

اثر تزریق درون‌تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر هیستومورفولوژی روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک‌روزه

مرضیه ابراهیمی^{۱*}، رویا قوچخانی^۲، مسعود ادیب‌مرادی^۳، ذوالفقار رجبی^۴

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- استاد گروه بافت‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۴- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۶/۲/۳ پذیرش نهایی: ۹۷/۲/۹)

چکیده

توسعه زودهنگام روده کوچک می‌تواند موجب افزایش نرخ رشد در جوجه‌های تازه هچ شده شود. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر تزریق درون‌تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر هیستومورفولوژی روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک روزه راس ۳۰۸ بود. در این مطالعه از ۲۱۰ تخم‌مرغ بارور مادر گوشتی راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ گروه آزمایشی شامل ۳۰ تخم‌مرغ انفرادی استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل شاهد (بدون تزریق)، شم-شاهد (۱ میلی‌لیتر آب مقطر)، نسبت‌های ۴۰/۵، ۴۵/۵، ۵۰/۵، ۵۵/۵ و ۶۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بودند که در روز ۱۴ دوره انکوباسیون از قسمت پهن تخم‌مرغ به مایع آمینوتیک تزریق شدند. در روز ۲۲ مطالعه، ابتدا همه جوجه‌ها وزن‌کشی و کشتار شدند تا شاخص‌های مربوط به بافت روده و اندام‌های سیستم ایمنی اندازه‌گیری شوند. بر اساس نتایج آزمایش حاضر، اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن و وزن نسبی ایلوم، طول ایلوم، وزن و وزن نسبی روده کوچک، طول و طول نسبی روده کوچک معنی‌دار و افزایش‌دهنده بود ($p < 0/01$). همچنین اثر معنی‌دار ($p < 0/05$) تیمارها بر قطر کریپت (به جز دوازدهه)، عمق کریپت، طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلوم مشاهده شد. از سوی دیگر، اندام‌های سیستم ایمنی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. نتایج کلی این مطالعه نشان داد تزریق درون‌تخم‌مرغی از نسبت ۴۰/۵ تا ۵۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین، بهبود رشد و هیستومورفولوژی روده کوچک جوجه‌های گوشتی را ایجاد می‌کند.

کلیدواژه‌ها: روده کوچک، تزریق درون‌تخم‌مرغی، جوجه گوشتی، نسبت دی‌ال-متیونین به ال-لایزین.

مقدمه

تغذیه داخل رویانی به عنوان یک ابزار برای غلبه بر محدودیت رشد اولیه در طی رشد رویانی و پس از خروج از تخم در طیور اهلی محسوب می‌شود (Foye et al., 2006). به دلیل این که رویان تا قبل از سوراخ کردن کیسه هوایی، از طریق دهان از مایع آمینوتیک (متشکل از آب و پروتئین آلبومین) تغذیه می‌کند، مکمل کردن مایع آمینون با مواد مغذی، در حقیقت فراهم کردن یک جیره خارجی از مواد مغذی به جنین پیش از خروج از تخم است (Foye et al., 2006). نشان داده شده است که روزهای پایانی دوره جوجه‌کشی در رشد و توسعه روده کوچک از اهمیت بالایی برخوردار است (Uni et al., 2003)، با این حال دستگاه گوارش پرنده تازه از تخم درآمده هنوز به بلوغ کافی نرسیده است (Klasing, 1998). با توجه به این که مصرف خوراک موجب افزایش رشد پرزهای روده کوچک می‌شود (Geyra et al., 2001)، تعدادی از پژوهش‌ها به بررسی اثر تغذیه درون تخم مرغی بر رشد و عملکرد بافت روده پرداختند و اثرهای مثبت تغذیه درون تخم مرغی بر رشد، مورفولوژی بافت روده، فعالیت آنزیمی روده کوچک و همچنین جذب مواد مغذی را مشاهده کردند (Bartell and Batal, 2007; Foye et al., 2007; Chen et al., 2009). در جیره طیور بر پایه ذرت-سویا، لایزین به عنوان دومین اسیدآمینه محدودکننده، تأثیر زیادی بر میزان تولید دارد (Tesseraud et al., 1996). همچنین لایزین به عنوان پایه بررسی محتوای سایر اسیدهای آمینه ضروری برای تعیین تعادل ایده‌آل اسیدهای آمینه استفاده می‌شود. بنابراین، لایزین اسیدآمینه مرجع از جنبه پروتئین ایده‌آل است و تخمین دقیق نیاز لایزین از اهمیت بالایی برخوردار است، تا نسبت ایده‌آل سایر

اسیدهای آمینه مشخص شود (Baker, 2009). در مطالعه بهانجا و همکاران در سال ۲۰۱۲ تزریق درون تخم مرغی لایزین در روز ۱۴ مطالعه بهبود غیرمعنی‌دار وزن نسبی روده کوچک مشاهده شد (Bhanja et al., 2012). همچنین افزایش لایزین جیره موجب افزایش طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (Vaezi et al., 2011). متیونین اولین اسیدآمینه محدودکننده برای طیور می‌باشد و در ستر پروتئین، عملکرد سیستم ایمنی و بسیاری دیگر از فعالیت‌های بیولوژیک نقش دارد (Finkelstein, 1990). همچنین اثرهای مثبت تغذیه جوجه‌های گوشتی با دی‌ال-متیونین بر بهبود هیستومورفولوژی روده نشان داده شده است (Shen et al., 2015). بنابراین، با توجه به مطالب بیان شده در بالا به نظر می‌رسد تغذیه درون تخم مرغی همزمان این دو اسیدآمینه بتواند موجب بهبود مورفولوژی بافت روده و تقویت سیستم ایمنی شود. ال-مورانی در سال ۱۹۸۲ نسبت ایده‌آل اسیدآمینه متیونین به لایزین را برای جنین‌های ۷ روزه ۵۰/۵ درصد برآورد کرد (Al-Murrani, 1982). با این حال در مورد اثر استفاده از نسبت‌های مختلف اسیدآمینه متیونین به لایزین در دوره جنینی جوجه‌های گوشتی اطلاعات بسیار اندکی در دست است. بنابراین در این مطالعه از نسبت‌های بالاتر و پایین‌تر این دو اسیدآمینه به منظور تزریق درون تخم مرغی استفاده شد، تا اثر تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر هیستومورفولوژی روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک روزه سویه راس بررسی شود.

