نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۴، پاییز ۱۳۹۸
ص‌ص: ۲۹~۴۰

اثرات تزریق ویتامین‌های ب۶ و ب۱۲ داخل تخم‌مرغ‌های تزریق شده با اتانول بر درصد جوجه‌درآوری، عملکرد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرما در دوره پرورش

- **طاهره مومنه** (نویسنده مسئول)
دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه
- **مهران ترکی**
دانشیار گروه علوم دامی، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه.
- **لقمان سلیمانی باغشا**
دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه طیور، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه

تاریخ دریافت : دی ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : مهر ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۶۱۶۴۸۳۶
Email: Tahere17@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120164.1612

چکیده

اثرات تزریق ویتامین‌های ب٦ و ب۱۲ در تخم‌مرغ‌های بارور تحت تنش تزریق اتانول بر جوجه‌درآوری (آزمایش اول)، عملکرد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی (تفریخ شده از آزمایش اول) تحت تنش سرمایی طی پرورش (آزمایش دوم) بررسی شد. در آزمایش اول، تعداد ۵۱۰ عدد تخم‌مرغ بارور در شش گروه داخل انکوباسیون قرار گرفتند. تعداد ۱۸۰ عدد از تخم‌مرغ‌ها، بعنوان شاهد لحاظ شد (شاهد بدون تزریق، شاهد با سوراخ کردن پوسته و شاهد با تزریق آب مقطر). به ۱۱۰ عدد تخم‌مرغ، ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) آب مقطر + اتانول ٤٧/٥ درصد تزریق گردید. به دو گروه دیگر هر یک به تعداد ۱۱۰ عدد تخم‌مرغ، به ترتیب ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) اتانول ٤٧/٥ درصد + ۱۰۰ میکرولیتر ویتامین ب٦ و ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) اتانول ٤٧/٥ درصد + ۱۰۰۰ میکرولیتر ویتامین ب۱۲ تزریق شدند. از جوجه‌های تفریخ شده، تعداد ۲٤۰ قطعه به آزمایش دوم اختصاص یافت. دمای سالن در ۲۸ تا ٤۲ روزگی در ۲±۱۲ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. جوجه‌درآوری در گروه اتانول نسبت به شاهد به طور معنی داری کمتر بود(P<۰/۰۵) و تزریق ب۱۲ و ب٦، تنش اتانول را کاهش داد. تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین با چگالی خیلی کم و گلوکز در گروه اتانول در سن١٤روزگی، به طور معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود و در گروه ب۱۲ و ب٦ از گروه اتانول کمتر بود(P<۰/۰۵). در سن٤۲ روزگی (بعد از تنش سرمایی)، کلسترول، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم در گروه اتانول نسبت به گروه شاهد افزایش یافت و در گروه ب۱۲ و ب٦ نسبت به گروه اتانول به طور معنی داری کاهش یافت(P<۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی: اتانول، تنش سرمایی، جوجه‌گوشتی، ویتامین ب۶، ویتامین ب۱۲.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 124 pp: 29-40

Effects of in ovo injection of vitamin B6 and B12 in fertile eggs subjected to ethanol stress on hatchability, performance and blood biochemical parameters of broiler chicks reared under cold stress condition

By: T., Momeneh[1], M., Torki [2] and L., Soleimani Baghsha[3]
1-Ph.D student of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. Corresponding author.
2-Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.
3- Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

Received: January 2018 **Accepted: October 2018**

The effects of in ovo injection of vitamin B6 and B12 in fertile eggs subjected to ethanol (EtOH) injection stress on hatchability (first experiment), performance and blood biochemical of broiler chicks (hatched in the first experiment) reared under cold stress condition (second experiment), were evaluated. A number of 510 fertile eggs were incubated. A number of 180 eggs were considered as controls (3 as not-injected, eggshell with a hole and distilled water-injected). A number of 110 eggs were injected with 25 µL of a 1:1 (v/v) mixture of EtOH 47.5%+distilled water. Eggs in two other groups were injected with 25 µL of a 1:1 (v/v) mixture of EtOH 47.5%+100 µL of B6 (n=110), 25 µL of a 1:1 (v/v) mixture of 47.5% EtOH+1000 µL of B12 (n=110). A number of 240 one-day chick (from the first experiment), allocated to the second experiment. Temperature was maintained 12°C from 28 to 42 d of age. Hatchability significantly (P<0.05) reduced in EtOH-injected group compared to control, but increased in the B6 and B12 injected eggs. The blood levels of triglyceride, VLDL and glucose at 14 day of age (before cold stress) significantly (P<0.05) increased in EtOH-injected group, but decreased blood levels of triglyceride, VLDL and glucose in EtOH+B6 and EtOH+B12 groups. The blood levels of cholesterol, triglyceride, LDL and VLDL (at 42d, after cold stress) increased in EtOH group and significantly (P<0.05) decreased in EtOH+B6 and EtOH+B12 groups.

Key words: Ethanol, Broiler, Cold stress, Vitamin B6, Vitamin B12.

