Research on Animal Production, Vol. 15, No. 43, Spring 2024 p: 75-85

" Research Paper"

Effects of In ovo Injection of L-carnitine and Betaine on Hatchability, Blood Metabolites Concentration, Carcass Characteristics, Expression of Some Growth Associated Genes and Development of One Day Old Chicks

Fereshteh Shokrani[1], Mohsen Daneshyar[2], Zarbakht Ansari Pirsaraei[3] and Seyed Ali Mirghelenj[4]

1- Ph.D. Student of Poultry Nutrition, Urmia University, Urmia, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Urmia University, Urmia, Iran,
(Corresponding author: daneshyar_mohsen@yahoo.com)
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
4- associate professor, Department of Animal Science, Urmia University, Urmia, Iran
Received: 8 April, 2023 Accepted: 3 December, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Inovo feeding the nutrients into the egg can reduce the limitation of nutrients inside the egg and hence improve the embryo quality and chick growth. Therefore, a lot of attention should be paid to the growth and development of the embryo in order to access the maximum performance after hatch. Furthermore, providing nutrients to the embryo (embryo nutrition) may be used to improve growth performance and also overcome the development limitations in the late embryonic period and early life of the chick. Providing some nutrients during the incubation period can improve the metabolism in chick embryos and have beneficial effects on performance after hatching period. L-carnitine is a dipolar compound which is soluble in water and it’s in ovo injection may have beneficial effects for chickens because of the limited capacity of young chickens to synthesize L-carnitine. Betaine is a derivative of amino acids (Trimethylglycine) and is classified as a methyl group donor and its beneficial effects on performance of the different birds have been reported in many studies. Therefore, this study was carried out to investigate the effects of inovo feeding of L-carnitine and betaine alone or together on hatchability, carcass traits (drumstick, breast, liver and egg yolk), blood indices (cholesterol, triglycerides and total protein) and expression of some growth associated genes (liver IGF-1 and muscle MyoD and MyF5) and development in chicks.

Material and Methods: A total of 630 fertile eggs (Ross 308 strain form 34-wk-old breeder flock) were assigned randomly to six treatments with five replicates and 21 eggs per replicate. The mean weight of the eggs was 56.64 ± 1.18. Treatments included control group (non-injected), dry punch, physiological saline injection (100 µL), in ovo injection of L-carnitine (8 mg), in ovo injection of betaine (2.5 mg) and in ovo injection of both L-carnitine and betaine (8 mg L-carnitine + 2.5 mg betaine). Treatment solutions were injected into the amniotic sac on day 14 of incubation. 100 µL of injection solution was injected with an insulin syringe in the upper third of the egg with an injection depth of 19 mm. During the injection, the temperature of the injection solution was 30°C and environment temperature was 35°C which was performed in 15 minutes for each treatment. After the injection, the injection site was blocked. The eggs were placed in the incubator (37.5 C and 61% humidity). Infertile eggs and the eggs with a dead embryo were also transferred to the laboratory for examination of embryonic mortality. After hatching, the chicks were weighed with a digital scale and an accuracy of 0.01 g and the weight after hatch was determined. Then, two chicks per each replicate were selected and slaughtered to study the carcass traits (drumstick, breast, liver and egg yolk). Blood was taken from neck to determine the blood parameters (cholesterol, triglycerides and total protein). Then the liver and breast muscle of the slaughtered one day old chicks were taken to determine the relative genes expression. Relative gene expressions were measured by Real-Time PCR using gene specific primers. The data obtained from the gene expression were analyzed by the Livak method. The remaining chickens were reared for seven days and weight gain, feed consumption and feed conversion ratio were determined. Data were analyzed using the general Linear Model procedures of SAS 9.1.