مواد و روش‌ها

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 اسیدآمین 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 (Bhanja and Mandal, 2005). 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 آمینوتیک تزریق شد (روش تزریق و محل تزریق با استفاده از اطلاعات پیش‌آزمایش و با به‌کار بردن جوهر برای تعیین دقیق محل تزریق به دست آمده است). در این آزمایش در محلول تزریق همه گروه‌های دریافت‌کننده نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین، نخست مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال-لایزین در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد، سپس در محلول تیمار دارای نسبت ۴۰/۵ درصد مقدار ۸/۱ میلی‌گرم دی‌ال-متیونین، در نسبت ۴۵/۵ درصد مقدار ۹/۱ میلی‌گرم دی‌ال-متیونین، در نسبت ۵۰/۵ درصد مقدار ۱۰/۱ میلی‌گرم دی‌ال-متیونین، در نسبت ۵۵/۵ درصد مقدار ۱۱/۱ میلی‌گرم دی‌ال-متیونین و در نسبت ۶۰/۵ درصد مقدار ۱۲/۱ میلی‌گرم دی‌ال-متیونین در محلول آب مقطر دارای ال-لایزین حل و تزریق شد. هنگام آماده‌سازی محلول pH آن روی ۷ تنظیم شد. در زمان تزریق دمای محلول تزریقی به ۳۰ درجه سلسیوس افزایش یافت و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در زیر هود به مدت ۱۵ دقیقه برای هر تیمار تزریق انجام شد

این آزمایش با هدف بررسی تأثیر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر هیستومورفولوژی روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک روزه سویه راس طراحی شد. به این منظور ۲۱۰ عدد تخم‌مرغ بارور از مزرعه مرغ مادر گوشتی خوشخوان (تبریز، آذربایجان شرقی) با سن گله ۲۷ هفتگی خریداری شد. سپس، تخم‌مرغ‌ها شماره‌گذاری شده و به صورت انفرادی وزن‌کشی شدند و وزن اولیه آن‌ها ثبت شد. در مرحله بعد، تخم‌مرغ‌ها 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 سلسیوس و رطوبت آن روی ۶۰ درصد و به تعداد ۶ بار چرخش در شبانه‌روز تنظیم شد. در ۳ روز آخر دوره جوجه‌کشی دمای دستگاه روی ۳۷ درجه سلسیوس و رطوبت ۷۰ درصد تنظیم شده و تخم‌مرغ‌ها 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 پیش‌آزمایش (۲ درصد ال-لایزین)، (Ebrahimi et al., 2017) و بر اساس نسبت ارائه‌شده به وسیله ال-مورانی در سال ۱۹۸۲ برای جنین‌های ۷ روزه (نسبت دی‌ال-متیونین به ال-لایزین ۵۰/۵ درصد)، (Al-Murrani, 1982)، 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 دی‌ال-متیونین به ال-لایزین)، ۵ تیمار آزمایش مربوط به نسبت‌های مختلف این اسیدهای آمینه را

همچنین عدسی چشمی کالیبره در گروه‌های شاهد و تیمار اندازه‌گیری شدند (Poosti and Adibmoradi, 2008) و نسبت طول پرز به عمق کریپت محاسبه و گزارش شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.2 آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد گزارش شدند و سطح معنی‌داری 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین اثر افزایش‌دهنده معنی‌دار بر وزن جوجه‌ها ($p < 0/01$) داشت و همگی تیمارهای دریافت‌کننده نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین نسبت به گروه شاهد و شم- شاهد افزایش نشان دادند و بالاترین مقدار از نظر عددی در نسبت 5/5 درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد (جدول 1).

اثر تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن بورس، وزن نسبی بورس به وزن بدن، وزن تیموس، وزن نسبی تیموس به وزن بدن، وزن طحال و وزن نسبی طحال به وزن بدن معنی‌دار نبود (جدول 1).

اثر تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن دوازدهه، وزن نسبی دوازدهه به وزن بدن، طول دوازدهه، وزن ژرژنوم، وزن نسبی ژرژنوم به وزن بدن و طول ژرژنوم معنی‌دار

(Bhanja and Mandal, 2005). سپس سطح منفذ ایجادشده در تخم مرغ با پنبه-الکل ضد عفونی شده و با چسب نواری مسدود شد و تخم مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی انتقال داده شدند. در روز 19 تخم مرغ‌ها به سبدهای مخصوص هجری انتقال داده شدند و پس از پایان دوره جوجه‌کشی در روز 21 جوجه‌های تازه تفریخ‌شده به صورت انفرادی وزن‌کشی شدند. سپس جوجه‌ها کشتار شده و وزن و طول سه بخش روده باریک شامل دوازدهه، ژرژنوم و ایلیم به همراه وزن تیموس، طحال و بورس فابریسیوس اندازه‌گیری و ثبت شدند. وزن‌ها به صورت وزن نسبی این اندام‌ها به وزن زنده جوجه یک‌روزه نیز ثبت شدند. همچنین وزن روده باریک، طول روده باریک، نسبت طول روده باریک به وزن زنده جوجه یک‌روزه (طول نسبی روده باریک) و وزن نسبی روده باریک نیز محاسبه و ثبت شدند. همچنین نمونه‌های سه قسمت دوازدهه، ژرژنوم و ایلیم در فرمالین 10 درصد نگه‌داری شدند و به منظور تعیین طول پرزها، عمق کریپت، ضخامت پرز و قطر کریپت دوازدهه، ژرژنوم و ایلیم، نمونه‌ها به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافتند. مراحل بافت‌شناسی مربوط به نمونه‌های روده شامل تثبیت نمونه‌ها با فرمالین 10 درصد به مدت یک هفته، پردازش بافت (شامل آبگیری با استفاده از درجات صعودی الکل، شفاف‌کردن با استفاده از زایلول و آغشتگی نمونه‌ها با پارافین)، قالب‌گیری با استفاده از قالب‌های لوکهارت، برش بافت با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل MRS 3500، چسباندن برش‌ها روی لام و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و اتوزین بود و در پایان طول پرزها، عمق کریپت، ضخامت پرز و قطر کریپت با استفاده از گراتیکول مدرج خطی و چهارخانه و

