نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۷ شماره ۱/ سال۱۳۹۶/ صفحات ۱۴۳ تا ۱۵۸

پیامدهای تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین بر شاخص‌های لاشه و غلظت متابولیت‌های خونی در جوجه‌های گوشتی یک روزه راس

رویا قوچخانی[۱]، مرضیه ابراهیمی[۲*]، حسین دقیق کیا[۳] و سید عباس رافت[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۶

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
[۲] استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
[۳] استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه: Email: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: افزودن برخی مواد مغذی به تخم‌مرغ می‌تواند به بهتر شدن رشد جنین یاری برساند. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی پیامدهای تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین بر شاخص‌های وزنی و غلظت متابولیت‌های خونی در جوجه‌های گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ انجام شد. **روش کار**: در این پژوهش از ۲۱۰ عدد تخم‌مرغ بارور مادر گوشتی راس ۳۰۸ در قالب طرح کامل تصادفی با ۷ گروه آزمایشی شامل ۳۰ عدد تخم‌مرغ انفرادی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون تزریق)، شاهد-شم (تزریق آب استریل)، تزریق محلول‌های حاوی نسبت‌های ۴۰/۵، ۴۵/۵، ۵۰/۵، ۵۵/۵ و ۶۰/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین در روز ۱۴ دوره جوجه‌کشی از قسمت پهن تخم‌مرغ به مایع آمنیوتیک بود. در روز ۲۲ آزمایش (یک روز پس از درآمدن از تخم‌مرغ)، تعداد ۴ قطعه جوجه از هر تکرار انتخاب، نمونه‌های خون از هر کدام جمع‌آوری و کشتار شدند تا شاخص‌های وزنی مورد اندازه‌گیری قرار گیرند. **نتایج**: نرخ جوجه‌درآوری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت ($P>0/05$). تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین اثر افزایشی بر وزن جوجه ($P<0/01$)، وزن نسبی لاشه پوست کنده ($P<0/01$)، بازده لاشه ($P<0/01$)، وزن نسبی سینه ($P<0/05$)، وزن نسبی قلب ($P<0/05$) و غلظت پروتئین کل سرمی ($P<0/05$) داشت، در حالی که غلظت تری‌گلیسرید ($P<0/01$) و اوره ($P<0/01$) سرم را کاهش داد. **نتیجه گیری نهایی**: با توجه به نتایج شاخص‌های وزنی و متابولیتی، افزودن متیونین تا نسبت ۵۵/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین می‌تواند از رشد جوجه‌ها حمایت کند.

واژگان کلیدی: تزریق درون تخم‌مرغی، جوجه گوشتی، عملکرد رشد، نسبت‌های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین، متابولیت‌های خونی

مقدمه

امروزه برای افزایش درصد جوجه‌درآوری، کاهش نرخ مرگ و میر، بهبود ضریب تبدیل خوراک، افزایش وزن زنده و جلوگیری از بیماری‌ها از تزریق درون تخم‌مرغی استفاده می‌شود (موران ۲۰۰۷). تغذیه درون جنینی به عنوان یک ابزار برای غلبه بر محدودیت رشد اولیه طی