مقدمه

امروزه در شرایط تجاری، پرندگان در مراحل رشد خود با تنش-های متفاوتی از جمله تغییرات ناگهانی شرایط محیطی مانند دما و رطوبت در انکوباسیون (Sgavioli و همکاران، ۲۰۱۶) و عدم دسترسی به آب و خوراک، تا ۴۸ ساعت پس از تفریخ مواجه هستند. این تنش‌ها در انکوباسیون و پس از تفریخ، موجب می‌شود رشد و توسعه بافت‌ها (Careghi و همکاران، ۲۰۰۵) و اندام‌های حیاتی مانند روده‌ها (Geyra و همکاران، ۲۰۰۱) سیستم ایمنی و غیره (Dibner و همکاران، ۲۰۰۸) تحت تاثیر قرار گیرد (Dibner and Richards, 2004) و وزن اولیه آنها کاهش - یابد (Bigot و همکاران، ۲۰۰۳). از سوی دیگر، در بسیاری از مناطق جهان از جمله ایران، گاهی جوجه‌ها در شرایطی پرورش می‌یابند که برخی از شاخص‌های مهم محیطی مانند درجه حرارت از محدوده طبیعی خارج شده و پرنده به اصطلاح دچار تنش دمایی می‌شود (کرمانشاهی و همکارن ۱۳۸۶)، از این رو مصرف خوراک و وزن بدن آنها تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. بنابراین پرندگان در چنین شرایطی، به هجوم پاتوژن‌ها (عوامل بیماری‌زا) حساسیت بیشتری خواهند داشت (Dibner و همکاران، ۲۰۰۸).

تنش اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد طیور است که می‌توان تا حدودی اثرات ناشی از آنها را با استفاده از سازوکارهای مختلف به حداقل رساند. تاکنون روش‌های مختلفی

مانند تغذیه هنگام تفریخ و تزریق مواد مغذی به داخل تخم‌مرغ، جهت بهبود عملکرد هدف‌گذاری شده است (Salami و همکاران، ۲۰۱۴). استفاده از تزریق داخل تخم‌مرغی یک راهکار نوین در تحقیقات و صنعت می‌باشد (Uni and Ferket, 2003) که در نتیجه آنها رشد و توسعه جنینی با تزریق مواد مغذی شامل اسیدهای‌آمینه (Kadam و همکاران، ۲۰۰۸)، کربوهیدرات‌ها (Tako و همکاران، ۲۰۰۴) و ویتامین‌ها (Roman و همکاران، ۲۰۱۲; Salami و همکاران، ۲۰۱۴; Ibrahim و همکاران، ۲۰۱۲) افزایش می‌یابد. همچنین تزریق داخل تخم‌مرغی به دلیل افزایش جذب مواد مغذی در دوران جنینی، نیاز به جیره‌های پرهزینه در گله‌های مادر گوشتی را کاهش می‌دهد (Surai و همکاران، ۱۹۹۹). علاوه بر این، صفات اقتصادی مانند افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک، تولید گوشت و مقاومت به بیماری‌ها را افزایش می‌دهد (Ibrahim و همکاران، ۲۰۱۲) و در نهایت موجب افزایش بازده اقتصادی خواهد شد.