(جدول ۲). همچنین اثر افزایش دهنده معنی‌دار ($p < 0/01$) تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن ایلوم، وزن نسبی ایلوم به وزن بدن و طول ایلوم به‌طور معنی‌داری افزایش‌دهنده بود ($p < 0/01$) و این افزایش تا نسبت ۵۵/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. با این حال بیش‌ترین مقدار وزن ایلوم و وزن نسبی ایلوم به وزن بدن در نسبت ۴۵/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد، این روند افزایشی تا نسبت ۵۵/۵ درصد ادامه داشت (جدول ۲).

نمود (جدول ۲). اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن ایلوم، وزن نسبی ایلوم به وزن بدن و طول ایلوم به‌طور معنی‌داری افزایش‌دهنده بود ($p < 0/01$) و این افزایش تا نسبت ۵۵/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. با این حال بیش‌ترین مقدار وزن ایلوم و وزن نسبی ایلوم به وزن بدن در نسبت ۴۵/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین و بیش‌ترین مقدار طول ایلوم در نسبت ۵۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد.

جدول ۱- اثر تزریق نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر وزن جوجه و اندام‌های سیستم ایمنی جوجه‌های یک روزه سویه راس

صفات	شم-شاهد	شاهد	نسبت ۴۰/۵	نسبت ۴۵/۵	نسبت ۵۰/۵	نسبت ۵۵/۵	نسبت ۶۰/۵	p-value
وزن جوجه ^۱	۴۰/۰±۲۸۴/۵۶ ^b	۳۹/۰±۴۵۹/۶۵ ^b	۴۲/۰±۰۱۸/۶۰ ^a	۴۲/۰±۲۴۵/۶۱ ^a	۴۲/۰±۴۳۵/۶۷ ^a	۴۲/۰±۷۳۷/۶۷ ^a	۴۱/۰±۲۵۹/۸۳ ^a	۰/۰۰۴
وزن بورس ^۱	۰/۰±۰۱۷/۰۰۱	۰/۰±۰۱۷/۰۰۲	۰/۰±۰۱۹/۰۰۱	۰/۰±۰۲۲/۰۰۱	۰/۰±۰۲۰/۰۰۱	۰/۰±۰۲۱/۰۰۱	۰/۰±۰۱۷/۰۰۲	۰/۱۲۸
وزن نسبی بورس ^۲	۰/۰±۰۴۳/۰۰۳	۰/۰±۰۴۲/۰۰۳	۰/۰±۰۴۵/۰۰۳	۰/۰±۰۵۱/۰۰۳	۰/۰±۰۴۷/۰۰۳	۰/۰±۰۴۹/۰۰۳	۰/۰±۰۴۲/۰۰۳	۰/۲۲۶
وزن تیموس ^۱	۰/۰±۰۲۱/۰۰۲	۰/۰±۰۲۳/۰۰۳	۰/۰±۰۲۵/۰۰۲	۰/۰±۰۲۵/۰۰۲	۰/۰±۰۲۳/۰۰۲	۰/۰±۰۲۴/۰۰۲	۰/۰±۰۲۵/۰۰۳	۰/۹۰۷
وزن نسبی تیموس ^۲	۰/۰±۰۰۵۴/۰۰۵	۰/۰±۰۰۵۹/۰۰۵	۰/۰±۰۰۵۹/۰۰۵	۰/۰±۰۰۵۹/۰۰۴	۰/۰±۰۰۵۶/۰۰۵	۰/۰±۰۰۵۶/۰۰۵	۰/۰±۰۰۶۱/۰۰۶	۰/۹۸۶
وزن طحال ^۱	۰/۰±۰۱۳/۰۰۱	۰/۰±۰۱۴/۰۰۲	۰/۰±۰۱۵/۰۰۱	۰/۰±۰۱۵/۰۰۱	۰/۰±۰۱۴/۰۰۱	۰/۰±۰۱۴/۰۰۱	۰/۰±۰۱۴/۰۰۲	۰/۹۷۱
وزن نسبی طحال ^۲	۰/۰±۰۳۳/۰۰۳	۰/۰±۰۳۶/۰۰۴	۰/۰±۰۳۵/۰۰۳	۰/۰±۰۳۴/۰۰۳	۰/۰±۰۳۳/۰۰۳	۰/۰±۰۳۳/۰۰۳	۰/۰±۰۳۳/۰۰۴	۰/۹۹۸

داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد می‌باشند. abc: میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری ندارند ($p < 0/05$).

۱: گرم، ۲: درصد

تیمارهای نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین موجب افزایش طول پرز و عمق کریپت دوازدهه شدند و بالاترین مقدار در نسبت ۶۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. همچنین در مورد نسبت طول پرز به عمق کریپت دوازدهه، اگرچه افزایش این مقدار در همگی تیمارهای نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین نسبت به گروه‌های شاهد مشاهده شد، بالاترین مقدار از نظر عددی در نسبت ۴۵/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد.