Results: The results of this study showed that in ovo injection of 8 mg L-carnitine decreased the mortality and increased the hatchability ($P<0.05$). Injection of 2.5 mg betaine increased the mortality of embryos during the final stage of incubation and decreased the percentage of hatched chicks ($P<0.05$). Injection of L-carnitine and betaine alone and in combination decreased the blood triglyceride and cholesterol concentration in serum ($P<0.05$), while it had no effect on total protein concentration in blood ($P>0.05$). In ovo injection of L-carnitine and betaine alone or in combination increased the percentage of breast and thigh newly hatched chicks ($P<0.05$). Injection of L-carnitine and betaine had no effect on the weights of yolk sac and liver ($P>0.05$). Injection of L-carnitine and betaine and their combination had no effect on the functional characteristics of chickens at 7 days of age ($P>0.05$). Furthermore, L-carnitine and betaine alone or in combination increased the relative expression of IGF-1 gene in liver and MyoD and MyF5 genes in breast muscle of hatched chicks ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this research showed that L-carnitine may reduce the mortality of embryos in the incubation stage by reducing oxidative stress and thus increases the hatching rate.
Totally, the results of current experiment indicated that in ovo injection of L-carnitine and betaine can stimulate the secretion of IGF-1 and consequently increase the expression of muscle regulatory genes (MyoD, MyF5) and hence improved the proliferation and maturation of satellite cells in the embryonic stage. Therefore, L-carnitine and betaine can be recognized as a positive stimulus of IGF-1 signaling pathway in order to stimulate muscle growth and chicken growth.

Keywords: Betaine, In ovo injection, Insulin like growth factors, L-carnitine, Myogenic regulator factors

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
OPEN ACCESS
CC BY NC

"مقاله پژوهشی"

تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری، غلظت متابولیت‌های خون، ویژگی‌های لاشه و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با رشد و نمو در جوجه‌های گوشتی یک روزه