اتانول (EtOH) و هموسیستئین (HoCys) برون‌زادی باعث ایجاد اختلالات بسیاری در جنین جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Miller, 2003, 2006). اتانول در تعدادی از اندام‌ها مانند کبد، معده، روده کوچک و مغز متابولیزه می‌شود، اما محل اصلی سوخت و ساز آن، کبد است (Fernandez و همکاران، ۱۹۹۷). اتانول به عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو، ارتباط نزدیکی با متابولیسم هموسیستئین در بدن دارد و اتانول برون‌زادی موجب افزایش سطح هموسیستئین در مغز و کبد می‌شود (Berlin, 2010)، سپس دو مولکول هموسیستئین طی اکسیداسیون از طریق آزاد کردن دو یون هیدروژن و دو یون الکترون به دایمر دی سولفید اکسید شده و رادیکال‌های آزاد مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل تولید می‌شوند. علاوه بر این، متابولیسم اتانول در چندین مرحله گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌کند. متابولیسم اتانول در کبد منجر به افزایش نسبت $NADH/NAD^+$ در سیتوپلاسم و میتوکندری و تعداد زیادی NADH می‌شود. افزایش تولید NADH و عبور از میتوکندری، انتشار الکترون را از زنجیره تنفسی افزایش می‌دهد و در نهایت تولید گونه‌های اکسیژن فعال افزایش می‌یابد (Das and Vasudevan, 2007). در شرایط طبیعی، هموسیستئین با استفاده از بتائین هموسیستئین متیل ترانسفراز یا متیل تتراهیدروفولات، به عنوان دهنده گروه متیل، متیله می‌شود (Selhub و همکاران، ۱۹۹۹). هموسیستئین به وسیله چرخه متیلاسیون یا ترانس سولفوراسیون، با آنزیم‌های متیونین سینتاز و کوفاکتورهایی مانند ب۶ و ب۱۲، به متیونین یا سیستئین تبدیل می‌شود و در نهایت آلفا کتوبوتیرات به گلوتاتیون احیا شده و تائورین تولید می‌شود. از این رو ویتامین‌هایی مانند ب۶ و ب۱۲ می‌توانند بر چرخه متیونین-هموسیستئین، تأثیر بگذارند و سطح هموسیستئین را تغییر دهند. طبق تحقیقات قبلی، کمبود هر یک از این کوفاکتورها منجر به افزایش سطح هموسیستئین می‌گردد (Svingen و همکاران، ۲۰۱۳; Taherianfard و همکاران، ۲۰۱۳; Berning و همکاران، ۲۰۱۲; Miller و همکاران،۲۰۱۱). پرورش متراکم جوجه‌های گوشتی در شرایط تجاری، آنها را در معرض طیف وسیعی از عوامل تنش‌زا قرار می‌دهد (Moberg و همکاران ۲۰۰۰). هر نوع تنش باعث اختلال در هموستازی بدن می‌گردد و بدنبال آن مجموعه‌ای از سازوکارهای فیزیولوژیکی انجام شده تا بدن را به حالت طبیعی خود نزدیک کند (McEwen, 2007). باتوجه به اینکه پرندگان با تنش‌های متعددی در طی دوره انکوباسیون، پس از تفریخ و در دوره پرورش مواجه می‌شوند، این مطالعه در قالب دو آزمایش انجام گردید. به دلیل اینکه تنش در بدن پرندگان می‌تواند ضمن تأثیر بر متابولیسم متیونین و هموسیستئین منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن گردد، از اتانول به عنوان عامل القاءکننده تنش در طی دوره انکوباسیون و از تنش دمایی در دوره پرورش استفاده گردید. از سویی دیگر فرض شد که تزریق داخل تخم‌مرغی ترکیباتی مانند ویتامین ب۶ و ب۱۲، به دلیل نقش آنها در متابولیسم متیونین، ضمن کاهش سطح هموسیستئین، نهایتاً خواهد توانست اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از اتانول و تنش سرمایی در دوره پرورش را بهبود بخشد. تداخل متابولیسم اتانول با چرخه متیونین-هموسیستئین و اثرات ویتامین ب۶ و ب۱۲ هنوز به طور کامل روشن نشده است و نیاز به

تحقیقات بیشتری دارد (Rajd و همکاران، ۲۰۱۶). براساس اطلاعات موجود، تاکنون تحقیقات مدونی در ارتباط با تزریق اتانول و ویتامین‌های ب۶ و ب۱۲، در جوجه‌های گوشتی انجام نشده است. از اینرو هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات تنش ایجاد شده در دوره جنینی (تزریق اتانول) و تأثیر تزریق مواد مغذی (ویتامین‌های ب۶ و ب۱۲) بر درصد جوجه‌درآوری و واکنش جوجه‌های تفریخ شده به تنش ناشی از سرما در شرایط پرورش بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۵۱۰ عدد تخم مرغ بارور (دامنه وزنی ۲ ± ۵۹ گرم) از گله مادر گوشتی تجاری (سویه راس ۳۰۸ در سن ۴۵ هفتگی) انجام شد. تخم‌مرغ‌های بارور از شرکت طیور بهاران کرمانشاه تهیه گردید و پس از وزن‌کشی و شماره‌گذاری، به ۶ گروه تقسیم شدند. در روز اول انکوباسیون، تخم‌مرغ‌ها نوربینی شدند. قبل از تزریق، انتهای پهن تخم‌مرغ به وسیله اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و پس از سوراخ کردن پوسته تخم مرغ، تزریق مواد داخل کیسه هوایی براساس روش برنینگ و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. به ۶۰ عدد از تخم‌مرغ ها، ۲۵ میکرولیتر آب مقطر تزریق شد (شاهد) و ۶۰ عدد بدون تزریق و ۶۰ عدد ضمن سوراخ کردن پوسته، بعنوان شاهد کاذب در نظر گرفته شد. به ۱۱۰ عدد تخم‌مرغ، ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) آب مقطر + اتانول ۴۷/۵ درصد تزریق شد. به سایر گروهها هر یک به تعداد ۱۱۰ عدد تخم‌مرغ به ترتیب، ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) اتانول ۴۷/۵ درصد + ۱۰۰ میکرولیتر ویتامین ب۶ و ۲۵ میکرولیتر محلول (۱:۱) اتانول ۴۷/۵ درصد + ۱۰۰۰ میکرولیتر ویتامین ب۱۲ تزریق شدند. در ۱۸ روز اول دوره انکوباسیون، تخم‌مرغ‌ها داخل ستر قرار گرفتند و حرارت ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۸ درصد با دوره چرخش یک ساعت تنظیم گردید. پس از روز ۱۸، تخم‌مرغ‌ها به داخل هچر با حرارت ۳۶/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۸ درصد منتقل شدند. درصد جوجه‌درآوری به صورت تعداد تخم‌مرغ‌های تفریخ شده به تعداد تخم‌مرغ‌های بارور محاسبه گردید.