نتایج مربوط به بافت‌شناسی بافت دوازدهه، اثر معنی‌دار تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین را بر طول پرز دوازدهه ($p < 0/01$)، عمق کریپت دوازدهه ($p < 0/01$)، نسبت طول پرز به عمق کریپت دوازدهه ($p < 0/01$) نشان دادند، این در حالی است که ضخامت پرز و قطر کریپت تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند (جدول ۳). در مقایسه تیمارها با آزمون آماری چند دامنه دانکن همگی

نسبت های مختلف دی ال-متیونین به ال-لایزین افزایش معنی دار طول پرز ژرژنوم ($p < 0/01$)، عمق کریپت ژرژنوم ($p < 0/05$)، نسبت طول پرز به عمق کریپت ژرژنوم در نسبت های ۵۵/۵ و ۴۰/۵ درصد دی ال-متیونین به ال-لایزین، بالاترین مقدار عددی طول پرز ژرژنوم در نسبت ۶۰/۵ درصد دی ال-متیونین به ال-

جدول ۲- اثر تزریق نسبت های مختلف دی ال-متیونین به ال-لایزین بر ویژگی های وزنی و طولی روده کوچک در جوجه های یک روزه سویه راس

تزریق درون تخم مرغی نسبت های مختلف دی ال-متیونین به ال-لایزین (درصد)							
صفات مورد	شماره شاهد	شاهد	نسبت ۴۰/۵	نسبت ۴۵/۵	نسبت ۵۰/۵	نسبت ۵۵/۵	نسبت ۶۰/۵
دوازدهه							
وزن ^۱	۰/۰±۱۷/۰۱	۰/۰±۱۷/۰۱	۰/۰±۱۹/۰۱	۰/۰±۲۰/۰۱	۰/۰±۲۰/۰۱	۰/۰±۲۰/۰۱	۰/۰±۱۸/۰۱
وزن نسبی ^۲	۰/۰±۴۵/۰۲	۰/۰±۴۴/۰۲	۰/۰±۴۴/۰۲	۰/۰±۴۸/۰۲	۰/۰±۴۸/۰۲	۰/۰±۴۹/۰۲	۰/۰±۴۲/۰۲
طول ^۳	۶/۰±۶۳/۲۲	۶/۰±۷۷/۲۷	۶/۰±۴۹/۲۱	۶/۰±۹۷/۲۰	۶/۰±۴۶/۲۳	۷/۰±۰۵/۲۳	۶/۰±۴۱/۲۶
ژرژنوم							
وزن ^۱	۰/۰±۲۷/۰۲	۰/۰±۲۸/۰۲	۰/۰±۳۰/۰۲	۰/۰±۳۰/۰۲	۰/۰±۳۲/۰۲	۰/۰±۳۲/۰۲	۰/۰±۲۵/۰۲
وزن نسبی ^۲	۰/۰±۷۰/۰۳	۰/۰±۷۰/۰۴	۰/۰±۷۱/۰۳	۰/۰±۷۲/۰۳	۰/۰±۷۶/۰۳	۰/۰±۷۵/۰۴	۰/۰±۶۱/۰۴
طول ^۳	۱۲/۰±۵۲/۳۹	۱۲/۰±۳۶/۴۹	۱۲/۰±۳۷/۳۸	۱۳/۰±۴۹/۳۶	۱۲/۰±۸۶/۴۰	۱۲/۰±۹۶/۴۲	۱۱/۰±۶۹/۴۸
ایلیوم							
وزن ^۱	۰/۰±۱۸/۰۱ ^c	۰/۰±۱۸/۰۲ ^c	۰/۰±۲۰/۰۱ ^{bc}	۰/۰±۲۶/۰۱ ^a	۰/۰±۲۲/۰۱ ^b	۰/۰±۲۳/۰۱ ^{ab}	۰/۰±۱۸/۰۲ ^{bc}
وزن نسبی ^۲	۰/۰±۴۵/۰۳ ^c	۰/۰±۴۶/۰۳ ^c	۰/۰±۴۸/۰۳ ^{bc}	۰/۰±۶۰/۰۳ ^{ab}	۰/۰±۵۲/۰۳ ^{abc}	۰/۰±۶۰/۰۳ ^a	۰/۰±۵۰/۰۳ ^{bc}
طول ^۳	۱۰/۰±۵۵/۴ ^b	۱۰/۰±۵۴/۵ ^b	۱۱/۰±۴۳/۴ ^{ab}	۱۲/۰±۶۰/۴ ^a	۱۲/۰±۶۶/۴ ^a	۱۲/۰±۵۱/۴ ^a	۱۰/۰±۴۰/۵ ^{bc}
روده کوچک							
وزن ^۱	۰/۰±۶۳/۰۳ ^d	۰/۰±۶۳/۰۴ ^d	۰/۰±۶۹/۰۳ ^{bc}	۰/۰±۷۶/۰۳ ^a	۰/۰±۷۱/۰۳ ^{ab}	۰/۰±۷۵/۰۳ ^{ab}	۰/۰±۶۳/۰۴ ^{cd}
وزن نسبی ^۲	۱/۰±۶۰/۰۵ ^c	۱/۰±۶۰/۰۶ ^c	۱/۰±۶۳/۰۵ ^{bc}	۱/۰±۸۰/۰۵ ^a	۱/۰±۷۶/۰۵ ^{ab}	۱/۰±۷۹/۰۵ ^a	۱/۰±۵۲/۰۶ ^c
طول ^۳	۲۹/۰±۷۱/۷ ^c	۲۹/۰±۵۷/۹ ^c	۳۰/۰±۲۸/۷ ^{bc}	۳۳/۰±۰۶/۷ ^a	۳۱/۰±۹۹/۷ ^{ab}	۳۲/۰±۵۱/۸ ^{ab}	۲۸/۰±۵۰/۹ ^{bc}
طول نسبی ^۲	۷۶/۱±۶۹/۵ ^{ab}	۷۲/۱±۸۳/۸ ^{ab}	۷۲/۱±۰۸/۴ ^{bc}	۷۸/۱±۳۶/۳ ^a	۷۶/۰±۲۱/۵ ^{ab}	۷۸/۱±۰۱/۶ ^a	۶۸/۱±۴۹/۸ ^a

داده ها به صورت میانگین حداقل مربعات خطای استاندارد می باشند. abc: میانگین های با حروف مشابه اختلاف معنی داری به لحاظ آماری ندارند ($p < 0/05$).
۱: گرم، ۲: درصد، ۳: سانتی متر.