مرحله رشد جنینی و پس از خروج از تخم در طیور اهلی محسوب می‌شود (فویه و همکاران ۲۰۰۶). به منظور تغذیه درون تخمی، می‌توان مواد مغذی را به درون مایع آمنیون جنین (فویه و همکاران ۲۰۰۶) یا به درون کیسه هوایی (وایدرمن و بوتجه ۲۰۰۰) تزریق کرد. در گونه های پرندگان به ویژه در جوجه های گوشتی، متیونین به عنوان نخستین اسیدآمینه محدودکننده در نظر گرفته می‌شود که به دلیل نیاز بالای آن برای ساخت پروتئین و رشد پر است (دیلگر و بیکر ۲۰۰۷). همه اسیدهای آمینه موجود در بافت‌های بدن حیوان ایزومر ال هستند و ایزومرهای دی آنها نقش بیولوژیکی ندارند. استثناء این موضوع متیونین است که پرندگان توان استفاده از شکل‌های دی یا ال یا مخلوط را سمیک دی و ال را دارند (افضلی و همکاران ۲۰۰۹). تزریق ۱۰۰ میلی‌گرم متیونین مایع در تخم مرغ های جوجه‌کشی موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن جوجه‌ها در دوره ۲۱-۱ روزگی شد (ساکی و همکاران ۲۰۱٤). از سوی دیگر، لایزین به عنوان دومین اسید آمینه محدود کننده تاثیر زیادی بر تولید دارد (تسوراد و همکاران ۱۹۹٦). همچنین لایزین به عنوان شاخص بررسی محتوای سایر اسیدهای آمینه ضروری برای تعیین تعادل ایده‌آل اسیدهای آمینه استفاده می‌شود؛ بنابراین لایزین اسید آمینه مرجع از جذبه پروتئین ایده‌آل است و تخمین دقیق نیاز لایزین از اهمیت بالایی برخوردار است تا نسبت ایده‌آل سایر اسیدهای آمینه مشخص شود (بیکر ۲۰۰۹). این اسیدآمینه کمتر در واکنش‌های کاتابولیسمی شرکت می‌کند و بیشتر در ساختار پروتئین‌های بدن قرار می‌گیرد (لابادان ۲۰۰۱). موران و بیلگیلی (۱۹۹۰) افزایش رشد ماهیچه سینه را در اثر مصرف لایزین گزارش کردند. با افزایش سطوح ال-لایزین در جیره جوجه‌های گوشتی به تدریج مقدار افزایش وزن ثابت مانده ولی مصرف خوراک رو به کاهش می‌گذارد. این پدیده موجب پاسخ بهتر ضریب تبدیل غذایی نسبت به افزایش وزن به سطوح بالاتر لایزین می‌شود (بیکر و همکاران ۲۰۰۲). تعدادی از پژوهش‌ها به بررسی اثر نسبت‌های مختلف متیونین و لایزین پرداخته‌اند. در اکثر این پژوهش‌ها شامل لی و همکاران (۱۹۹۱)، چن و همکاران (۱۹۹۷) و سی و همکاران (۲۰۰٤) هیچ اثر متقابلی بین لایزین و متیونین در طول دوره پرورش مشاهده نشده است. این در حالی است که هیکلینگ و همکاران (۱۹۹۰) اثر متقابل لایزین و متیونین را بر درصد لاشه مشاهده کردند. مهری و همکاران (۲۰۱۲) در آزمایش خود نسبت متیونین قابل هضم ایلئومی به لایزین قابل هضم ایلئومی را در دوره آغازین جوجه‌های گوشتی ٤۸ برای افزایش وزن و ٤۷ برای ضریب تبدیل غذایی برآورد کردند. ال-مورانی (۱۹۸۲) نسبت ایده‌آل اسید آمینه متیونین به لایزین را برای جنین های ۷ روزه ۵۰/۵ برآورد کرد، با این حال در مورد اثر استفاده از نسبت‌های مختلف اسید آمینه متیونین به لایزین در دوره جنینی جوجه‌های گوشتی اطلاعات بسیار اندکی در دست است. با توجه به نقش ال-کارنیتین به عنوان یکی از متابولیت‌های تولید شده از لایزین (ارسلان و همکاران، ۲۰۰٤) در افزایش تولید فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF- I)، (کیتا و همکاران ۲۰۰۲) و نقش IGF- I در افزایش وزن و تحریک رشد ماهیچه (کوکامیس و همکاران ۱۹۹۹)، تزریق در روز ۱٤ جنینی انجام شد تا از وجود گیرنده به مقدار کافی برای اثر گذاری اطمینان حاصل شود (کی‌کوچی و همکاران ۱۹۹۱). همچنین به دلیل این که مشخص شده است علت اصلی تلفات ۱۱ تا ۱٤ روزگی کمبود عناصر غذایی است (پوررضا ۲۰۰۹)، به نظر می‌رسد تزریق نسبت های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین به درون تخم‌مرغ از رشد جنین حمایت کند. از این رو، این پژوهش با هدف بررسی اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین بر شاخص‌های وزنی و متابولیت‌های خونی در جوجه‌های گوشتی یک‌روزه راس طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۲۱۰ عدد تخم مرغ بارور از مزرعه مرغ مادر گوشتی خوشخوان (تبریز، آذربایجان شرقی) با سن گله ۲۷ هفتگی تهیه شد. تخم مرغ‌ها شماره‌گذاری شده و به صورت انفرادی وزن شدند و وزن اولیه آنها ثبت شد. سپس تخم مرغ‌ها بر اساس وزن طبقه‌بندی شده و در وزن‌های یکسان به تیمارها اختصاص داده شده و در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. دمای ۱۸ روز اول دستگاه روی ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن روی ۶۰ درصد و به تعداد ۶ بار چرخش در شبانه روز تنظیم شد. در ۳ روز آخر دوره جوجه‌کشی دمای دستگاه روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد تنظیم شده و تخم مرغ‌ها به سبدهای مخصوص هچری انتقال داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳۰ تخم‌مرغ در هر تیمار اجرا شد. در این آزمایش تیمارها با توجه به سطح پایه لایزین به دست آمده در پیش آزمایش (۲ درصد ال‌لایزین)، (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶) و بر اساس نسبت ارائه شده به وسیله ال-مورانی (۱۹۸۲) برای جنین‌های ۷ روزه (نسبت دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین ۵۰/۵ درصد)، این نسبت‌ها به همراه ۲ نسبت با فاصله ۵ درصد بالاتر و ۲ نسبت با فاصله ۵ درصد پایین‌تر (نسبت‌های ۴۰/۵، ۴۵/۵، ۵۰/۵، ۵۵/۵ و ۶۰/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین) ۵ تیمار آزمایش مربوط به نسبت‌های مختلف این اسیدهای آمینه را تشکیل دادند که به همراه ۱ سطح شاهد (بدون تزریق) و ۱ سطح شاهد- شم (تزریق آب استریل) در روز ۱۴ دوره انکوباسیون تزریق شدند. در طول دوره جوجه‌کشی نوربینی در روزهای ۷ و ۱۴ به منظور حذف جنین‌های مرده انجام شد. در زمان تزریق اسید آمینه به درون تخم‌مرغ در روز ۱۴، ابتدا تخم‌مرغ‌ها با استفاده از نوربینی بررسی شدند و محدوده کیسه هوایی علامت‌گذاری شد و به وسیله سوزن در ۳ الی ۴ میلی‌متری بالای مرز کیسه هوایی منفذی ایجاد شد (بهانجا و مندل ۲۰۰۵). در این محل با استفاده از سرنگ یک میلی‌لیتری دارای سرسوزن ۲۹ گیج (۱۲/۷ میلی‌متر) به صورت اریب مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول به درون مایع آمنیوتیک تزریق شد (روش تزریق و محل تزریق با استفاده از اطلاعات پیش آزمایش و با به کار بردن جوهر برای تعیین دقیق محل تزریق بدست آمده است). در این آزمایش به گروه تیمار دارای نسبت ۴۰/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال‌لایزین و ۸/۱ میلی‌گرم دی‌ال‌متیونین؛ در نسبت ۴۵/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین، مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال‌لایزین و ۹/۱ میلی‌گرم دی‌ال‌متیونین؛ در نسبت ۵۰/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین، مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال‌لایزین و ۱۰/۱ میلی‌گرم دی‌ال‌متیونین؛ در نسبت ۵۵/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین، مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال‌لایزین و ۱۱/۱ میلی‌گرم دی‌ال‌متیونین و در نسبت ۶۰/۵ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین، مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال‌لایزین و ۱۲/۱ میلی‌گرم دی‌ال‌متیونین در ۱ میلی لیتر آب مقطر تزریق شد. هنگام آماده‌سازی محلول pH آن روی ۷ تنظیم شد. در زمان تزریق دمای محلول تزریقی به ۳۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در زیر هود به مدت ۱۵ دقیقه برای هر تیمار تزریق انجام شد (بهانجا و مندل ۲۰۰۵). سپس سطح منفذ ایجاد شده در تخم‌مرغ با پنبه-الکل ضدعفونی شده و با چسب نواری مسدود شد و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی انتقال داده شدند. در روز ۱۹ تخم‌مرغ‌ها به سبدهای مخصوص هچری انتقال داده شدند و پس از پایان دوره جوجه‌کشی در روز ۲۲ جوجه‌های تازه تفریخ شده به صورت انفرادی وزن‌کشی شدند. با استفاده از اطلاعات وزنی، نسبت وزن جوجه به وزن تخم‌مرغ محاسبه و گزارش شد. همچنین نرخ جوجه‌درآوری محاسبه و گزارش شد. از هر تیمار تعداد ۱۲ جوجه با وزن نزدیک به میانگین گروه با روش خونگیری از قلب، خون‌گیری شده و سرم آنها با استفاده از سانتریفیوژ در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۳). سرم‌ها تا

ز مان ا ندازه‌گیری غلظت متابولیت های خون (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، اوره و پروتئین کل) در سرمای ۲۰ – درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند. سپس جوجه‌ها کشتار شده و وزن‌های لاشه بدون پوست و پر، سینه، ران، قلب، سنگدان، پیش معده وجگر بدون کیسه صفرا اندازه گیری شدند و وزن نسبی این اندام‌ها به وزن زنده جوجه یک روزه گزارش شد.

غلظت‌های سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتیین کل و اوره با روش آنزیمی-رنگ‌سنجی و به کمک کیت‌های تجاری شرکت زیست شیمی در یک مرحله با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Alyson 300) ساخت کشورانگلستان اندازه‌گیری شدند.

در پایان داده‌ها در قالب طرح کامل تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS 9.2 آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. نتایج به صورت میانگین حداقل مربعات ±خطای استاندارد گزارش شدند. همچنین نرخ جوجه‌درآوری با استفاده از رویه لجستیک مورد آنالیز قرار گرفت به طوری که نرخ جوجه‌درآوری متغیر وابسته و تیمارها (تزریق نسبت های مختلف دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین) متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. مدل پایانی به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + \alpha W_j + e_{ijk}$$

i=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7(تیمارها)

j= 1, 2, 3, 4, … (وزن تخم‌مرغ‌ها)

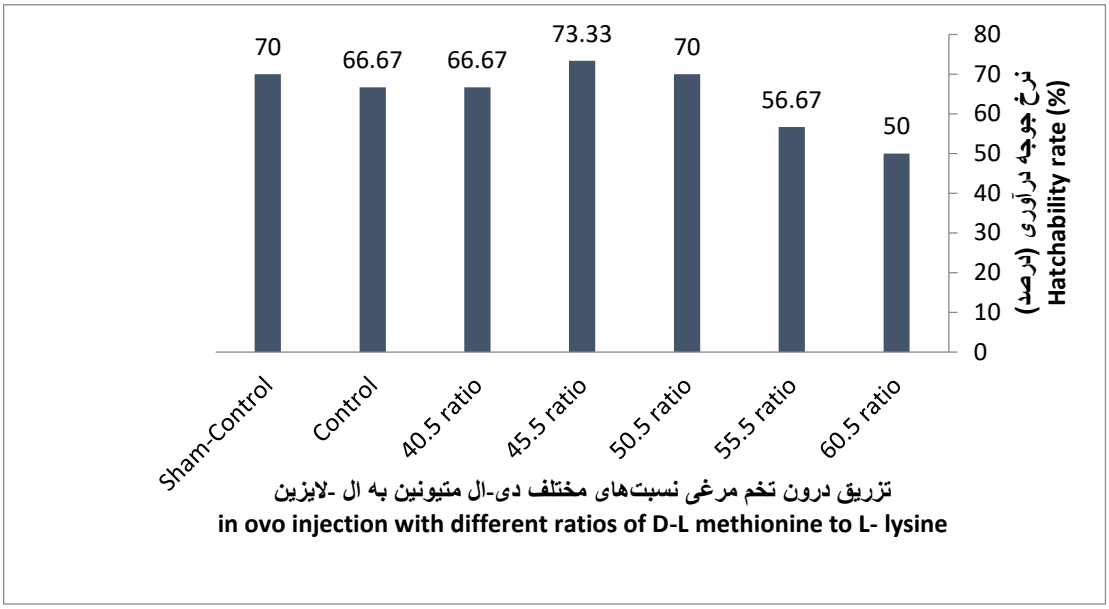
k=1, 2, 3, …,12(مشاهده)