فرشته شکرانی[۱]، محسن دانشیار[۲]، زربخت انصاری پیرسرائی[۳] و سید علی میرقلنج[۴]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور، دانشگاه ارومیه
۲- استاد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: daneshyar_mohsen@yahoo.com)
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۲
صفحه: ۷۵ تا ۸۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تغذیه مواد مغذی به داخل تخم‌مرغ می‌تواند محدودیت مواد مغذی موجود در تخم‌مرغ را کاهش دهد و به بهبود کیفیت رشد جنین و جوجه کمک نماید. بنابراین جهت دستیابی به حداکثر عملکرد پس از تفریخ، بایستی توجه زیادی بر رشد و نمو جنین صورت گیرد. همچنین، تامین مواد مغذی برای جنین (تغذیه جنینی) در اواخر دوره جنینی و اوایل زندگی جوجه می‌تواند به‌منظور برطرف کردن محدودیت‌های رشد و نمو مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از برخی مواد مغذی طی دوره انکوباسیون می‌تواند باعث بهبود سوخت و ساز در جنین شده و اثرات مفیدی بر عملکرد بعد از تفریخ داشته باشد. ال-کارنیتین ترکیبی دوقطبی محلول در آب است و به‌دلیل ظرفیت محدود جوجه‌های جوان برای سنتز ال-کارنیتین، افزودن این ماده می‌تواند اثرات سودمندی برای جوجه داشته باشد. بتائین از مشتقات اسیدهای آمینه (تری متیل گلایسین) است و به‌عنوان دهنده گروه متیل عمل می‌کند. این تحقیق به‌منظور بررسی تاثیر تغذیه جنینی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری، شاخص رشد و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با رشد و نمو در جوجه‌های گوشتی یک روزه انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این تحقیق تعداد۶۳۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد راس سویه ۳۰۸ (سن مرغ‌های مادر ۳۴ هفته) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۵ تکرار و تعداد ۲۱ عدد تخم‌مرغ در هر تکرار استفاده شد. میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها برابر ۱/۱۸± ۵۶/۶۴ بوده است. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون تزریق)، تزریق خشک (سوراخ کردن تخم‌مرغ)، تزریق سرم فیزیولوژی (۱۰۰ میکرولیتر)، تزریق درون تخم مرغی ال-کارنیتین (۸ میلی‌گرم)، تزریق درون تخم مرغی بتائین (۲/۵ میلی‌گرم) و تزریق درون تخم مرغی ال-کارنیتین و بتائین (۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین و ۲/۵ میلی‌گرم بتائین) بودند. تزریق در روز ۱۴ دوره جوجه‌کشی درون کیسه آمنیوتیک انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر محلول تزریق به‌وسیله سرنگ انسولین با زاویه ۴۵ درجه در یک سوم بالای تخم‌مرغ با عمق تزریق ۱۹ میلی‌متر تزریق گردید. دمای محلول تزریقی هنگام تزریق ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه برای هر تیمار انجام شد. بعد از تزریق محل تزریق با استفاده از چسب مسدود شد. تخم‌مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی (با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۱ درصد) قرار داده شدند. بعد از تفریخ، جوجه‌ها وزن‌کشی شدند. همچنین تخم مرغ‌های نابارور و تخم مرغ‌های با جنین مرده برای بررسی گامه‌های مرگ و میر جنینی به آزمایشگاه منتقل و شکسته شدند. جوجه‌ها پس از تفریخ، با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند و وزن پس از تولد تعیین شد. سپس دو جوجه از هر تکرار برای بررسی خصوصیات لاشه (ران، سینه، جگر و کیسه زرده) انتخاب و کشتار شدند. خون‌گیری از سیاهرگ گردن برای اندازه‌گیری برخی از فراسنجه‌های خونی (کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل) انجام شد. برای بررسی بیان نسبی ژن‌ها، نمونه بافت جگر و ماهیچه سینه از جوجه یک روزه جدا شد. بیان نسبی ژن‌ها به‌وسیله واکنش Real-Time PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌های به‌دست آمده از بیان ژن با روش لیواک واکاوی اولیه شد. جوجه‌های باقیمانده به‌مدت هفت روز پرورش داده شدند و افزایش وزن، مصرف خوراک اندازه‌گیری و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. واکاوی داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد که تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین باعث کاهش تلفات و افزایش جوجه درآوری گردید (P<۰/۰۵). تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین باعث افزایش مرگ و میر جنین در گامه پایانی و کاهش درصد جوجه درآوری گردید (P<۰/۰۵). تزریق ال-کارنیتین و بتائین به‌تنهایی و با هم تاثیری بر وزن جوجه‌ها در هنگام تفریخ نداشت (P>۰/۰۵). تزریق ال-کارنیتین به‌همراه بتائین باعث کاهش غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون شد (P<۰/۰۵)، درحالیکه تاثیری بر غلظت پروتئین کل در سرم خون نداشت (P>۰/۰۵). تزریق ال-کارنیتین و بتائین به تنهایی و یا ترکیب ال-کارنیتین و بتائین باعث افزایش درصد سینه و ران در جوجه یک‌روزه گردید (P<۰/۰۵)، درحالیکه تزریق ال-کارنیتین و بتائین تاثیری بر وزن کیسه زرده و جگر نداشت (P>۰/۰۵). تزریق ال-کارنیتین و بتائین و ترکیب با هم تاثیری بر ویژگی‌های عملکردی جوجه‌ها در هفت روزگی نداشت (P>۰/۰۵). علاوه‌براین، تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین به‌تنهایی و ترکیب با هم باعث افزایش بیان نسبی ژن IGF-1 در بافت جگر و ژن‌های MyoD و MyF5 در ماهیچه سینه شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری کلی: نتایج پژوهش نشان داد که تزریق ال-کارنیتین با کاهش تنش اکسیداتیو ممکن است مرگ‌و میر جنین در مرحله جوجه‌درآوری را پایین آورده و در نتیجه نرخ جوجه‌درآوری را بهبود می‌دهد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که تزریق ال-کارنیتین و بتائین با افزایش بیان ژن IGF-1، می‌تواند ترشح IGF-1 را تحریک کرده و در نتیجه بیان برخی از ژن‌های تنظیمی ماهیچه (MyoD, MyF5) را افزایش داده و در پی آن تکثیر و بلوغ سلول‌های ماهواره‌ای را در مرحله جنینی بهبود دهد. بنابراین می‌توان ال-کارنیتین وبتائین را برای فعال‌سازی مسیر سیگنالی IGF-1 جهت تحریک رشد ماهیچه و رشد جوجه‌های گوشتی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ال-کارنیتین، بتائین، تزریق درون تخم‌مرغی، فاکتور رشد شبه انسولینی، فاکتورهای تنظیمی ماهیچه

