few records regarding the impact of in ovo injection of arginine on intestine histology of chickens. Accordingly, the present study was designed to evaluate the effect of in ovo injection of different levels of arginine on carcass traits, blood metabolites, and small intestine histology of broiler chickens.

Materials and methods: For this reason, 300 fertile broiler breeder eggs were divided into three treatment groups: 1- 0.5% L-arginine in ovo injection group (100 eggs), 2- 1% L-arginine in ovo injection group (100 eggs), 3- control group included distilled water injected (sham-control subgroup, 50 eggs) and non-injected (control subgroup, 50 eggs). Eggs were then set into the incubator for the first 18 days with the temperature of 37.8°C and six rotations per day. At d 14 of incubation, eggs were injected into the amniotic fluid (Ebrahimi et al. 2017) as follows: 1- in ovo injection of 5 mg L-arginine/ ml distilled water, 2- in ovo injection of 10 mg of L-arginine/ml distilled water, 3- control group included sham-control (in ovo injection of 1 ml distilled water) and control (received no injection). For in ovo injection, solution pH was set at 7.0. At d 18 of incubation, eggs were moved into hatchery boxes. After hatching, chicks were reared for 24 days. During the experiment, chicks received standard commercial diets based on Ross recommendations as starter (0-10 days) and grower (11-24 days), (Table 1). At d 24, blood samples of three chickens per each replicate were collected, centrifuged (3000 rpm for 20 minutes), and serum was separated to evaluate cholesterol, glucose, triglyceride, uric acid, and total protein by the Enzymatic Colorimetric method (Ebrahimi et al. 2017). Then, all birds were weighed, slaughtered, some carcass traits (scalped carcass, eviscerated carcass,

‡ **Corresponding author:** marzebrahimi@tabrizu.ac.ir. Postal Address: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, P.O.Box # 5166616471, Tabriz, East Azerbaijan, Iran. Tel/Fax: +984133356004.

breast, thigh, gizzard, proventriculus, pancreas liver without gall bladder, heart, duodenum , jejunum, and ileum were weighed, and their relative weight to chicken body weight were calculated.

Also, length of duodenum , jejunum, and ileum was evaluated and their samples were stored in 10% formalin for fixation to evaluate histological parameters (crypt depth, villus height, villus thickness, mucosal thickness, and crypt diameter) using Hematoxylin - Eosin staining method (Ebrahimi et al. 2017). Then, villus height to crypt depth ratios were calculated. Afterwards, data were analyzed based on a completely randomized design by the Proc GLM of SAS software (Ver 9.2). Also, Tukey-Kramer test was used for comparing treatments and results presented as least square means ± standard error.

Results and discussion: Based on the results, in ovo injection of different levels of L-arginine did not affect hatchability, day-old chick weight, chick weight to egg weight ratio, 24-day-old chicken weight, feed conversion ratio, relative weight of all carcass traits, cholesterol, glucose, total protein and blood urea nitrogen (P> 0.05), (Table 2). However, serum triglyceride was significantly affected by experimental treatments (P <0.01) and the highest amount was observed in 0.5% L-arginine in ovo injection group (Table 2). In a similar study, Gao et al. (2017) indicated that L- arginine in ovo injection increased weight gain of broiler chickens. Furthermore, Abdolalizadeh Alvanegh et al. (2017) reported the improving effect of in ovo injection of different ratios of L- arginine to L- lysine on chick weight and their carcass traits. Also, they reported higher serum total protein level, while lower blood urea nitrogen of broiler chicks with in ovo injection of different ratios of L- arginine to L- lysine (Abdolalizadeh Alvanegh et al., 2017).

Present results indicated no significant effect of in ovo injection of L-arginine on most weight and length parameters of small intestine length (P>0.05); however, relative weight of jejunum was significantly affected by in ovo injection of L-arginine (P<0.05) and the highest amount was observed in 0.5% L-arginine in ovo injection group (Table 3). Present results indicated no significant effect of in ovo injection of L-arginine on duodenal crypt diameter; jejunal villus height, crypt depth and diameter, and mucosal thickness; and ileum villus height, crypt depth, villus height/crypt depth ratio, and mucosal thickness (P>0.05), (Table 3). However, significant effect of in ovo injection of L-arginine was observed on duodenal villus height, villus thickness, crypt depth, villus height/crypt depth ratio, and mucosal thickness; jejunal villus thickness and villus height/crypt depth ratio; and ilium villus thickness and crypt diameter (P<0.05), (Table 3). Also, the highest amount in most histological parameters was observed in 1% arginine treatment (Table 3). In a similar study, it was reported that in ovo injection of L- methionine had a positive impact on small intestine length and weight with improvement in villus height, crypt diameter, crypt depth, and villus height/crypt depth ratio of duodenum and jejunum (Fardoost et al. 2019). Also, in ovo injections of L- lysine improved histological parameters of duodenum, jejunum, and ileum (Ebrahimi et al. 2017). Ebrahimi et al. (2018b) with in ovo injection of different DL- methionine to L- lysine ratios reported higher small intestinal weight and length along with higher Villus height and Villus height to crypt depth ratio.

Conclusion:

Based on the overall results of the study, injection of 0.5% arginine showed a positive effect on the growth and small intestine morphology of broiler chickens.

Keywords: Blood parameters, Broiler chicken, Carcass traits, In ovo injection, Intestine histology, L-arginine.