جهت بررسی اثرات تزریق داخل تخم‌مرغی اتانول، ویتامین ب۶ و ویتامین ب۱۲ بر عملکرد پرندگان در دوره پرورش ضمن اعمال تنش سرمایی، آزمایش دوم طراحی گردید. از کل جوجه‌های تفریخ شده در آزمایش اول، تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه یک روزه (به ترتیب ۶۰ قطعه از کل گروه‌های شاهد و ۶۰ قطعه از گروه ویتامین ب۶، ۶۰ قطعه از گروه ویتامین ب۱۲ و ۶۰ قطعه از گروه اتانول)، انتخاب گردید و به چهار گروه آزمایشی با شش تکرار و ۱۰ پرنده در هر قفس و به مدت ۴۲ روز برای انجام آزمایش دوم (اعمال تنش سرمایی) اختصاص داده شدند. در روز اول، دمای سالن بین ۳۲ و ۳۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از سن ۱۴روزگی، دما به تدریج کاهش یافت و در سن ۲۸ تا ۴۲ روزگی دما در محدوده ۲±۱۲ درجه سانتیگراد نگهداری شد. در روز اول پرورش، روشنایی به طور مداوم و سپس ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی تا پایان دوره پرورش تنظیم گردید. در دوره پرورش آب و خوراک بدون محدودیت و بصورت آزاد برای جوجه‌ها فراهم شد. جیره‌های غذایی براساس توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC,1994) تهیه گردید. اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره بین گروه‌های مختلف، به طور یکسان در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت (جدول ۱). خونگیری در دو دوره زمانی، قبل از اعمال تنش سرما (۱۴روزگی) و بعد از اعمال تنش سرما (۴۲روزگی) انجام شد. کلسترول (Cholesterol)، تری‌گلیسریدها (Triglycerides)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (High Density Lipoproteins)، لیپوپروتئین با چگالی کم (Low Density Lipoproteins) و لیپوپروتئین با چگالی خیلی کم (Very Low Density Lipoproteins)، با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و با

دستگاه اتوآنالیزور مدل Abbott Alcyon 300 اندازه‌گیری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی بر اساس مدل آماری زیر انجام گرفت. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS و با مقایسه میانگین آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

$$y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

جدول ۱- ترکیب اقلام خوراکی (درصد) و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی (۱تا۴۲ روزگی)

اقلام خوراکی(درصد)	جیره آغازین (۱- ۱۴ روزگی)	جیره رشد (۱۴- ۲۸ روزگی)	جیره پایانی (۲۸- ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۵	۵۸	۶۱/۵
کنجاله سویا	۳۷/۵۰	۳۴/۵۰	۳۱/۵۳
روغن سویا	۳/۰۶	۳/۴۰	۳/۵۴
ال- لیزین هیدروکلراید	۰/۲۰	۰/۱۸	۰/۱۳
دی ال- متیونین	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۲
ترئونین	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۴۷
دی‌کلسیم فسفات	۱/۸۷	۱/۶۲	۱/۶۹
کربنات	۱/۱۷	۱/۰۷	۱/۰
نمک	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۲۷
جوش شیرین	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۵
پیش مخلوط ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
پیش مخلوط معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
انرژی‌قابل‌متابولیسم (Kcal/Kg)	۲۹۹۳	۳۰۵۶	۳۰۹۸
پروتئین خام (٪)	۲۱/۲	۲۰/۱	۱۸/۹۴
لیزین (٪)	۱/۳	۱/۲۱	۱/۱
متیونین (٪)	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۳
سیستئین (٪)	۰/۳۵	۰/۳۴	۰/۳۲
ترئونین (٪)	۰/۹	۰/۸۲	۰/۷۶
کلسیم (٪)	۰/۹۴	۰/۸۴	۰/۸
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۵	۰/۴۱	۰/۴
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
کلر (٪)	۰/۱۹	۰/۲	۰/۱۹
پتاسیم (٪)	۰/۹۲	۰/۸۷	۰/۸۲