لایزین و بالاترین مقدار عددی نسبت طول پرز به عمق کریپت ژرژنوم در نسبت های ۶۰/۵ و ۴۰/۵ درصد دی ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. اگر چه بالاترین مقدار عددی عمق کریپت ژرژنوم در نسبت ۵۵/۵ درصد دی ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد، عمق کریپت ژرژنوم در نسبت های ۵۰/۵ و ۴۰/۵ درصد دی ال-متیونین به ال-لایزین کاهش عددی نسبت به گروه های کنترل داشتند.

کریپت ژرژنوم ($p < 0/01$) و قطر کریپت ژرژنوم ($p < 0/01$) را ایجاد کردند، با این حال ضخامت پرز ژرژنوم تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (جدول ۳). در مقایسه تیمارها با آزمون آماری چند دامنه دانکن به صورت تقریبی همه نسبت های مختلف دی ال-متیونین به ال-لایزین موجب افزایش شاخص های طول پرزها، عمق کریپت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و قطر کریپت ژرژنوم شدند. همچنین بالاترین مقدار عددی قطر

۴۵/۵ و ۴۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. عمق کریپت ایلوم تحت تأثیر نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین روند کاهشی ($p < 0/01$) نشان داد و کمترین مقدار عددی عمق کریپت ایلوم در نسبت‌های ۴۵/۵ و ۴۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد (جدول ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

تزریق درون‌تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین موجب افزایش وزن جوجه‌ها شد که مشابه با نتایج مطالعه حاضر، جوشکون و همکاران در سال ۲۰۱۴ با تزریق درون‌تخم مرغی دی‌ال-متیونین

همچنین قطر کریپت ایلوم، نسبت طول پرز به عمق کریپت ایلوم و طول پرز ایلوم همگی تحت تأثیر نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین روند افزایشی ($p < 0/01$) نشان دادند، با این حال ضخامت پرز تغییر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳). اگرچه در مقایسه تیمارها با آزمون آماری چند دامنه دانکن همگی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین روند افزایشی در شاخص‌های بافت‌شناسی ایلوم نسبت به گروه‌های کنترل ایجاد کردند، بالاترین مقدار عددی قطر کریپت ایلوم و طول پرز ایلوم در نسبت ۶۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین و بالاترین مقدار عددی نسبت طول پرز به عمق کریپت ایلوم در نسبت‌های

لنفوسیت‌های خون، کاهش هتروفیل، کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت و افزایش تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل) را گزارش کردند (Bouyeh, 2012). در آزمایش حاضر افزایش وزن و وزن نسبی ایلوم و روده کوچک و همچنین افزایش طول ایلوم، طول و طول نسبی روده کوچک با تغذیه درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین مشاهده شد. همچنین اثر افزایش‌دهنده تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر شاخص‌های بافت‌شناسی روده کوچک شامل قطر کریپت (به جز دوازدهه)، طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژنوم و ایلوم مشاهده شد. تعدادی از پژوهش‌ها نتایج مشابهی با نتایج مطالعه حاضر به دست آوردند: ابراهیمی و همکاران در سال ۲۰۱۷ با تزریق درون تخم مرغی سطوح مختلف ال-لایزین هیچ تغییر معنی‌داری در وزن و طول روده باریک مشاهده نکردند، با این حال تزریق درون تخم مرغی ال-لایزین تا سطح ۲۰ میلی گرم اثر افزایش‌دهنده بر طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژنوم و ایلوم، قطر کریپت‌های دوازدهه و ژنوم و ضخامت پرزهای دوازدهه و ایلوم داشت، درحالی‌که عمق کریپت‌های دوازدهه، ژنوم و ایلوم را به طور معنی‌داری کاهش داد (Ebrahimi et al., 2017). همچنین در پژوهشی دیگر تزریق درون تخم مرغی ۲۵ میلی گرم ال-لایزین در روز ۱۴ دوره جنینی افزایش عددی وزن نسبی روده کوچک در جوجه‌های یک روزه ایجاد کرد (Bhanja et al., 2012). همچنین افزایش سطح لایزین جیره در طی دوره رشد در جوجه‌های گوشتی موجب افزایش عمق کریپت، طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت شده

افزایش وزن نسبی جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد را گزارش کردند (Coşkun et al., 2014). همچنین تزریق درون تخم مرغی ۳/۷۸ میلی گرم لایزین در ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر موجب افزایش وزن جوجه‌های یک‌روزه شد (Asmawat et al., 2015). به هر حال، در تناقض با نتایج مطالعه حاضر، بهانجا و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر بهبود وزن جوجه یک‌روزه و یا افزایش وزن آن را در اثر تزریق درون تخم مرغی لایزین مشاهده نکردند (Bhanja et al., 2012). به نظر می‌رسد تحریک رشد ایجادشده در تیمارهای نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین نسبت به گروه شاهد به دلیل نقش‌های بیولوژیکی متیونین در ساخت پروتئین، دهنده گروه متیل و تحریک ساخت پلی‌آمین‌های محرک رشد (Finkelstein, 1990; Vazquez-Anon et al., 2006; Luo and Levine, 2009) و همچنین نقش لایزین در تحریک ساخت پروتئین (Labadan and Austic, 2001)، تحریک تولید ال-کارنیتین (Arsalan et al., 2004) و به دنبال آن افزایش مقدار فاکتور رشد شبه-انسولینی (IGF- I) و تحریک رشد پی‌آیند آن (Kita et al., 2002) اعمال شده باشد.

تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین اثری بر وزن بدن و وزن نسبی اندام‌های سیستم ایمنی نداشت. در آزمایش مشابهی، با تزریق درون تخم مرغی لایزین اثری بر پاسخ ایمنی همورال، وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد (Bhanja et al., 2012). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، بویه در سال ۲۰۱۲ با افزایش همزمان سطوح متیونین و لایزین در جیره جوجه‌ها، افزایش شاخص‌های ایمنی (افزایش

عبور سریع‌تر، کاهش رطوبت محتویات و بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود (Tahami et al., 2014). پلاسکه و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که طول پرز همبستگی مثبتی با افزایش وزن زنده بدن و مصرف خوراک دارد (Pluske et al., 1997). بارتل و باتال در سال ۲۰۰۷ بر این موضوع تاکید دارند که افزایش ارتفاع پرزها دلیل بر استفاده بیشتر و بهتر مواد غذایی و بهبود رشد نیست (Bartell and Batal, 2007). نسبت طول پرز به عمق کریبت به عنوان یک شاخص مفید برای تخمین ظرفیت هضمی روده کوچک در نظر گرفته می‌شود (Pluske et al., 1997). همچنین نشان داده شده است که افزایش طول روده باریک از طریق افزایش سطح هضم و جذب می‌تواند بهبود رشد جوجه‌ها را در طی دوره رشد در پی داشته باشد (Ebrahimi et al., 2016). بنابراین به نظر می‌رسد تزریق درون‌تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بتواند از طریق افزایش طول روده کوچک و همچنین افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریبت بهبود هضم و جذب را در جوجه‌ها در طی دوره رشد ایجاد کند و به این ترتیب بهبود رشد را در پی داشته باشد.

در طی دوره جوجه‌کشی، مایع آمینوتیک از طریق دهان مورد استفاده جنین قرار می‌گیرد و با ورود مواد مغذی به روده، پتانسیل و توان عملکردی روده توسعه می‌یابد (Geyra et al., 2001; Foye et al., 2006). با توجه به این که تغذیه بعد از تخم درآمدن از مایع آمینوتیک به خوراک تغییر می‌کند، سازگاری زودتر روده کوچک با مواد غذایی بهبود رشد و زنده‌مانی در جوجه‌های تازه از تخم درآمده را در پی خواهد داشت (Uni and Ferket, 2004). تعدادی از پژوهش‌ها نشان

است (Vaezi et al., 2011). عبدالعلی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۶ در آزمایشی مشابه پژوهش حاضر، نسبت‌های مختلف آرژنین به لایزین را به درون تخم‌مرغ تزریق و در نسبت ۹۰/۷ درصد آرژنین به لایزین بهترین اثر را بر رشد روده کوچک مشاهده کردند (Abdolalizadeh Alvanegh et al., 2016). محمد رضایی و همکاران در سال ۲۰۱۴ با تزریق ۴۰ میلی‌گرم متیونین به داخل تخم‌مرغ در روز ۴ جوجه‌کشی، آثار بهینه آن را بر خصوصیات روده باریک در مقایسه با سایر مقادیر و نیز گروه شاهد مشاهده کردند، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Mohammadrezaei et al., 2014). طبق گزارش شن و همکاران در سال ۲۰۱۵ مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با دی‌ال-متیونین موجب افزایش غیرمعنی‌دار طول پرز شد، درحالی‌که افزودن ال-متیونین به جیره افزایش معنی‌دار طول پرز را نسبت به گروه شاهد در ۲۱ روزگی ایجاد کرد. ضخامت پرز با هر دو مکمل دی‌ال-متیونین و ال-متیونین نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (Shen et al., 2015). عمق کریبت پایین‌تر و نسبت طول پرز به عمق کریبت بالاتر در ۷ روزگی در تیمار ال-متیونین نسبت به گروه شاهد مشاهده شد، همچنین روند مشابه اما غیرمعنی‌داری در گروه دی‌ال-متیونین نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (Shen et al., 2015). قسمت‌هایی از نتایج پژوهش شن و همکاران در سال ۲۰۱۵ با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد.

هر گونه تغییر در طول پرزها، به معنی تغییر در میزان جذب هست، به این مفهوم که افزایش ارتفاع پرزها باعث افزایش جذب مواد هضم شده می‌گردد (Teshfam et al., 2005). پرز بلندتر سبب جلوگیری از

2005). افزایش تمایز و رشد سلول‌های روده با افزایش نیاز به پروتئین (به طور مثال آل‌بومین) و اسید آمینه همراه است (Cant *et al.*, 1996) و اسیدهای آمینه به‌عنوان سوبسترای اصلی در تمایز سلول‌های روده از جمله انتروسیست‌ها نقش دارند (Calder and Yaqoob, 1999). بنابراین ممکن است افزایش طول پرز تیمارهای تحت تزریق نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین به همین سبب باشد.

با توجه به این که به صورت تقریبی همه نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین حداقل در یک یا دو شاخص اثر مثبت داشتند، بنابراین به نظر می‌رسد همه سطوح افزایش رشد و تکامل مورفولوژی بافت روده را تحریک کرده‌اند. با این حال، تا نسبت ۵۰/۵ درصد دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بیش‌ترین بهبود شاخص‌های وزنی، طولی و بافت‌شناسی روده کوچک ایجاد شده است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر رأفت، جناب آقای دکتر دقیق‌کیا و سایر همکاران و دانشجویان گرامی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز که در انجام این آزمایش همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