مقدمه

تزریق درون تخم‌مرغی با موادمغذی طبیعی، مانند اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، محرک‌ها و هورمون‌ها می‌تواند رشد و توسعه جنین را بهبود بخشد و جوجه‌ها را برای رشد سریع آماده سازد (Rezaeian *et al.*, 2022). تزریق مواد مغذی به درون تخم‌مرغ وضعیت فیزیولوژیکی جنین جوجه‌ها را قبل و بعد از هچ تحت تاثیر قرار می‌دهد. تزریق مناسب نه‌تنها هچ را در جوجه‌ها بهبود می‌بخشد، بلکه وضعیت تغذیه‌ای را نیز بهبود داده و منجر به رشد بیشتر در جوجه‌ها شد (Ebrahimi *et al.*, 2017). عوامل متعددی از جمله باروری تخم، مواد مغذی تخم، شرایط دستگاه جوجه‌کشی و مدیریت هچری بر قابلیت جوجه‌درآوری موثر

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

است (Araújo *et al.*, 2016). قسمتی از فرآیند رشد به‌وسیله رشد ماهیچه است. رشد ماهیچه از دوران رویانی و جنینی شروع می‌شود اما همه فیبرهای ماهیچه‌ای در یک زمان طی دوره رویانی و جنینی شکل نمی‌گیرند. نخستین مرحله تشکیل فیبرهای ماهیچه‌ای دوره جنینی است که اطراف آن‌را سلول‌های مایوژنیک تک‌هسته‌ای احاطه می‌کنند. بعدها این سلول‌ها به فیبرهای ثانویه تبدیل می‌شوند (Velleman, 2007). جایگاه این فیبرها براساس جایگاه فیبرهای اولیه است. سپس سارکومر، باند Z و قابلیت انقباض باعث بالغ شدن فیبرهای ماهیچه‌ای می‌شوند. یکی از این فاکتورهای رونویسی MRF[1]ها است که در برگیرنده‌ی MyoD، MyF-5، مایوژنین و MRF-4 است. وظیفه MyoD و MyF-5 اختصاصی شدن، شکل‌گیری و نگه‌داری مایوبلاست‌ها است (Parker *et al.*, 2003). مطالعات نشان داده‌اند که بیان MyoD بیان ژن میوژنین را بهبود داده و تمایز نهایی سلول‌های عضله اسکلتی را تحریک می‌کند. میوژنین همچنین در تمایز سلول‌های ماهواره‌ای درگیر است و به‌عنوان شاخص در توسعه داخل سلولی عضله مفید می‌باشد (Moradi *et al.*, 2021). افزون بر فاکتورهای تنظیمی ماهیچه، چندین فاکتور رشد نیز میانجی‌گر رشد هستند که از این میان فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF-1) بر رشد همه‌ی بدن تاثیر دارند. ثابت شده است که تمایز و هایپرتروفی میوبلاست از مسیر سیگنالی IGF-1، بواسطه مکانیسم هدف راپامایسین (mTOR)، تنظیم می‌شود (Rommel *et al.*, 2001). تنها این فاکتور است که نقش تحریکی بر هر دوی تکثیر و تمایز ماهیچه دارد (Abouzed *et al.*, 2019). این فاکتورها از طریق میانجی‌گری MRFها و فعالیت IGF-1R تکثیر و تمایز را تحریک می‌کنند. مشخص شده است که افزایش رشد ایجادشده به‌وسیله‌ی تغذیه‌ی جنینی، موجب افزایش وزن در زمان تولد به‌میزان ۴-۲ درصد شده و این افزایش وزن تا هفته‌ی اول ادامه یافته است. از سوی دیگر، با توجه به اینکه تار ماهیچه‌های جوجه‌ها در زمان پیش از خروج از تخم شکل می‌گیرند و رشد ماهیچه‌ای پس از خروج از تخم وابسته به افزایش حجم یاخته‌های ماهیچه‌ای است (Shafey *et al.