نتایج و بحث

اثرات تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های ب ۶ ، ب ۱۲ و اتانول بر درصد جوجه‌درآوری پس از انکوباسیون، در جدول ۲، ارائه شده است. نتایج آزمایش نشان داد درصد جوجه‌درآوری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تزریق ویتامین‌های ب ۶، ب ۱۲ و اتانول قرار گرفت و کمترین درصد جوجه‌درآوری در گروه تزریق شده با اتانول بود(P<۰/۰۵) و درصد جوجه‌درآوری با تزریق ب۶ و ب۱۲ در مقایسه با گروه اتانول به طور معنی داری(P<۰/۰۵) بهبود یافت. تاکنون مطالعاتی در ارتباط با تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های گروه ب تحت تنش القائی اتانول و سرما در جوجه-های گوشتی انجام نشده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه‌های آزمایشی تزریق شده با اتانول، درصد جوجه‌درآوری کاهش یافت که تا حدودی با نتایج سایر محققان که اثرات تزریق داخل تخم‌مرغی اتانول و تائورین بر تنش اکسیداتیو را گزارش کردند، شباهت دارد. در پژوهش‌های قبلی تزریق اتانول در روز سوم انکوباسیون موجب افزایش سطح هموسیستئین در روز یازدهم جنینی و در نتیجه افزایش تنش اکسیداتیو شد (Berning و همکاران ۲۰۱۳). براساس سایر گزارشات تزریق داخل تخم-مرغی اتانول در روز اول انکوباسیون موجب افزایش سطح هموسیستئین در روز ۱۵ جنینی و هنگام تفریخ شد (Taherianfard و همکاران ۲۰۱۳). بنا بر این اطلاعات، ویتامین‌هایی مانند ب۶ و ب۱۲ می‌توانند بر چرخه متیونین-هموسیستئین تأثیر بگذارند و سطح هموسیستئین را تغییر دهند و کمبود هر یک از این کوفاکتورها منجر به افزایش سطح هموسیستئین می‌گردد و این افزایش سطح هموسیستئین می‌تواند موجب کاهش جوجه‌درآوری گردد. همچنین گزارش شده است که، تزریق داخل تخم‌مرغی ۱۰۰ میکروگرم ویتامین ب۶، درصد جوجه‌درآوری را در مقایسه با گروه‌های شاهد افزایش داد، اما ضریب تبدیل خوراک تحت تاثیر قرار نگرفت که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مشابهت داشت (Bhanja و همکاران ۲۰۰۷). اثرات تزریق داخل تخم‌مرغی ویتامین‌های ب ۶ ، ب ۱۲ و اتانول بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سن ۱تا ۴۲ روزگی در جدول ۳، ارائه شده است. براساس نتایج آزمایش، افزایش وزن بدن و مصرف خوراک در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروههای آزمایشی بود(P<۰/۰۵). نتایج آزمایش نشان داد، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی به لحاظ ضریب تبدیل خوراک در پرندگان نبود(P>۰/۰۵). طبق مطالعه‌ای که اثر تزریق داخل تخم‌مرغی شش میکروگرم اسید آسکوربیک در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر، بر عملکرد جوجه‌های تحت تنش حرارتی در دوره‌های انکوباسیون و پرورش بررسی شد، تزریق اسید آسکوربیک نتوانست اثرات منفی تنش ناشی از دمای بالای پرورش تا سن ۴۲ روزگی را کاهش دهد و نیز درصد جوجه-درآوری در گروه با دمای بالا در انکوباسیون کاهش یافت (Sgavioli و همکاران ۲۰۱۶). کاهش درصد جوجه-درآوری و یکی از دلایل اینکه پایداری اکسیداتیو در دوران جنینی مشاهده نشد احتمالاً به دلیل فرصت کمتر پرنده و عدم تکامل سیستم ایمنی در دوران جنینی می‌باشد. همچنین یکی از دلائل احتمالی عدم تأثیرپذیری ضریب تبدیل پرندگان از تیمارهای اعمال شده، ناشی از شباهت جیره‌های آزمایشی در این تحقیق بود و وزن بدن عمدتاً تحت تأثیر نوع خوراک مصرفی قرار خواهد گرفت (Uni و همکاران ۲۰۱۴). به نظر می‌رسد در دوره پرورش به دلیل سازگاری پرندگان با شرایط تنش سرمایی ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر قرار نگرفت. این نتایج برخلاف نتایج بسیاری از محققان بود که در نتایج خود گزارش کردند مصرف خوراک ارتباط مستقیمی با مصرف اتانول دارد و مصرف اتانول

موجب افت برخی از ارتباطات مراکز مغزی بصورت غیرارادی می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق ۲۵ میکرولیتر اتانول در دوران جنینی نتوانست نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری در مصرف خوراک نشان دهد.

نتایج مربوط به دوره پرورش برای دو دوره زمانی قبل از اعمال تنش سرمایی (تا ۱۴روزگی) و پس از آن (تا ۴۲روزگی) بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در جداول ۴ تا ۷، ذکر شده است. در سن۱۴روزگی، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا و کم، پروتئین و آلبومین مشاهده نشد(P>۰/۰۵). گلوکز در گروه شاهد در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی به طور معنی‌داری کمتر بود(P<۰/۰۵). تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم در گروه تخم‌مرغ‌های تزریق شده با اتانول به طور معنی-داری(P<۰/۰۵) افزایش نشان داد و در گروه‌های ب۱۲ و ب۶ در مقایسه با گروه اتانول کمتر بود(جداول۴ و۶). در سن۴۲ روزگی، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا، گلوکز، آلبومین و پروتئین مشاهده نشد(P>۰/۰۵). کلسترول و تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم، تحت تأثیر تزریق اتانول به طور معنی‌داری افزایش یافت(P<۰/۰۵)، ولی در گروه‌های ب۱۲ و ب۶ در مقایسه با گروه اتانول کاهش نشان داد(جداول۵ و۷). براساس نتایج حاصل از این آزمایشات به نظر می‌رسد که تزریق داخل تخم مرغی ویتامین ب۱۲ توانست اثرات تنش ناشی از تزریق اتانول را کاهش دهد وگلوکز در گروه ویتامین ب۱۲ نسبت به گروه ویتامین ب۶ و اتانول کمتر بودکه احتمالاً ناشی از تأثیر بر روی چرخه متیونین-سیستئین و کاهش سنتز هموسیستئین می‌باشد و نهایتاً توانست اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از اتانول و تنش سرمایی را در دوره پرورش بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری کلی