همچنین، نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

دادند که تغذیه درون تخم مرغی مواد مغذی به تنهایی می‌تواند موجب رشد زود هنگام روده و عملکرد آن در جوجه‌های تازه هچ شده شود و بهبود هضم و جذب را در پی داشته باشد (Uni and Ferket, 2004; Foye *et al.*, 2009a,b; Chen *et al.*, 2009). بنابراین تزریق درون تخم مرغی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین به طور مستقیم محرک رشد وزنی و طولی و همچنین بهبود مورفولوژی بافت روده بوده است. همچنین نشان داده شده است که لایزین در بیوستز ال-کارنیتین نقش دارد (Arsalan, 2006). با توجه به نقش ال-کارنیتین در افزایش غلظت فاکتور رشد شبه‌انسولینی I-IGF-I و افزایش تکثیر سلولی (Shafey *et al.*, 2010)، به نظر می‌رسد قسمتی از اثر تحریکی نسبت‌های مختلف دی‌ال-متیونین به ال-لایزین بر رشد روده باریک و بافت‌شناسی آن (افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت) از طریق این اثر لایزین میانجی‌گری شود. از سوی دیگر، متیونین در سنتز پلی‌آمین‌ها از جمله پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین نقش دارد (Finkelstein, 1990) که این پلی‌آمین‌ها مولکول‌های ضروری برای تکثیر، تمایز و رشد سلول‌های روده‌ای هستند (Khajali and Widerman, 2010). همچنین مشخص شده است که اسیدهای آمینه واسطه‌های مهمی در پیام‌رسانی سلولی در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس در شرایط آزمایشگاهی و همچنین آزادسازی فاکتورهای رشد شبه-انسولین در بدن موجود زنده می‌باشند (Xu *et al.*, 1998). انسولین و پروانسولین تکثیر سلول‌های روده‌ای را افزایش می‌دهند (Foye, 2005). بنابراین می‌توان گفت که تغذیه جنینی اسیدهای آمینه می‌تواند از طریق این مسیر، رشد پرزهای روده را افزایش دهد (Foye,

منابع

- Abdolalizadeh Alvanegh, F., Ebrahimi, M., Daghigh Kia, H. and Ghochkhani, R. (2016). The effect of in ovo injection with different L-arginine to L-lysine ratios on small intestine growth and immune system in day-old Ross broiler chicks. The Seventh Congress on Animal Science of Iran. [In Persian]
- Al-Murrani, W.K. (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., Cital, 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.
- Arslan, C. (2006). L-carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding a review. *Revue de médecine vétérinaire*, 157(3): 134.
- Asmawat, I., Sonjaya, H., Natsir, A. and Pakiding, W. (2015). Native chicken embryo quality improvement through in ovo feeding. *Asian Journal of Microbiology Biotechnology and Environmental Sciences*, 17: 69-74.
- Baker, D.H. (2009). Advances in protein-Amino acid nutrition of poultry. *Amino Acids*, 37: 29–41.
- Bartell, S.M., and Batal, A.B. (2007). The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poultry Science*, 86(9): 1940-1947.
- Bhanja, S.K. and 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.
- Bhanja, S.K., Baran Mandal, A., Agarwal, S.K. and 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.
- Bouyeh, M. (2012). Effect of Excess Lysine and Methionine on Immune system and Performance of Broilers. *Annals of Biological Research*, 3(7): 3218-3224.
- Calder, P.C. and Yaqoob, P. (1999). Glutamine and the immune system. *Amino Acids*, 17: 227-241.
- Cant, P.J., McBride, B.W. and Croom, Jr.W.J. (1996). The regulation of intestinal metabolism and its impact on whole animal energetics. *Journal of Animal Science*, 74: 2541-2553.
- Cant, P.J., McBride, B.W. and Croom, Jr.W.J. (1996). The regulation of intestinal metabolism and its impact on whole animal energetics. *Journal of Animal Science*, 74: 2541-2553.
- Chen, W., Wang, R., Wan, H.F., Xiong, X.L., Peng, P. and Peng, J. (2009). Influence of in ovo injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. *British Poultry Science*, 50(4): 436-442.
- Coşkun, İ., Erener, G., Şahin, A., Karadavut, U., Altop, A. and Okur, A.A. (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.
- Ebrahimi, M., Zare Shahneh, A., Shivazad, M., Ansari Pirsaraei, Z. and Ghafari Balesini, M. (2016). The effects of dietary L-arginine on some parameters of meat quality, intestine histology and immune system of 46-d old broiler chickens. *Journal of Animal Science Researches*, 26(2): 83-96. [In Persian]
- Ebrahimi, M., Janmohammadi, H., Daghigh Kia, H., Moghaddam, G., Rajabi, Z., Rafat, S.A., *et al.* (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(4-6): 116-124.
- Finkelstein, J.D. (1990). Methionine metabolism in mammals. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1: 228-237.