*, 2010)، بنابراین راهبرد تغذیه‌ای برای رشد جوجه‌ها نباید تنها به بهبود رشد پس از خروج جوجه‌ها از تخم محدود شود و بایستی با بکار بردن راهکارهای مناسب، زمینه‌ی افزایش رشد ماهیچه را در مراحل جنینی، با بهبود تغذیه‌ی جنینی پایه‌ریزی کرد. ال-کارنیتین ترکیبی شبه‌ویتامین است که به‌آسانی در آب حل می‌شود و دارای اثرات متنوعی از قبیل محافظت و تنظیم غشاهای سلولی، افزایش ایمنی، نقش متابولیکی و همچنین نقش کاتالیتیکی می‌باشد (Keralapurath *et al.*, 2010b). تحقیقات اخیر نشان داده است که نیاز به ال-کارنیتین در بعضی از شرایط از جمله محدود بودن سنتز ال-کارنیتین در حیوانات جوان، مصرف جیره‌هایی با چربی بالا و مقدار ال-کارنیتین کم، افزایش می‌یابد. بنابراین افزودن آن به‌صورت مکمل به خوراک طیور سریع‌الرشد می‌تواند موثر باشد (Arslan, 2006). از سویی دیگر با توجه به رشد سریع در اواخر دوره جنینی و نیاز به انرژی و محدود بودن سنتز ال-کارنیتین در بدن، استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ای موثر بر متابولیسم انرژی ممکن است در دوره جنینی نیازهای انرژی را تامین نماید (Xu *et al.*, 2003). گزارش شده است که تزریق ال-کارنیتین بر تقسیم میونکلئوس (فیبرهای عضلانی اسکلتی) در طول میوژنز جنینی اثر دارد (Abd El-Azeem *et al.*, 2014). بتائین، مشتق تری متیل اسیدآمینه گلایسین، شامل سه گروه فعال واکنش‌پذیر متیل است که در سنتز موادی مانند متیونین، کارنیتین و کراتین نقش دارد (Eklund *et al.*, 2005). بتائین بعد از دمتیلاسیون به اسیدآمینه گلایسین تبدیل می‌شود و در نقش گلایسین فعالیت می‌کند. بواسطه‌ی دهندگی گروه متیل و فعالیت اسیدآمینه‌ای آن، بتائین در متابولیسم انرژی و پروتئین شرکت می‌کند. در پرورش حیوانات، اثرات مثبت بتائین بر عملکرد رشد، بویژه افزایش بازده گوشت شناخته شده است (Zhai *et al.*, 2008). گزارش شده است که بتائین رشد ماهیچه را از طریق بیان ژن‌های میوژنیک و مسیر سیگنالی IGF-1 در جوجه‌های گوشتی بهبود می‌بخشد (Chen *et al.*, 2018). در مطالعه‌ی برون‌تنی، سنسی و همکاران (Senesi *et al.*, 2013) دریافتند که بتائین می‌تواند تغییرات مورفولوژیکی و فرآیند هایپرتروفی در نئومیوتوب‌ها را با افزایش MyoD، MyF5 و سطوح پروتئین MyoG تحریک کند. همچنین بتائین می‌تواند تمایز فیبر ماهیچه اسکلتی را تحریک کند و اندازه میوتوب‌ها را با فعال کردن مسیر IGF-1 افزایش دهد، همین‌طور پروتئین کیناز B و فسفریلاسیون S6K1 به‌منظور تحریک سنتز پروتئین را افزایش دهد (Apicella *et al.*, 2013)، به این معنی که بتائین ممکن است رشد ماهیچه را بوسیله مسیر سیگنالی IGF-1 بهبود بخشد.