درصد جوجه‌درآوری در گروه اتانول به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کمتر بود و تزریق ب۱۲ و ب۶، تنش اتانول را کاهش داد. ضریب تبدیل خوراک بین گروههای آزمایشی تفاوت معنی-داری نداشت. پس از اعمال تنش سرمایی در سن ۱۴ روزگی در دوره پرورش، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا، آلبومین و پروتئین بین گروه‌ها تفاوتی نداشت، اما گلوکز در گروه شاهد نسبت به سایر گروهها کمتر بود. در سن ۴۲ روزگی، کلسترول و تری-گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم، تحت تأثیر تزریق اتانول افزایش یافت و در گروه‌های ب۱۲ و ب۶ در مقایسه با گروه اتانول کاهش یافت.

جدول ٤- اثرات تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های ب ٦، ب ١٢ و اتانول بر ترکیب چربی سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) در سن ١٤ روزگی (خطای معیار± میانگین)

تیمار	کلسترول	تری گلیسرید	لیپو پروتئین‌های با چگالی بالا	لیپوپروتئین‌های با چگالی کم	لیپو پروتئین‌های با چگالی خیلی کم
شاهد	۱۲۷/۴۰ ± ۱۵/۶۹	۶۶/۸۶ b ± ۱/۴۴	۶۴/۰۰ ± ۱۰/۹۸	۵۰/۰۲ ± ۱۳/۲۴	۱۳/۳۸ b ۰±/۲۸
اتانول	۱۳۷/۰۰ ± ۲/۴۴	۱۱۴/۴۰ a ± ۴۰/۰۷	۷۲/۵۰ ± ۷/۲۸	۴۱/۶۲ ± ۱۲/۳۴	۲۲/۸۸ a ± ۸/۰۱
اتانول + ب۶	۱۳۴/۲۰ ± ۲۶/۹۰	۵۰/۷۶ b ± ۸/۷۸	۷۰/۵۰ ± ۱۵/۴۵	۵۳/۵۶ ± ۱۲/۱۱	۱۰/۱۶ b ۱±/۷۵
اتانول + ب۱۲	۱۴۰/۸۰ ± ۱۵/۳۵	۶۲/۶۰ b ± ۲۴/۸۳	۷۸/۵۰ ± ۹/۴۵	۴۹/۷۸ ۶±/۹۴	۱۲/۵۲ b ± ۴/۹۶
SEM	۰/۸۵	۰/۹۹	۰/۶۸	۰/۶۹	۰/۴۴
CV	۱۲/۹۱	۲۴/۹۲	۱۵/۶۹	۲۳/۴۴	۱۷/۲۱
P-value	NS	۰/۰۰۳	NS	NS	۰/۰۰۳

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها. a , b , c: در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

NS: تفاوت غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵). CV: ضریب تغییرات

جدول ٥- اثرات تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های ب ٦، ب ١٢ و اتانول بر ترکیب چربی سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) در سن ٤٢ روزگی (خطای معیار± میانگین)

تیمار	کلسترول	تری گلیسرید	لیپو پروتئین‌های با چگالی بالا	لیپوپروتئین‌های با چگالی کم	لیپو پروتئین‌های با چگالی خیلی کم
شاهد	۱۰۹/۴۰ b ± ۱۷/۰۴	۳۴/۲۰ b ± ۳/۸۹	۷۳/۰۰ ± ۱۰/۲۲	۲۹/۵۶ ± ۱۲/۰۶	۶/۸۴ b ± ۰/۷۸
اتانول	۱۴۰/۲۵ a ± ۱۹/۱۱	۵۶/۷۶ a ± ۶/۳۳	۸۰/۰۰ ± ۱۵/۱۱	۴۸/۹۰ ± ۱۳/۷۶	۱۱/۳۶ a ± ۱/۲۶
اتانول + ب۶	۹۱/۷۵ b ± ۶/۲۹	۳۸/۰۰ b ۱۰±/۵۱	۵۷/۵۰ ± ۱۱/۵۹	۴۴/۲۲ ± ۱۷/۹۸	۷/۶۰ b ± ۲/۱۰
اتانول + ب۱۲	۱۰۹/۴۰ b ± ۱۷/۰۴	۳۴/۲۰ b ± ۳/۸۹	۷۳/۰۰ ± ۱۰/۲۲	۲۶/۶۶ ± ۱۰/۷۵	۶/۸۴ b ± ۰/۷۸
SEM	۰/۷۱	۰/۴۶	۰/۶۹	۰/۶۷	۰/۲۰
CV	۱۳/۵۱	۱۵/۹۸	۲۰/۸۲	۱۸/۰۸	۱۵/۹۷
P-value	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۰۱	NS	NS	۰/۰۰۰۱

SEM : خطای استاندارد میانگین‌ها. a , b , c: در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

NS : تفاوت غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵). CV : ضریب تغییرات

جدول ٦- اثرات تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های ب ٦ ، ب ۱۲ و اتانول بر گلوکز، پروتئین و آلبومین سرم (میلی‌گرم بر دسی لیتر) در سن ١٤ روزگی (خطای معیار ± میانگین)