Y_{ijk}: k اُمین مشاهده با j اُمین وزن اولیه در i اُمین تیمار (نسبت اسیدهای آمینه تزریقی)؛ μ: میانگین جمعیت؛ A_i: اثر تیمارها (نسبت‌های مختلف دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین)؛ α: ضریب تابعیت خطی Y از وزن تخم‌مرغ‌ها؛W_j: وزن تخم‌مرغ‌ها در i اُمین تیمار در روز نخست؛ e_{ijk}: خطای تصادفی یا باقی مانده.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل نسبت جوجه‌درآوری با استفاده از رویه لجستیک نشان داد که جوجه‌درآوری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. با این حال بالاترین درصد جوجه‌درآوری در نسبت ٤٥/٥ دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین مشاهده شد (۷۳/۳۳ درصد)، (شکل ۱). مشابه با نتایج این آزمایش، متقی طلب و شفیعی‌منش (۲۰۱۵) نشان دادند که تزریق درون تخم‌مرغی ۰/۵ میلی‌لیتر دی-ال‌متیونین در مایع آمنیوتیک روی درصد جوجه‌درآوری اثر معنی‌داری نداشت. مخالف با نتایج حاضر، جوشکون و همکاران (۲۰۱٤) کاهش جوجه‌درآوری را با تزریق ۱ میلی لیتر محلول حاوی ۵۰ میکرولیتر در ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول نمک ۰/۵ درصد در روز ١٦ آزمایش گزارش کردند.

تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین موجب افزایش وزن جوجه‌ها شد ($P<۰/۰۱$) و همگی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین نسبت به گروه شاهد-شم و شاهد وزن جوجه‌ها را افزایش دادند که بالاترین مقدار در اثر نسبت ٥٥/٥ دی-ال‌متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. مشابه با نتایج پژوهش حاضر، جوشکون و همکاران (۲۰۱٤) با تزریق درون تخمی دی-ال‌متیونین افزایش وزن نسبی جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد را گزارش کردند. متقی طلب و شفیعی‌منش (۲۰۱۵) نشان دادند که تزریق درون تخم‌مرغی ۰/۵ میلی‌لیتر دی-ال‌متیونین در مایع آمنیوتیک روی وزن جوجه یک روزه اثر معنی‌دار نداشته است که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مغایرت دارد. در پژوهش کافه و والدراپ (۲۰۰٦) افزایش سطوح متیونین و لایزین در جیره جوجه‌های گوشتی، وزن بدن را بهبود بخشید. همچنین افزایش مقدار لایزین جیره سبب بهبود افزایش وزن در دوره آغازین شد (دستار و همکاران ۲۰۰٤).



شکل ۱- نرخ جوجه‌درآوری با تزریق درون تخم مرغی نسبت-های مختلف دی-ال متیونین به ال-لایزین
Figure 1- Hatchability rate with *in ovo* injection of different ratios of D-L methionine to L- lysine

رستم زاده و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که بیان ژن فاکتور رشد شبه انسولین (IGF- I) با حذف مکمل متیونین از جیره غذایی بلدرچین‌ها به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. به طوری که مقدار بیان این ژن در ماهیچه سینه پرندگانی که از جیره فاقد مکمل متیونین استفاده کرده بودند سه برابر بیشتر از مقدار آن در گروهی بود که جیره دارای مکمل متیونین را دریافت کرده بودند. در این آزمایش با اینکه حذف مکمل متیونین از جیره غذایی موجب افزایش مقدار بیان ژن IGF-I شد، اما کاهش وزن را به دنبال داشت. بنابراین رشد بدن تنها متاثر از مقدار بیان ژن IGF-I نمی‌باشد (رستم زاده و همکاران ۲۰۱۵). در پژوهشی اثرهای کمبود متیونین بر وزن بدن مرغ با جیره‌های دارای سطح‌های ۰/۲، ۰/۳ و ۰/٤ درصد بررسی و گزارش شد که جوجه‌هایی که با ۰/٤ درصد متیونین تغذیه شدند در مقایسه با گروه شاهد، افزایش قابل توجهی در مصرف غذا نشان دادند اما تغییری در وزن بدن آن‌ها دیده نشد (کاریو و همکاران ۲۰۰۳). تزریق درون تخم‌مرغی نسبت-های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین وزن لاشه پوست کنده ($P<۰/۰۱$)، وزن نسبی لاشه پوست کنده ($P<۰/۰۱$)، وزن لاشه شکم خالی ($P<۰/۰۱$)، بازده لاشه ($P<۰/۰۵$)، وزن سینه ($P<۰/۰۵$)، وزن نسبی سینه ($P<۰/۰۵$) و وزن ران ($P<۰/۰۱$) را افزایش داد (جدول ۱). نسبت‌های دی-ال‌متیونین به ال-لایزین تا نسبت ۵/ ۵۵ درصد در مقایسه با گروه‌های شاهد-شم و شاهد، همگی این شاخص‌ها (به جز وزن ران) را افزایش دادند. با این حال در نسبت ٦۰/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین در همگی این شاخص‌ها (به جز وزن ران) این افزایش وزن معکوس شد و وزن تا سطح شاهد-شم و شاهد پایین آمد. همچنین از نظر عددی در نسبت ٤۵/۵ دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بالاترین افزایش وزن در همه شاخص‌های وزنی (به جز در مورد وزن نسبی لاشه پوست کنده که نسبت ۵۵/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین و وزن ران که نسبت ۵۰/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بالاترین مقدار را نشان دادند) مشاهده شد. وزن نسبی ران تحت تاثیر نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین قرار نگرفت ($P> ۰/۰۵$). مشابه با پژوهش حاضر، بویه (۲۰۱۲) با افزایش همزمان سطوح متیونین و لایزین جیره جوجه‌های گوشتی به مقدار ۳۰ و ٤۰ درصد سطح توصیه شده NRC، افزایش بازده لاشه