بنابراین بخشی از رشد ماهیچه در دوران جنینی است که فاکتورهای تنظیمی و فاکتورهای رشد بر آن تاثیر دارند. تغذیه در دوران جنینی اهمیت ویژه‌ای دارد به‌طوری‌که عدم توجه به آن باعث تاخیر و کاهش رشد می‌شود. لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری و بیان ژن‌های مرتبط با رشد و نمو جوجه گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی تاثیر تغذیه جنینی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری و شاخص رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد و نمو در جوجه‌های گوشتی در شرکت جوجه‌کشی شرکت هما واقع در ساری انجام شد. برای انجام این تحقیق ۶۳۰ عدد تخم مرغ نطفه‌دار نژاد راس سویه ۳۰۸ (سن مرغ‌های مادر ۳۴ هفته) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۵ تکرار و تعداد ۲۱ عدد تخم‌مرغ در هر تکرار استفاده شد. میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها برابر ۱/۱۸ ± ۵۶/۶۴ بوده است و تفاوتی بین وزن اولیه تخم‌مرغ‌های مورد استفاده وجود نداشت. تخم‌مرغ‌ها شماره‌گذاری و وزن اولیه آنها ثبت شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون تزریق)، تزریق خشک (سوراخ کردن تخم‌مرغ)، تزریق سرم فیزیولوژی (۱۰۰ میکرولیتر)، تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین (۸ میلی‌گرم)، تزریق درون تخم‌مرغی بتائین (۲/۵ میلی‌گرم) و تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین (۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین و ۲/۵ میلی‌گرم بتائین) بود. ال-کارنیتین با شماره کاتالوگ ۸۴۰۰۹۲ از شرکت

1- Myogenic Regulatory Factors

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

مرک آلمان و بتائین با شماره ۱۰۷-۴۳-۷ و خلوص ۹۸ درصد از شرکت سیگماآلدریچ تهیه شد. تخم‌مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی کاملا تمیز و ضدعفونی شده و در دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در روز ۱۴ جنینی، با رعایت اصول تزریق، تزریق در مایع آمنیوتیک انجام شد (Ebrahimi *et al.*, 2017). در هنگام تزریق دمای محلول تزریقی ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه برای هر تیمار انجام شد. قبل از انجام تزریق محل موردنظر با الکل ضدعفونی شد. در هنگام تزریق به درون تخم‌مرغ، در آغاز تخم‌مرغ‌ها با استفاده از نوربینی بررسی شدند. تخم‌مرغ‌های فاقد نطفه یا جنین مرده حذف شدند و محدوده کیسه هوایی در تخم‌مرغ‌های سالم مشخص شد. ۱۰۰ میکرولیتر محلول تزریق به‌وسیله سرنگ انسولین با زاویه ۴۵ درجه در یک سوم بالای تخم‌مرغ با عمق تزریق ۱۹ میلی‌متر تزریق گردید. جهت استریل کردن محلول تزریق از نور UV استفاده شد. بعد از تزریق محل تزریق با استفاده از چسب مسدود شد. در روز ۱۹ تخم‌مرغ‌ها به سبدهای هچری انتقال داده شدند. سبدهای هچری براساس تیمارها و تکرارها توری بندی شدند به‌طوری‌که از هر تیمار در هر سبد وجود داشت. جوجه‌ها پس از تفریخ، با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند و وزن پس از تولد تعیین شد. درصد جوجه درآوری از طریق تقسیم تعداد جوجه‌های تفریخ شده به تعداد تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار و ضرب عدد حاصله در ۱۰۰ محاسبه شد. در روز تولد، از هر تکرار دو جوجه کشتار شد و از گردن خونگیری شدند و سرم خون آن‌ها با استفاده از سانتریفیوژ در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه جداسازی و سرم تا زمان اندازه‌گیری غلظت متابولیت‌های خون (کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. وزن اجزای لاشه با ترازوی با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد و وزن نسبی اندام‌ها به وزن زنده جوجه یک روزه گزارش شد. آنالیز پارامترهای خون با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون (ایران، تهران) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Bs-120 انجام شد. باقیمانده جوجه‌ها به سالن پرورش منتقل و به‌مدت هفت روز پرورش داده شدند. برای تنظیم جیره‌ها از نرم‌افزار UFFDA استفاده گردید. ترکیب جیره‌های آزمایشی و مواد مغذی مورد نیاز در جدول ۱ ارائه شده است. در طی دوره پرورش شاخص‌های مصرف خوراک، افزایش وزن اندازه‌گیری شد و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌ها (برحسب درصد)