تیمار	گلوکز	پروتئین	آلبومین
شاهد	۲۱۸/۵۰ ^{b}± ۶/۲۲	۲/۴۶۰ ± ۰/۲۲	۱/۱۰ ± ۰/۱۶
اتانول	۲۴۷/۷۴ ^{a}± ۲/۸۶	۲/۶۶۰ ± ۰/۱۷	۱/۲۸ ± ۰/۰۵
اتانول + ب۶	۲۵۹/۲۵ ^{a}± ۱۸/۵۲	۲/۶۸۰ ± ۰/۳۳	۱/۱۲ ± ۰/۱۳
اتانول + ب۱۲	۲۲۶/۷۵ ^{b} ± ۱۴/۴۲	۲/۵۴۰ ± ۰/۲۸	۱/۱۲ ± ۰/۱۳
SEM	۰/۷۱	۰/۱۱	۰/۰۷۱
CV	۵/۱۳	۱۰/۰۷	۱۰/۶۹
P-value	۰/۰۰۰۳	NS	NS

SEM : خطای استاندارد میانگین‌ها.

a ,b,c : در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

NS : تفاوت غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵).

CV : ضریب تغییرات

جدول ۷- اثرات تزریق داخل تخم مرغی ویتامین‌های ب ٦ ، ب ۱۲ و اتانول بر گلوکز، پروتئین و آلبومین سرم (میلی‌گرم بر دسی لیتر) در سن ٤٢ روزگی (خطای معیار± میانگین)

تیمار	گلوکز	پروتئین	آلبومین
شاهد	۲۰۸/۸۰ ± ۱۱/۵۸	۳/۱۶ ± ۰/۲۸	۱/۳۶ ± ۰/۱۸
اتانول	۲۱۱/۲۰ ± ۸/۴۹	۳/۳۲ ± ۰/۴۲	۱/۵۸ ± ۰/۱۳
اتانول + ب۶	۲۲۶/۴۰ ± ۲۶/۲۱	۳/۱۲ ± ۰/۱۹	۱/۴۰ ± ۰/۱۴
اتانول + ب۱۲	۲۳۱/۸۰ ± ۸/۹۲	۳/۱۶ ± ۰/۲۸	۱/۳۶ ± ۰/۱۸
SEM	۰/۸۰	۰/۱۱۲	۰/۰۷۲
CV	۸/۹۲	۱۱/۹۶۴	۱۰/۸۹۲
P-value	NS	NS	NS

SEM : خطای استاندارد میانگین‌ها.

a,b,c : در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

NS : تفاوت غیر معنی‌دار (P>۰/۰۵).

CV : ضریب تغییرات

منابع

کرمانشاهی، ح.، اکبری، م .ر.، بهگر، م.، دانشیار، م. ۱۳۸۶. اختلالات متابولیکی و مایکوتوکسینها در طیور. ترجمه. نشر : مشهد، سناباد.

Berning, E.J., Bernhardson, N., Coleman, K. and Farhat, D.A. (2013). Ethanol and/or taurine-induced oxidative stress in chick embryos. *Journal of Amino Acids*. 1:1-11.

Berlin, K.N., Cameron, L.M., Gat, M. and Miller, Jr., R.R. (2010). Reduced de novo synthesis of 5-methyltetrahydrofolate and reduced taurine levels in ethanol-treated chick brains. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology*. 3:353–359.

Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Agarwal, S.K., Majumdar, S. and Bhattacharyya, A. (2007). Effect of in ovo injection of vitamins on the chick weight and post-hatch growth performance in broiler chickens. *World Poultry Science Association. Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition. Strasbourg, France.* pp.143–146.

Bigot, K., Mignon-Grasteau, S., Picard, M. and Tesseraud, S. (2003). Effects of delayed feed intake on body intestine and muscle development in neonate broilers. *Journal of Poultry Science.* 82:781–788.

Careghi, C., Tona, K., Buyse, J., Decuypere, E. and Bruggeman, V. (2005). The effects of the spread of hatch and interaction in delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. *Journal of Poultry Science.* 84:1314–1320.

Das, S.K. and Vasudevan, D.M. (2007). Alcohol-induced oxidative stress. *Journal of Life Science.* 81:177-187.

Dibner, J.J., Richards, J.D. and Knight, C.K. (2008). Microbial imprinting in gut development and health. *Journal of Applied Poultry Research.* 17:174–188.

Dibner, J.J. and Richards, J.D. (2004). The digestive system, Challenges and opportunities. *Journal of Applied Poultry Research.* 31:86–93.

Fernandez-Checa, J.C., Kaplowitz, N., Colell, A. and Garcia-Ruiz C. (1997). Oxidative stress andalcoholic liver disease. *Journal of Alcohol Health Research World.* 21:321-324.

Geyra, A., Uni, Z. and 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.* 86:53–61.

Ibrahim, N.S., Wakwak, M.M. and Khalifa, H.H. (2012). Effect of in ovo injection of some nutrients and vitamins upon improving hatchability and hatching performance of ostrich embryos. *Journal of Egypt Poultry Science.* 32:981-994.