- Foye, O.T., Ferket, P.R. and Uni, Z. (2007). The effects of in ovo feeding arginine, β -hydroxy- β -methylbutyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. *Poultry Science*, 86(11): 2343-2349.
- Foye, O.T., Ferket, P.R. and Uni, Z. (2005a). The effects of in ovo feeding of arginine and/or beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on glycogen metabolism and growth in turkey poults. *Poultry Science*, 84(Supplement 1): 9.
- Foye, O.T., Ferket, P.R. and Uni, Z. (2005b). The effects of in ovo feeding of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and arginine on jejunal expression and function in turkeys. *Poultry Science*, 84(Supplement 1): 41.
- Foye, O.T. (2005). The biochemical and molecular effects of amniotic nutrient administration, "in ovo feeding" on intestinal development and function and carbohydrate metabolism in turkey embryos and poults. Ph.D. Thesis, North Carolina State University, United States.
- Foye, O.T., Uni, Z. and Ferket, P.R. (2006). Effect of in ovo feeding egg white protein, β -hydroxy- β -methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. *Poultry Science*, 85: 1185-1192.
- 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(01): 53-61.
- Khajali, F. and Widerman, R.F. (2010). Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. *World's Poultry Science Journal*, 66: 751-766.
- Kita, K., Kato, S., Yaman, M.A., Okumura, J. and Yokota, H. (2002). Dietary L-carnitine increases plasma insulin-like growth factor-I concentration in chicks fed a diet with adequate dietary protein level. *British Poultry Science*, 43(1): 117-121.
- Klasing, K.C. (1998). Ontogeny of Digestive Capacity and Strategy. In: *Comparative avian nutrition*. United Kingdom: Cab International, Wallingford, pp: 62-63.
- Labadan, M.C. and Austic, R.E. (2001). Lysine and arginine requirement of broiler chickens at two to three-week intervals to eight weeks of age. *Poultry Science*, 80: 599-606.
- Luo, S. and Levine, R.L. (2009). Methionine in proteins defends against oxidative stress. *FASEB Journal* 23: 464-472.
- Mohammadrezaei, H., Sajadian, M., Nazem, M.N. and Kheirandish, R. (2014). Evaluation the effect of methionine on histomorphometry of small intestine in chick fetus. PhD thesis. University of Shahid Bahonar Kerman. [In Persian]
- Pluske, J.R., Hampson, D.J. and Williams, I.H. (1997). Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig- a review. *Livestock Production Science*, 51: 215-236.
- Poosti, A. and Adibmoradi, M. (2008). *Laboratory Technics in Histology*. 1st ed., University of Tehran Press, Iran: Tehran, pp: 16-22. [In Persian]
- Shafey, T.M., Al-Batshan, H.A., Al-Owaimer, A.N. and Al-Samawei, K.A. (2010). Effects of in ovo administration of L-carnitine on hatchability performance, glycogen status and insulin-like growth factor-1 of broiler chickens. *British Poultry Science*, 51(1): 122-131.
- Shafey, T.M., Al-Batshan, H.A., Al-Owaimer, A.N. and Al-Samawei, K.A. (2010). Effects of in ovo administration of L-carnitine on hatchability performance, glycogen status and insulin-like growth factor-1 of broiler chickens. *British Poultry Science*, 51(1): 122-131.
- Shafey, T.M., Al-Batshan, H.A., Al-Owaimer, A.N. and Al-Samawei, K.A. (2010). Effects of in ovo administration of L-carnitine on hatchability performance, glycogen status and insulin-like growth factor-1 of broiler chickens. *British Poultry Science*, 51(1): 122-131.
- Shen, Y.B., Ferket, P., Park, I., Malheiros, R.D. and Kim, S.W. (2015). Effects of feed grade-methionine on intestinal redox status, intestinal development, and growth performance of young chickens compared with conventional-methionine. *Journal of Animal Science*, 93(6): 2977-2986.

- Tahami, Z., Hoseini, S.M. and Bashtani, M. (2014). The effect of organic acid supplementation on some digestive system characteristics and morphology of small intestine in broiler chickens. *Animal Production Research*, 3(3): 1-10. [In Persian]
- Teshfam, M., Nodeh, H. and Hassanzadeh, M. (2005). Alteration in the intestinal mucosal structure following oral administration triiodothyronine (T3) in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 27: 105-108.
- Tesseraud, S., Maaa, N., Peresson, R. and Chagneau, A.M. (1996). Relative responses of protein turnover in three different skeletal muscles to dietary lysine deficiency in chicks. *British Poultry Science*, 37: 641-650.
- Uni, Z. and Ferket, R.P. (2004). Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60(01): 101-111.
- Uni, Z., Tako, E., Gal-Garber, O. and Sklan, D. (2003). Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Science*, 82(11): 1747-1754.
- Vaezi, G., Teshfam, M., Bahadoran, S., Farazy, H. and Hosseini, S. (2011). Effects of different levels of lysine on small intestinal villous morphology in starter diet of broiler chickens. *Global Veterinaria*, 7(6): 523-526.
- Vazquez-Anon, M., Gonzalez-Esquerra, R., Saleh, E., Hampton, T., Ritcher, S., Firman, J., *et al.* (2006). Evidence for 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid and DL-methionine having different dose responses in growing broilers. *Poultry Science*, 85(8): 1409-1420.
- Xu, G., Kwon, J., Marshall, C.A., Lin, T.A., Lawrence, J.C. and McDaniel, M.L. (1998). Branched-chain amino acids are essential in the regulation of PHAS-I and p70 S6 kinase by pancreatic β -cells. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 28178-28184.

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

Ebrahimi, M.^{1*}, Ghochkhani, R.², Adibmoradi, M.³, Rajabi, Z.⁴

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- MSc. Graduate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3- Professor, Department of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

*Corresponding author's email: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir.

(Received: 2017/4/23 Accepted: 2018/4/29)

Abstract

Early development of small intestine can cause higher growth rate in hatchlings. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of *in ovo* injection of different ratios of DL-methionine to L-lysine on small intestinal histomorphology and immune system organs of day-old Ross 308 broiler chicks. In this experiment, 210 fertile Ross 308 broiler breeder eggs were randomly assigned into 7 experimental groups including 30 individual eggs per group. Treatment groups included: sham control (non-injected), control (1ml distilled water), 40.5, 45.5, 50.5, 55.5, and 60.5% DL-methionine to L-lysine ratios which were injected into the amnion at 14 d of incubation. On day 22, hatched chicks were weighed and slaughtered in order to evaluate the characteristics of small intestine and immune system organs. Based on the results of the present experiment, the effects of *in ovo* injection with different DL-methionine to L-lysine ratios on weight and relative weight of ileum, ileum length, weight and relative weight of small intestine, length and relative length of small intestine were significant ($p < 0.01$) and elevatory. Also, significant effect ($p < 0.05$) of treatments was observed on crypt diameter (except for duodenum), crypt depth, villus height, and villus height to crypt depth ratio in duodenum, jejunum, and ileum. On the other hand, immune system organs were not affected by the treatments. The overall results of the present study showed that *in ovo* injection from 40.5 to 50.5% of DL-methionine to L-lysine ratio improved small intestinal growth and histomorphology in broiler chicks.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Small intestine, *In ovo* injection, Broiler chick, DL-methionine to L-lysine ratio.