Table 1. Ingredients (%) and chemical composition of diets

ماده خوراکی (٪) Feedstuff (%)	جیره آغازین (۱-۱۱ روزگی) Starter diet (1-11 days)
ذرت Corn	55.24
کنجاله سویا Soybean meal	39.28
روغن سویا Soyebean oil	1.3
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.55
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.18
مکمل ویتامینی Vitamin supplemen	0.25
مکمل معدنی Mineral supplemen	0.25
دی ال متیونین DL- methionine	0.32
لیزین Lysine	0.24
ترئونین Threonine	0.1
کلرید سدیم NaCl	0.29
جمع کل Total	100
ترکیب شیمیایی جیره chemical composition of diets	
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم) Metabolisable energy (MJ/kg)	11.92
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	21.8
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.9
فسفر قابل دسترس (درصد) Available Phosphorus (%)	0.45

هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: IU ۳۵۰۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۱۰۰۰۰۰۰ ویتامین D3، IU ۹۰۰۰ ویتامین E، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۹۰۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B9، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین H2، ۳۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B6، ۷/۵ میلی‌گرم ویتامین B12، ۲۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود.

هر کیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

Each kilogram of vitamin supplement contains: IU 3500000 vitamin A, IU 1000000 vitamin D3, IU 9000 vitamin E, 1000 mg vitamin K3, 900 mg vitamin B1, 500 mg vitamin B9, 100 mg vitamin H2, 3300 mg vitamin B2, 5000 mg Vitamin B3, 1500 mg Vitamin B5, 1500 mg Vitamin B6, 7.5 mg Vitamin B12, 250,000 mg was Choline Chloride.

Each kilogram of the mineral supplement contained: 50,000 mg of manganese, 25,000 mg of iron, 50,000 mg of zinc, 5,000 mg of copper, 500 mg of iodine, and 100 mg of selenium.

برای استخراج RNA قطعه کوچکی از بافت کبد و سینه جوجه یک روزه جدا شد و به‌سرعت درون تانک ازت انتقال داده شد. استخراج RNA از ۱۰۰ میلی‌گرم بافت کبد و سینه طبق راهنمای دستور کار کیت استخراج شرکت سیناکلون صورت گرفت. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) ارزیابی شد. برای سنتز cDNA از مسترمیکس شرکت یکتا تجهیز استفاده شد. cDNA سنتز شده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین کیفیت cDNA با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. برای بررسی بیان ژن هدف و مرجع از آغازگرهای اختصاصی استفاده شد که ویژگی‌های آنها در جدول ۲ آمده است. در روش تعیین کمی بیان ژن تصحیح تغییر آزمایشی ضروری است. برای این منظور، از یک ژن کنترل داخلی، GAPDH استفاده شد. برای سنجش بیان ژن به‌روش RT-PCR، کیت شرکت یکتا تجهیز مورد استفاده قرار گرفت. برنامه دمایی استفاده شده در واکنش Real Time

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]