Kadam, M.M., Bhanja, S.K., Mandal, A.B., Thakur, R., Vasan, P., Bhattacharya, A. and Tyagi, J.S. (2008). Effect of in ovo threonine supplementation on early growth immunological responses and digestive enzyme activities in broiler chickens. *British Poultry Science.* 49:736–741.

Miller, Jr., R.R. (2011). Hyperglycemia-induced oxidative-stress, apoptosis, and embryopathy. *Journal of Pediatric Biochemistry.* 4:309–324.

McEwen, B.S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Journal of Physiological Reviews.* 3:873-904.

Moberg, G.P. and Mench, J.A. (2000). The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. CABI.

Miller, J.r. R.R., Olson, B.M., Rorick, N., Wittingen, A.L. and Bullock, M. (2003a). Embryonic exposure to exogenous α-tocopherol and γ-tocoopherol partially attenuates ethanol-induced changes in brain morphology and brain membrane fatty acid composition. *Journal of Nutritional Neuroscience.* 6:201–413.

Miller, J.r. R.R., Leanza, C.M., Phillips, E.E. and Blacquiere, K.D. (2003b). Homocysteine-induced changes in brain membrane composition correlate with increased brain

caspase-3 activities and reduced chick embryo viability. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology.*136:521–532.

Miller, J.r. R.R., Hay, C.M., Striegnitz, T.R., Honsey, L.E., Coykendale, C.E. and Blacquire, K.D. (2006). Exogenous glycine partially attenuates homocysteine-induced apoptosis and membrane peroxidation in chick embryos. *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology.* 144: 25–33.

NRC (National Research Council). (1994). National Academy of Science. Nutrition Requirement of Poultry. *9th ed. Washington, USA.*

Rajd, D., Racek, J., Trefi Pavel Stehlik, L., Dobra, J. and Babuska, V. (2016). Effect of folic acid, betaine, vitamin B6, and vitamin B12 on homocysteine and dimethylglycine levels in middle-aged men drinking white wine. *Nutrients.*8:34.

Roman, D., Malheiros, P., Ferket, R. and Goncalves, F. M. (2012). Oxidative stress protection of embryos by in ovo Supplemention. *In: World´s Poultry Congress 5-9 August. Brazil.*

Suad, k.h., Ahmed, K., Abdul-lateif, M. and Al-shamary, M.A. (2014). Effect of in ovo injection of vitamin A on serum lipid profile and liver function in broiler. *Journal of Animal Veterinary Science.* 9:475-478.

Sgavioli, S., Domingues, C., Santos, E., Quadros, T.d., Borges, L., Garcia, R., Louzada, M. and Boleli, I. (2016). Effect of in-ovo ascorbic acid injection on the bone development of broiler chickens submitted to heat stress during incubation and rearing. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 1:153-162.

Salami, M., Salarmoini, M. and Tasharrofi, S. (2014). Effects of in-ovo injection of different nutrients on the hatchability and growth performance in broilers. *Journal of Livestock Science and Technologies.* 1:1-7.

Salary, J., Sahebi-Ala, F., Kalantar, M. and Hemati Matin, H. R. (2014). In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance, *Journal of Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2:S616-S619.

Svingen, G.F.T., Ueland, P.M., Pedersen, E.K.R., Schartum-Hansen, H., Seifert, R., Ebbing, M., Loland, KH., Tell, G.S. and Nygard O. (2013). Plasma dimethylglycine and risk of incident acute myocardial infarction in patients with stable angina pectoris. *Journal of Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.* 33:2041–2048.

SAS (Statistical Analysis System). (2008). SAS/STAT® 9.2. User's Guide. *SAS Institute Inc. Cary., North Carolina.*

Salmanzadeh, M, Ebrahimnezhad, Y.H, Aghdam, S. and Beheshti, R. (2012). The effects of in ovo injection of glucose and magnesium in broiler breeder eggs on hatching traits, performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. Archiv. Fur. Geflugelkunde. 76:277-284.

Surai, P.F., Noble, R.C. and Speake, B.K. (1999). Relationship between vitamin E content and susceptibility. *Journal of British Poultry Science.* 3:406-10.

Selhub, J. (1999). “Homocysteinemetabolism, *Journal of Annual Review of Nutrition.* 19: 217–246.

Taherianfard, M., Nazifi, S. and Farahani, Z. (2015). The effects of acute and chronic exposure to ethanol on chicken brain

homocysteine and leptin. *Zahedan Journal of Research in Medical Science.* 2:22-26.

Tako, E., Ferket, P. R. and Uni, Z. (2004). Effects of in ovo feeding of carbohydrates and β-hydroxy-β- methylbutyrate on the development of chicken intestine. *Journal of Poultry Science.* 83:2023–2028.

Uni, Z. and Ferket, R.P. (2014). Methods for early nutrition and their potential. *Journal of Worlds Poult Sci J.* 60:101-111.

Uni, Z. and Ferket, P.R. (2003). Enhancement of development of oviparous species by in ovo feeding. North Carolina State Univ and Yissum. *Journal of Research Development Company Assignees.* 6:592-878.