و تولید سینه را گزارش کردند. همچنین افزایش وزن ماهیچه ران نیز در اثر مصرف مکمل متیونین گزارش شده است (اکار و همکاران ۲۰۰۱). های هبارت (۱۹۹٤) اثر مثبت متیونین را در افزایش گوشت سینه گزارش کرد. اوجانودیراین و وال دروپ (۲۰۰۲) گزارش کردند که سطح خوراکی کافی متیونین برای حمایت از رشد مطلوب و تولید لاشه در جوجه‌های گوشتی تجاری ضروری است. همچنین متیونین نقش مهمی در تولید انرژی و سنتز پروتین، افزایش عملکرد رشد و افزایش زنده‌مانی جوجه‌های گوشتی دارد (بین‌در ۲۰۰۳). تعدادی از پژوهش‌ها پیشنهاد کردند که سطح متیونین بایستی بالاتر از سطح پیشنهاد شده NRC (۱۹۹٤) باشد (گورمن و بالناو ۱۹۹۵؛ والیس ۱۹۹۹). متیونین یک اسیدآمینه ضروری در فرایند ساخت پروتئین محسوب می‌شود و به عنوان دهنده گروه متیل برای انجام متابولیسم سلولی ضروری است (نیکوفرد و همکاران ۲۰۱۱). متیونین در یک واکنش غیر قابل برگشت با آدنوزین موجود در ساختمان ATP ترکیب شده و تشکیل ترکیبی به نام S-آدنوزیل متیونین[1]را می‌دهد که این ترکیب به عنوان یک دهنده کلیدی گروه متیل آزاد در بیش از ۱۰۰ واکنش مهم بدن از جمله ساخته شدن آدرنالین، DNA، RNA، کولین، کارنیتین و کرآتین شرکت می‌کند (بندر ۱۹۷۵؛ شاته و همکاران ۱۹۹۷؛ نیکوفرد و همکاران ۲۰۱۱). کراتین به عنوان پیش‌ساز کرآتین فسفات، دو نقش مهم در عملکرد طبیعی ماهیچه‌ای دارد (چمروس‌پولرت و همکاران ۲۰۰۲)؛ کرآتین فسفات انرژی را از میتوکندری به فیلامنت‌های میوزین حمل می‌کند و همچنین به عنوان یک ذخیره کننده فسفات پر انرژی عمل می‌کند که می‌تواند ATP را از ADP باز تولید[2]کند. گروه‌های متیل آزاد متیونین در بسیاری از فعالیت‌های سیستم عصبی، ایمنی، کلیه‌ها و قلب دخالت دارند. از همین‌رو، تامین متیونین مورد نیاز جوجه‌های گوشتی با استفاده از خوراک سبب افزایش سرعت رشد و بهبود بازده خوراک در آن‌ها می‌گردد (نیکوفرد و همکاران ۲۰۱۱). به طور کلی نقش‌های بیولوژیکی متیونین شامل این موارد است: ۱- ساخت پروتیین، ۲- دهنده گروه متیل برای واکنش‌های متیلاسیون (متیله‌کردن)، ۳- پیش ماده سنتز مواد حد واسط برای مسیرهای متابولیکی (گلوتاتیون و تائورین) ٤- سنتز پلی‌آمین‌ها و ٥- اثر آنتی‌اکسیدانی (فینکل‌اشتاین ۱۹۹۰؛ وازکز-آنون و همکاران ۲۰۰٦؛ لو و لوین ۲۰۰۹). متیونین همچنین پیش ماده ساخت سیستین است که نقش کلیدی در نگهداری عملکرد پروتئین دارد (لو و لوین ۲۰۰۹). پلی‌آمین‌ها شامل پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین هستند که اثرهای مثبت آنها شامل تحریک رشد، افزایش تولید DNA و تکثیر سلولی، افزایش جذب اسید آمینه توسط سلول و تولید پروتئین است (خواجعلی و وایدرمن ۲۰۱۰). بنابراین اثرهای مثبت افزودن متیونین (نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین) بر افزایش وزن جوجه و شاخص‌های لاشه تا نسبت ٥٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین تا حدودی از طریق مسیرهای پیشنهاد شده در بالا و به ویژه از طریق تحریک ساخت پروتئین و تولید پلی‌آمین‌های محرک رشد اعمال می‌شود.

همچنین تعدادی از پژوهش‌های جدید پیشنهاد کردند که افزایش سطح لایزین موجب افزایش عملکرد، به ویژه تولید ماهیچه سینه می‌شود (باربوزا و همکاران a,b ۲۰۰۰، لابادن و آستیک ۲۰۰۱). افزایش مقدار لایزین سبب بهبود افزایش وزن در دوره آغازین می‌شود (دستار و همکاران، ۲۰۰٤). اسیدآمینه لایزین برای رشد و نمو گوشت سینه حیاتی بوده و کمبود این اسیدآمینه می‌تواند موجب کاهش شدید رشد سلول های ماهواره‌ای ماهیچه سینه جوجه شود (تسوراد و همکاران ۱۹۹٦). سله و همکاران (۲۰۰۷) با افزایش سطح لایزین جیره تا حد ۱۱/۸ گرم در کیلوگرم خوراک از ۷ تا ۲۸ روزگی افزایش وزن را گزارش کردند. افزایش رشد جوجه‌ها در

[1] S-adenosylmethionine

[2] Regenerate

پاسخ به افزودن لایزین جیره، به افزایش قابلیت دسترسی به لایزین برای سنتز پروتین، تحریک ترشح هورمون‌هایی مثل انسولین، گلوکاگون، هورمون رشد و فاکتور رشدشبه انسولین نسبت داده شده است (دنگ و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین ال-کارنیتین به عنوان یکی از متابولیت‌های تولید شده از لایزین دارای اثرهای محرک رشد است (ارسلان و همکاران، ۲۰۰٤). در آزمایش کیتا و همکاران (۲۰۰۲) مقدار IGF- I تحت تاثیر ال-کارنیتین افزایش معنی‌داری از خود نشان داد. این پژوهشگران افزایش وزن بدن مشاهده شده را به افزایشIGF- I نسبت دادند و چنین نتیجه گرفتند که ال-کارنیتین سبب بهبود متابولیسم اسیدهای چرب بلند زنجیر و افزایش انرژی در دسترس برای پروتین‌سازی شده است. بنابراین قسمتی از اثرهای مثبت مشاهده شده شامل افزایش وزن جوجه و شاخص‌های لاشه در تیمارهای نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین نسبت به گروه شاهد به دلیل اثر لایزین از طریق مسیرهای پیشنهادی بالا اعمال شده است.

معکوس شدن روند افزایش در نسبت ٦۰/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین در تعدادی از شاخص‌های وزنی لاشه به ویژه در درصد لاشه، وزن سینه و وزن نسبی سینه نیز ممکن است به دلیل بر هم خوردن تعادل اسید آمینه‌ای مربوط باشد.

در این آزمایش اگر چه اثر نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بر وزن پیش معده معنی‌دار نبود (P> ۰/۰٥)، این اثر در مورد وزن نسبی پیش معده به وزن بدن متمایل به معنی‌داری بود (P=۰/۰۷) و در مقایسه تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، همگی نسبت‌های دی-ال‌متیونین به ال-لایزین وزن نسبی پیش معده بالاتری در مقایسه با گروه شاهد-شم و شاهد داشتند و همچنین بالاترین مقدار از نظر عددی در نسبت ٥٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین مشاهده شد (جدول ۱). این افزایش وزن پیش معده ممکن است با افزایش تولید آنزیم و اسید این بافت، بهبود هضم مواد خوراکی در دوره رشد را ایجاد کند.

وزن سنگدان نیز تحت تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف متیونین به ال‌لایزین (P<۰/۰٥) قرار گرفت به طوری که با افزایش نسبت دی-ال‌متیونین به ال-لایزین تا نسبت ٥٥/٥ درصد افزایش وزن سنگدان مشاهده شد و بالاترین نسبت از نظر عددی در نسبت ٤٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین مشاهده شد، با این حال در آخرین نسبت دی-ال‌متیونین به ال-لایزین ، یعنی نسبت ٦۰/٥ درصد روند افزایشی معکوس شد (جدول ۱). وزن نسبی سنگدان تحت تاثیر نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین قرار نگرفت (۰/۰٥ <P)، (جدول ۱). با توجه به نقش سنگدان در آسیاب کردن مواد خوراکی، گروه‌های با وزن سنگدان بالا به احتمال زیاد در دوره رشد با بهبود هضم خوراک مواجه خواهند بود.

اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین بر وزن جگر افزایشی بود (P<۰/۰۱). با افزایش نسبت دی-ال‌متیونین به ال-لایزین تا نسبت ٥٥/٥ درصد افزایش وزن سنگدان نسبت به گروه شاهد-شم و شاهد مشاهده شد (جدول ۱) و بالاترین وزن به نسبت ٤٥/٥ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین تعلق داشت (جدول ۱). وزن نسبی جگر به وزن بدن تحت تاثیر نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین قرار نگرفت (P> ۰/۰٥)، (جدول ۱). مشابه با نتایج پژوهش حاضر، بویه (۲۰۱۲) با افزایش همزمان سطوح متیونین و لایزین جیره جوجه‌های گوشتی به مقدار ۳۰ و ٤۰ درصد سطح توصیه شده NRC، افزایش وزن جگر را گزارش کردند. با توجه به این‌که قسمت عمده متابولیسم و سوخت و ساز در جگر انجام می‌گیرد، افزایش وزن جگر می‌تواند نشان دهنده بهبود متابولیسم در این پرندگان باشد.

اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین بر وزن قلب (P<۰/۰۱) و وزن

نسبی قلب (P<۰/۰۵) معنی‌دار و افزایشی بود و نسبت‌های ٤٥/٥، ٥٠/٥ و ٥٥/٥ درصد دی‌ال‌متیونین به ال‌لایزین وزن و وزن نسبی قلب را نسبت به گروه شاهد- شم و شاهد افزایش دادند (جدول ۱). مشابه با نتایج حاضر، بویه (۲۰۱۲) با افزایش همزمان سطوح متیونین و لایزین جیره جوجه‌های گوشتی به مقدار ۳۰ و ٤٠ درصد سطح توصیه شده NRC، افزایش وزن قلب را گزارش کردند. سویه‌های نوین جوجه‌های گوشتی می‌توانند در زمان کمتر نسبت به جوجه‌های گوشتی ٤٠ سال قبل به وزن بازار برسند (لورنزونی و روییزفریا، ۲۰۰٦). با این وجود، ظرفیت قلبی و ریوی جوجه‌های گوشتی نوین بسیار مشابه با سویه‌های گوشتی قدیمی است که این امر سیستم قلبی-ریوی را وادار می‌کند تا سرحد محدودیت فیزیولوژیکی، کار کند. در نتیجه سندرم فشار بالای ریوی (PHS: آسیت) ایجاد می‌شود که به عنوان یک مشکل فراگیر در نظر گرفته شده است که موجب مرگ و میر قابل توجهی می‌شود (لورنزونی و روییزفریا، ۲۰۰٦). با توجه به این که افزایش وزن قلب می‌تواند شاخصی از بهبود ظرفیت قلبی باشد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱٤،۲۰۱۳) و می‌تواند با افزایش خروجی قلب متعادل با نیازهای متابولیکی طیور (باتیستااورتگا و روییزفریا ۲۰۱۰) از بروز آسیت جلوگیری کند؛ به نظر می‌رسد افزایش وزن قلب مشاهده شده در پژوهش حاضر ممکن است بتواند در پیشگیری از وقوع آسیت در دوره پرورش نقش داشته باشد.

اگرچه تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین اثر معنی‌داری بر غلظت کلسترول و گلوکز سرمی نداشت(P> ۰/۰۵)، غلظت تری‌گلیسرید سرم کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۱)، (جدول ۲). در مقایسه تیمارهای مختلف نسبت ٤٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین کمترین غلظت تری‌گلیسرید را نشان داد. قسمتی از این اثر کاهشی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بر غلظت تری‌گلیسرید ممکن است از طریق نقش لایزین در اتصال به لیپوپروتین-آ و حذف آن از جریان خون (اووربک و کلارک ۱۹۷۵ و لو و تامپسن ۱۹٦۲) مربوط باشد و قسمت دیگر از طریق نقش ال-کارنیتین در انتقال اسیدهای چرب به بافت‌های جنین (کاسیلاس و نیوبرگ ۱۹٦۹) اعمال شده باشد. با این حال توجیه افزایش مشاهده شده در غلظت تری‌گلیسرید در نسبت ٦۰/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین با توجه به عدم افزایش اوره سرمی در این نسبت، ممکن است بالا بودن متیونین از طریق مسیر ناشناخته‌ای متابولیسم کبدی را به نفع ساخت تری‌گلیسرید افزایش داده باشد.

جدول۱- اثر تزریق نسبت¬های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بر شاخص‌های وزنی لاشه در جوجه¬های یک روزه سویه راس.

Table 1. Effect of *in ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine on carcass weight characteristics of a day-old Ross broiler chicks.

صفات * Traits*	تزریق نسبت¬های مختلف متیونین به ال‌لایزین درون تخم‌مرغی (بر اساس درصد) *In ovo* injection of different ratios of D-L methionine to L- lysine (based on percentage)							P-value
	شاهد-شم Sham-Control	شاهد Control	نسبت ۴۰/۵ 40.5 ratio	نسبت ۴۵/۵ 45.5 ratio	نسبت ۵۰/۵ 50.5 ratio	نسبت ۵۵/۵ 55.5 ratio	نسبت ۶۰/۵ 60.5 ratio	
وزن جوجه Chick weight (g)	40.28±0.56^{b}	39.46±0.65^{b}	42.00±0.60^{a}	42.25±0.61^{a}	42.44±0.67^{a}	42.74±0.67^{a}	41.26±0.83^{a}	<0.01
وزن لاشه پوست کنده Scalped carcass weight (g)	24.67±0.56^{c}	24.81±0.69^{c}	28.19±0.54^{ab}	28.73±0.51^{a}	28.44±0.57^{ab}	28.53±0.59^{ab}	26.72±0.68^{b}	<0.01
وزن نسبی لاشه پوست کنده Relative weight of scalped carcass (%)	63.69±0.73^{b}	63.62±0.92^{b}	66.84±0.71^{a}	68.14±0.67^{a}	67.79±0.75^{a}	68.19±0.79^{a}	64.34±0.89^{b}	<0.01
وزن لاشه شکم خالی Carcass weight (g)	11.03±0.31^{c}	11.16±0.38^{c}	12.33±0.29^{ab}	12.93±0.28^{a}	12.69±0.31^{ab}	12.48±0.33^{ab}	11.73±0.37^{b}	<0.01
بازده لاشه Carcass efficiency (%)	28.45±0.56^{bc}	28.52±0.70^{bc}	29.25±0.55^{abc}	30.80±0.52^{a}	30.25±0.57^{ab}	29.89±0.60^{abc}	28.88±0.69^{c}	0.02
وزن سینه Breast weight (g)	0.67±0.04^{bc}	0.68±0.05^{bc}	0.72±0.04^{abc}	0.78±0.03^{a}	0.74±0.04^{ab}	0.77±0.04^{a}	0.60±0.05^{c}	0.04
وزن نسبی سینه Relative weight of breast (%)	1.72±0.07^{ab}	1.73±0.09^{ab}	1.70±0.07^{a}	1.85±0.06^{a}	1.75±0.07^{a}	1.82±0.07^{a}	1.46±0.08^{b}	0.02
وزن ران Thigh weight (g)	3.72±0.09^{b}	3.69±0.12^{b}	4.09±0.09^{a}	4.13±0.09^{a}	4.16±0.10^{a}	4.15±0.11^{a}	3.99±0.12^{a}	<0.01
وزن نسبی ران Relative weight of thigh (%)	9.62±0.14	9.47±0.17	9.72±0.13	9.81±0.13	9.89±0.138	9.93±0.15	9.61±0.17	0.36
وزن پیش معده Proventriculus weight (g)	0.54±0.03	0.52±0.04	0.56±0.03	0.60±0.03	0.58±0.03	0.62±0.03	0.59±0.04	0.35
وزن نسبی پیش معده The relative weight of proventriculus (%)	0.21±0.01^{a}	0.20±0.02^{b}	0.24±0.01^{ab}	0.25±0.01^{a}	0.25±0.01^{a}	0.26±0.04^{a}	0.25±0.02^{a}	0.07
وزن سنگدان Gizzard weight (g)	1.25±0.05^{b}	1.26±0.06^{b}	1.42±0.05^{a}	1.47±0.04^{a}	1.45±0.05^{a}	1.44±0.05^{a}	1.41±0.06^{b}	0.02
وزن نسبی سنگدان Relative weight of gizzard (%)	3.23±0.11	3.22±0.13	3.39±0.10	3.50±0.09	3.44±0.11	3.45±0.11	3.38±0.13	0.54
وزن جگر Liver weight (g)	0.63±0.02^{b}	0.64±0.03^{b}	0.71±0.02^{a}	0.74±0.02^{a}	0.72±0.02^{a}	0.71±0.02^{a}	0.69±0.03^{a}	<0.01
وزن نسبی جگر Relative weight of liver (%)	1.64±0.04	1.64±0.05	1.69±0.04	1.76±0.04	1.69±0.04	1.71±0.04	1.65±0.05	0.32
وزن قلب Heart weight (g)	0.17±0.01^{b}	0.17±0.01^{b}	0.19±0.01^{a}	0.21±0.01^{a}	0.21±0.01^{a}	0.21±0.01^{a}	0.19±0.01^{a}	<0.01
وزن نسبی قلب Relative weight of heart (%)	0.43±0.02^{b}	0.43±0.02^{b}	0.47±0.02^{ab}	0.49±0.02^{a}	0.49±0.02^{a}	0.49±0.02^{a}	0.44±0.02^{ab}	0.04

* داده‌ها شامل میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند. ^{a,b,c,d} میانگین‌های با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند (p<۰/۰۵).

* Data are included means±standard error. ^{a,b,c,d} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول۲- اثر تزریق نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بر متابولیت‌های خونی در جوجه‌های یک روزه سویه راس

Table 2. Effect of *in ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine on blood metabolites of day-old Ross broiler chicks

صفات * Traits*	تزریق نسبت‌های مختلف متیونین به ال‌لایزین درون تخم‌مرغی (بر اساس درصد) *In ovo* injection of different ratios of D-L methionine to L- lysine (based on percentage)							P-value
	شاهد-شم Sham-Control	شاهد Control	نسبت ۴۰/۵ 40.5 ratio	نسبت ۴۵/۵ 45.5 ratio	نسبت ۵۰/۵ 50.5 ratio	نسبت ۵۵/۵ 55.5 ratio	نسبت ۶۰/۵ 60.5 ratio	
کلسترول ۱ Cholesterol (mg/dl)	383.09±20.49	406.71±25.68	424.00±27.74	409.00±25.68	425.71±25.68	412.86±25.68	435.75±23.98	0.81
گلوکز ۱ Glucose (mg/dl)	221.18±8.35	211.14±10.47	205.43±10.47	201.29±10.47	210.57±10.47	206.29±10.47	208.60±12.38	0.83
تری گلیسرید ۱ Triglyceride (mg/dl)	72.27±3.38^{b}	74.14±4.24^{b}	71.86±4.24^{bc}	59.00±4.58^{c}	65.67±4.58^{bc}	67.14±4.24^{bc}	90.00±5.01^{a}	<0.01
اوره ۱ Urea (mg/dl)	20.36±1.13^{a}	21.86±1.41^{a}	18.71±1.41^{ab}	14.43±1.41^{b}	17.71±1.41^{ab}	14.57±1.41^{b}	15.60±1.67^{b}	<0.01
نیتروژن اوره‌ای خون BUN (mg/dl)	9.52±0.53^{a}	10.21±0.66^{a}	8.75±0.66^{ab}	6.74±0.66^{b}	8.28±0.66^{ab}	6.81±0.66^{b}	7.29±0.78^{b}	<0.01
پروتئین کل ۲ Total protein (g/dl)	1.53±0.06^{b}	1.54±0.08^{b}	1.64±0.08^{ab}	1.87±0.08^{a}	1.64±0.08^{ab}	1.67±0.08^{ab}	1.54±0.09^{b}	0.05

* داده‌ها شامل میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند. ^{a,b,c,d} میانگین‌های با حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند (p<۰/۰۵).

* Data are included means±standard error. ^{a,b,c,d} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین موجب کاهش معنی‌دار غلظت اوره سرمی (P<۰/۰۱) و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN)، (P<۰/۰۱) شد و کمترین مقادیر در نسبت‌های ٤٥/٥ و ٥٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین مشاهده شد (جدول ۲). با توجه به نقش متیونین در تنظیم تشکیل آمونیاک (تریپاتی ۲۰۱۳)، به نظر می‌رسد متیونین از این مسیر کاهش اوره سرمی را ایجاد کرده است. همچنین مشخص شده است تا زمانی که افزایش اسیدهای آمینه در حد متعادل بوده و از رشد و سنتز پروتئین حمایت کنند (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۳، ٢٠١٤)، کاهش اوره را در پی دارد. بنابراین با توجه به نتایج اوره و BUN سرمی می‌توان نتیجه گرفت که همه نسبت‌های دی-ال‌متیونین به ال-لایزین و به ویژه نسبت‌های ٤٥/٥ و ٥٥/٥ درصد با حمایت از رشد و ساخت پروتیین، کاهش سطوح اوره و BUN سرمی را در مقایسه با گروه شاهد-شم و شاهد در پی داشته‌اند.

تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین افزایش معنی‌دار پروتئین کل سرم (P<۰/۰۵) را در پی داشت و در نسبت ٤٥/٥ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین بیشترین غلظت پروتئین کل سرم مشاهده شد (جدول ۲). دیبنر و آیوی (۱۹۹۰) گزارش کردند که مقدار آلبومین سرم در صورت کمبود یک اسیدآمینه مثل لایزین در جیره کاهش می‌یابد. همچنین مشخص شده است افزودن اسیدهای آمینه مصنوعی از قبیل لایزین و متیونین در سطح بالا، می‌تواند باعث تجمع این اسیدهای آمینه در پلاسما گردیده و ترشح انسولین از پانکراس را تحریک کنند و از این مسیر موجب افزایش پروتین‌سازی شوند (استرلینگ و همکاران ٢٠٠٦). بنابراین نسبت‌های مختلف دی-ال‌متیونین به ال-لایزین به دلیل نقش لایزین (دنگ و همکاران، ۲۰۰۵) و متیونین (لو و لوین ۲۰۰۹) در تولید پروتین، افزایش پروتئین کل سرم را در پی داشته‌اند (گایتون و هال ۲۰۰۰).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج شاخص‌های وزنی و متابولیتی، افزودن متیونین تا نسبت ۵۵/۵ درصد دی-ال‌متیونین به ال-لایزین از طریق بهبود بازده لاشه، تولید ماهیچه و پروتئین سرمی و از سوی دیگر کاهش تری‌گلیسرید واوره سرمی می‌تواند از رشد جوجه حمایت کند.

منابع مورد استفاده

Acar N, Barbato GF and Patterson PH, 2001. The effect of feeding excess methionine on live performance carcass traits, and Ascitic mortality. Poultry Science 80: 1585-1989.

Afzali N, Omidi A, Farhangfar H and Zohori S, 2009. Relative efficiency of liquid methionine hydroxy analogue in comparison with DL- methionine on performance of broiler chickens. MSc thesis, University of Birjand (In Persian).

Al-Murrani WK, 1982. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. British Poultry Science 23:171–174 .

Arsalan C, Citil M and Satsi M, 2004. Effect of L-Carnitine administration on growth performance, carcass traits, serum lipids and abdominal fatty acid composition of geese. Revue de Médecine Vétérinaire 155(6): 315-320.

Baker DH, 2009. Advances in protein-Amino acid nutrition of poultry. Amino Acids 37: 29–41 .

Baker DH, Batal AB, Parr TM, Augspurger NR and Parsons CM, 2002. Ideal ratio (relative to lysine) of tryptophan, threonine, isoleucine, and valine for chicks during the second and third weeks posthatch. Poultry Science 81:485-494.

Barboza WA, Rostagno HS, Albino LFT and Rodrigues PB, 2000a. Lysine levels for broiler chickens from 1 to 21 and 15 to 40 days of age. Revista Brasileira de Zootecnia 29: 1082-1090.

Barboza WA, Rostagno HS, Albino LFT and Rodrigues PB, 2000b. Lysine levels for broiler chickens from 22 to 40 and 42 to 48 days of age. Revista Brasileira de Zootecnia 29: 1091-1097.

Bautista-Ortega J and Ruiz-Feria CA, 2010. L-Arginine and antioxidant vitamins E and C improve the cardiovascular performance of broiler chickens grown under chronic hypobaric hypoxia. Poultry science 89(10): 2141-2146.

Bender DA, 1975. Amino Acid Metabolism. 1st ed. John Wiley and Sons Ltd. New York, USA. pp. 112-142 .

Bhanja SK, Mandal A B, 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 Science 18:524-531.

Binder M, 2003. Life cycle analysis of DL-methionine in broiler meat production. In: Information for the feed industry. Degussa feed additives, Hanau-Wolfgang, Germany. pp. 1-8.

Bouyeh M, 2012. Effect of Excess Lysine and Methionine on Immune system and Performance of Broilers. Annals of Biological Research 3 (7): 3218-3224.

Café MB and Waldroup PW, 2006. Interactions between levels of methionine and lysine in broiler diets changed at typical industry intervals. International Journal of Poultry Science 5 (11): 1008-1015.

Carew LB, McMurtry JP and Alster FA, 2003. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors-I and -II, liver and body weights, and feed intake in growing chickens. Poultry Science 82: 1932-1938 .

Casillas ER and Newburgh RW, 1969. l-Carnitine and derivatives in embryonic chick tissue. Biochimica et Biophysica Acta 184:566–577.

Chamruspollert G, Pesti GM and Bakalli RI, 2002. Dietary interrelationships among arginine, methionine, and lysine in young broiler chicks. British Poultry Science 88: 655-660.

Chen J, Hou S, Lu L, Zhao L, Yu J, Fang L and Huang J, 1997. Study on the dietary requirements of total Sulphur containing amino acid and lysine of Shi-Qi Yellow broiler during the early growth period. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica 28: 394-400.

Coşkun İ, Erener G, Şahin A, Karadavut U, Altop A and Okur AA, 2014. Impacts of *in ovo* feeding of DL-methionine on hatchability and chick weight. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology 2 (1): 47–50.

Dastar B, Gilan A, Danesh Mesgaran M, Eftekhari Shahroudi F and Kermanshahi H, 2004. The use of lysine and sulfur amino acids digestibility coefficients in optimizing the performance of broiler chickens, Iranian Journal of Agriculture Science 35(2): 691- 698 (In Persian).

Deng K, Wong CW and Nolan JV, 2005. Long-term effects of early life L-arginine supplementation on growth performance, lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. British Poultry Science 46(3):318-324.

Dibner JJ and Ivey FJ, 1990. Hepatic protein and amino acid metabolism in Poultry. Poultry Science 69: 1188-1194.

Dilger RN and Baker DH, 2007. DL-Methionine is as efficacious as L-methionine, but modest L-cystine excesses are anorexigenic in sulfur amino acid-deficient purified and practical-type diets fed to chicks. Poultry Science 86:2367–2374..

Ebrahimi M, Adibmoradi M, Janmohammadi H, Daghigh Kia H, Moghaddam Gh, Rajabi Z, Rafat S. A., Javanmard A, Ghochkhani R and Abdolalizadeh Alvanegh F, 2016. The effect of in ovo injection with different levels of L-Lysine on body weight parameters and blood metabolite concentrations in a day-old Ross broiler chicks. The Seventh Congress on Animal Science of Iran (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Tebianian M, Adibmoradi M and Nourijelyani K, 2013. Evaluation of the effect of feeding L-arginine on growth performance, carcass traits and blood parameters in broiler chickens. Iranian Journal of Animal science 44 (2): 157-166 (In Persian).

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Tebianian M, Adibmoradi M and Nourijelyani K, 2014. The effects of dietary L-arginine on growth, meat production, and fat deposition in broiler chickens. Iranian Journal of Animal science Research 5 (4): 281-290 (In Persian).

Finkelstein JD, 1990. Methionine metabolism in mammals. The Journal of Nutritional Biochemistry 1: 228–237.

Foye OT, Uni Z, McMurty JP and Freket PR, 2006. The effects of nutrient administration, "*In ovo* feeding" of Arginine and/or β-hydroxy-β-methyle butyrate (HMB) on insulin–like growth factors, energy metabolism and growth in turkey poults. International Journal of Poultry Science 5 (4): 309-317.

Gorman I and Balnave D, 1995. The effect of dietary lysine and methionine concentrations on the growth characteristics and breast meat yields of Australian broiler chickens. Australian Journal of Agricultural Research 46: 1569-1577.

Guyton AC and Hall JE, 2000. Textbook of medical physiology. Elsevier Health Sciences.10th Ed.

Hickling D, Guenter W and Jackson ME, 1990. The effects of dietary methionine and lysine on broiler chicken performance and breast meat yield. Canadian Journal of Animal Science 70: 673-678.

Huyhebaert G, Pack M and Degroote G, 1994. Influence of protein concentration on the response of broiler to supplemental DL-methionine. Archiv fur Geflugelkunde 58: 22-29.

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

Kikuchi K, Buonomo FC, Kajimoto Y and Rotwein P, 1991. Expression of insulin-like growth factor-I during chicken development. Endocrinology 128:1323–1328.

Kita K, Kato S, Amanayama M, Okumura J and Yokota H, 2002. Dietary Lcarnitine increase plasma insulin-like growth factor: I. concentration in chiken fed a diet with adequate dietary protein level. British Poultry Science 43: 117-121.

Kocamis H, Yeni YN, Kirkpatrick-Keller DC and Killefer J, 1999. Postnatal growth of broilers in response to *in ovo* administration of chicken growth hormone. Poultry science 78(8): 1219-1226.

Labadan MC and Austic RE, 2001. Lysine and arginine requirement of broiler chickens at Two to Three-week intervals to Eight weeks of age. Poultry Science 80: 599-606.

Lee SJ, Kim SS, Lee KH, Kwack CH and Lee JD, 1991. Effects of dietary lysine and methionine levels on broiler performance. Research Reports of the Rural Development Administration (suweon) 33(1 Livest): 33-39 .

Lorenzoni AG and Ruiz-Feria CA, 2006. Effects of vitamin E and L-arginine on cardiopulmonary function and ascites parameters in broiler chickens reared under subnormal temperatures. Poultry science 85(12), 2241-2250 .

Lowe RD and Thompson JW, 1962. The effect of intra-arterial potassium chloride infusion upon forearm blood flow in man. Journal of Physiology 162:69P-70P.

Luo S and Levine RL, 2009. Methionine in proteins defends against oxidative stress. FASEB Journal 23:464–472.

Mehri M, Davarpanah AA and Mirzaei HR, 2012. Estimation of ideal ratios of methionine and threonine to lysine in starting broiler chicks using response surface methodology. Poultry Science 91: 771–777.

Moran ET and Bilgili SF, 1990. Processing losses carcass quality, and meat yield of broiler chickens receiving diets marginally deficient to adequate in lysine of broiler chickens receiving diets marginally deficient to adequate in lysine prior to marketing. Poultry Science 69: 702-710.

Moran Jr ET, 2007. Nutrition of the developing embryo and hatchling. Poultry Science 86: 1043-1049.

Mottaghitalab M and Shafiymanesh Y, 2015. The effect of in ovo injection with pyridoxine, methionine, and their mixture in a broiler breeder eggs on hatchability, day-old chicks weight, and production traits. Animal Production Research 4(3): 57-66 (In Persian).

Nikofard V, Samiyie A and Mahdavi A, 2011. The interaction effects between methionine and diet electrolyte balance on performance and immune responses in broiler chickens. MSc. Thesis, Isfahan University of Technology (In Persian).

NRC, 1994. Nutrient requirements of poultry, 9th ed. (Washington, DC, National Academy Press).

Ojano-Dirain CP and Waldroup PW, 2002. Evaluation of lysine, methionine and threonine needs of broilers three to six week of age under moderate temperature stress. International Journal of Poultry Science 1: 16-21.

Overbeck HW and Clark DW, 1975. Vasodilator responses to K+ in genetic hypertensive and in renal hypertensive rats. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 86:973-983.

Pourreza J, 2009. Scientific and Practical Principles of Poultry Rearing, Jihad Daneshgahi Press at Esfahan University of Technology (In Persian).

Rostamzadeh A, Asadi Fowzi M, Esmailzadeh Kashkoyieh A and Asadi M, 2015. Evaluating the effect of methionine restriction on breast muscle IGF-1 gene expression in Japanese quail. Journal of Agricultural Biotechnology 8(1): 48-60 (In Persian).

Saki AA, Abbasinejad M and Ahmadi A, 2014. Effects of using iron nanoparticles and liquid methionine (Alimet) in fetal nutrition and diet on performance of broilers, Animal Production Research 3(3): 57-71 (In Persian).

Schutte JB, De Jong J, Smink W and Pack M, 1997. Replacement value of betaine for DL methionine in male broiler chicks. Poultry Science 76: 321325 .

Selle PH, Ravindran V, Ravindran G and Bryden WL, 2007. Effects of dietary lysine and microbial phytase on growth performance and nutrient utilisation of broiler chickens. Asian-Australian Journal of Animal Science 20 (7): 1100 – 1107.

Si J, Kersey JH, Fritts CA and Waldroup PW, 2004. An evaluation of the interaction of lysine and methionine in diets for growing broilers. International Journal of Poultry Science 3: 51-60.

Sterling KG, Pesti GM, and Bakalli RI, 2006. Performance of different broiler genotypes fed diets with varying levels of dietary crude protein and lysine. Poultry Science 85: 1045-1054.

Tessseraud S, Maaa N, Peresson R and Chagneau AM, 1996. Relative responses of protein turnover in three different skeletal muscles to dietary lysine deficiency in chicks. British Journal of Poultry Science 37: 641–650.

Tripathi K, 2013. Essentials of medical pharmacology, 7th ed. Jaypee Brothers. Medical Publishers (P) Ltd., New Delhi, India.

Vazquez-Anon M, Gonzalez-Esquerra R, Saleh E, Hampton T, Ritcher S, Firman J and Knight CD, 2006. Evidence for 2hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid and DL-methionine having different dose responses in growing broilers. Poultry Science 85:1409–1420.

Wallis IR, 1999. Dietary supplements of methionine increase breast meat yield and decrease abdominal fat in growing broiler chickens. Australian Journal of Experimental Agriculture 39:131-141.

Widerman Jr RF, Bottje WG, 2000. In ovo use of L-arginine and salts thereof in the prevention and/or treatment of pulmonary hypertension syndrome in avians. United States patent. Patent NO. 612742.

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

R Ghochkhani[1], M Ebrahimi[2*], H Daghigh Kia[3] and SA Rafat[3]

Received: October 04, 2016 Accepted: February 04, 2017

[1]MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

Introduction: Nowadays, *in ovo* injection is being used for increasing hatchability and growth, while reducing mortality rates and disease prevalence in poultry (Moran 2007). Methionine is the first limiting amino acid (Dilger and Baker 2007) and lysine is the second limiting amino acid in broilers (Tessseraud et al. 1996). Lysine has been used as a standard in ideal relationships of other amino acids (Baker 2009). Paradox results were observed using different ratios of methionine to lysine during the growth period in a way that some reported no effect (Lee et al. 1991; Si et al. 2004), while others reported positive effect on growth (Hickling et al. 1990; Mehri et al. 2012). Al-Murrani (1982) reported that the optimal methionine to lysine ratio for 7 d old chick embryo is 50.5%. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of *in ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine at 14th d of incubation on body weight parameters and blood metabolite concentrations in a day-old Ross 308 broiler chicks.

Materials and methods: In this experiment, 210 fertile Ross 308 broiler breeder eggs were randomly assigned into 7 experimental groups with 30 individual eggs per each group. Experimental treatments including control (non-injected), sham-control (injected sterile water), and 40.5, 45.5, 50.5, 55.5 and 60.5 D-L methionine to L-lysine ratios were injected into the amniotic fluid at 14 d of incubation through the broad end of eggs. On day 22 (one day post hatch), 4 chickens per replicate were selected, bled, and then slaughtered to measure internal organ weights.

Results and Discussion: Hatchability rate was not affected by treatments (P>0.05), though the highest hatchability was observed in 45.5% D-L methionine to L-lysine ratio (Fig 1). In other studies, no effect (Mottaghitalab and Shafiymanesh 2015) or reducing effect (Coşkun et al. 2014) of *in ovo* injection with D-L methionine was observed. All the treatment groups showed higher chick weight in comparison with control groups (P<0.01). Similar to our results, Coşkun et al. (2014) reported increasing effect of *in ovo* injection with methionine on chick weight. Treatments had an increasing effect on relative scalped carcass weight (P<0.01), carcass efficiency (P<0.01), relative breast weight (P<0.05), and relative heart weight (P<0.05), (Table 1). Different ratios of D-L methionine to L-lysine up to 55.5% ratio had higher weight in comparison with control groups. Though a reverse effect of 60.5% D-L methionine to L- lysine ratio was observed on weight parameters. Some researchers showed positive effect of methionine and lysine on body weight parameters including Finkelstein (1990), Vazquez-Anon et al. (2006), Luo and Levine (2009), and Bouyeh (2012). Methionine is an essential amino acid in protein synthesis (Nikofard et al. 2011). Lysine is also important for protein synthesis and stimulating secretion of insulin, glucagon, GH, and IGF-I (Deng et al. 2005). Also, L-carnitine, which biosynthesized from lysine, has some growth stimulatory effects (Arsalan et al. 2004). The significant increasing effect (P<0.05) of *in ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine on gizzard and liver weight was observed. Although the increasing effect of treatments was observed up to 55.5% D-L methionine to L- lysine, the highest amount was observed in 45.5% ratio (Table 1). Since gizzard is responsible for grinding and digestion, this increasing effect of treatments means better digestion during growth period. Also, as

liver is the main place for metabolism of nutrients, effect of treatments on liver means improve in metabolism during rearing period. Results also showed improving effect (P<0.05) of different ratios of D-L methionine to L- lysine on heart weight and relative heart weight and this improving effect was observed up to 55.5% D-L methionine to L- lysine ratio (Table 1). In accordance with the present result, Bouyeh (2012) reported that increase in methionine and lysine increased heart weight. Since increasing in heart weight is an indicator of improving heart capacity (Lorenzoni and Ruiz-Feria 2006; Ebrahimi et al. 2013, 2014) and can increase heart output in accordance with metabolical requirement of poultry (Bautista-Ortega and Ruiz-Feria 2010); then, it was concluded that improving effect of different ratios of D-L methionine to L- lysine on heart weight might prevent ascites during rearing period. *In ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine had no effect on cholesterol and glucose (P>0.05), while reduced sera triglyceride (P<0.01) and 45.5% D-L methionine to L- lysine ratio had the lowest amount (Table 2). Part of this effect might be mediated by attaching lysine to lipoprotein (a) and removing it from the blow flow (Lowe and Thompson 1962; Overbeck and Clark 1975). Also, biosynthesis of L-carnitine from lysine may facilitate fatty acid transport into embryo tissues (Casillas and Newburgh 1969). Different ratios of D-L methionine to L- lysine had an increasing effect on sera total protein concentration (P<0.05) and the highest amount observed in 45.5% ratio (Table 2). It seems that the role of lysine and methionine (Deng et al. 2005; Luo and Levine 2009) in stimulating protein synthesis may be responsible for higher sera protein (Guyton and Hall 2000). Moreover, decreasing effect of *in ovo* injection with different ratios of D-L methionine to L- lysine on urea concentration (P<0.01) was observed and the lowest amount was in 45. 5 and 55.5% ratios (Table 2). It was indicated that amino acids in a balanced way cause increase in protein synthesis, while reduces blood urea concentration (Ebrahimi et al. 2013). Accordingly, *in ovo* injection of different ratios of D-L methionine to L- lysine up to 55.5% ratio did not cause imbalance and then, improved growth, while reduced urea concentration.

Conclusion: The overall results of the present experiment indicated that *in ovo* injection of different ratios of D-L methionine to L- lysine up to 55.5% ratio had an increasing effect on carcass efficiency, muscle production, and protein, while a decreasing effect on triglyceride and urea concentration in a day old Ross broiler chicks.

Keywords: Blood metabolite, Broiler chicks, D-L methionine to L- lysine ratios, Growth performance, *In ovo* injection