[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

PCR (Rotor Gene 6000 Series Software 1.7) شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه، مرحله باز شدن رشته‌ها دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و ۴۵ بار تکرار، و مرحله چسبیدن آغازگرها و تکثیر دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۶۰ ثانیه، بوده است. در پایان مقایسه بیان ژن با استفاده از برنامه REST و بر پایه میزان CT (شمار چرخه مورد نیاز برای رسیدن به یک سطح آستانه) به‌دست آمده توسط Real Time PCR نسبت به گروه شاهد (کنترل) انجام شد. داده‌های به‌دست آمده با روش لیواک واکاوی اولیه شد (Livak and Schmittgen, 2001). داده‌های به‌دست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و پنج تکرار، با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شدند (SAS, 2007). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

جدول ۲- ویژگی آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش

Table 2. Characteristics of primers used in this research

ژن Gene	اندازه باند (bp) Product size (bp)	توالی آغازگر ('۳_'۵) Primer sequence	شماره ثبت‌شده در بانک ژن Gene Bank Accession No
IGF 1	191	F: CATTTCTTCTACCTTGGC R: TCATCCACTATTCCCTTG	M32791
MyoD	156	F: CCGCCGATGACTTCTATG R: GCTCCTCCTCTGTGGGTT	NM_204,214
MyF5	106	F: CTTCGAGGCGGGCTACTG R: ACCACTGGAACCAGGAAGT	NM_0010,30,363
GAPDH	182	F: TGAAAGTCGGAGTCAACGGAT R:ACGCTCCTGGAAGATAGTGAT	K01458

نتایج و بحث

تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ ارائه شده است. تزریق خشک و سالین به تخم‌های بارور باعث کاهش جوجه‌درآوری و افزایش تلفات گردید (P<۰/۰۵) اما تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین باعث کاهش تلفات و افزایش جوجه‌درآوری گردید. تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی یا همراه با ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین نه‌تنها تاثیری بر بهبود جوجه درآوری نداشت بلکه باعث کاهش جوجه درآوری و افزایش تلفات در تخم‌های بارور گردید (P<۰/۰۵).

جدول ۴ میانگین وزن اولیه تخم‌مرغ و میانگین وزن جوجه تفریخ شده را نشان می‌دهد. در این پژوهش، تزریق خشک و سالین تاثیری بر وزن جوجه‌ها در هنگام تفریخ نداشت، همچنین تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین و ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به تنهایی یا ترکیب هر دو تاثیری بر وزن جوجه‌ها در هنگام تفریخ نداشت. تزریق خشک و سالین و تزریق ۸ میلی‌گرم ال—کارنیتین و ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی یا ترکیب هردو تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در طی هفته اول پرورش نداشت (جدول ۵). جدول ۶ تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های گوشتی در یک‌روزگی را نشان می‌دهد. تزریق خشک و سالین به تخم‌های بارور تاثیری بر غلظت تری‌گلیسیرید و کلسترول نداشت اما تزریق ال-کارنیتین و بتائین به‌تنهایی یا با هم باعث کاهش غلظت تری‌گلیسیرید و کلسترول در سرم خون جوجه‌ها گردید (P<۰/۰۵).

تزریق ال-کارنیتین و بتائین به تنهایی و با هم به تخم‌های بارور تاثیری بر غلظت پروتئین کل در سرم جوجه‌ها نداشت. تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در یک‌روزگی در جدول ۷ ارائه شده است. تزریق ال-کارنیتین و بتائین به تخم‌های بارور تاثیری بر درصد کیسه زرده نداشت. تزریق خشک و سالین به تخم‌مرغ تاثیری بر درصد سینه نداشت اما تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین موجب افزایش درصد سینه در جوجه‌های یک‌روزه گردید (P<۰/۰۵). همچنین تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی و یا ترکیب ال-کارنیتین و بتائین باعث افزایش درصد سینه گردید (P<۰/۰۵). علاوه‌براین، تزریق خشک و سالین به تخم‌مرغ تاثیری بر درصد ران نداشت اما تزریق ال-کارنیتین موجب افزایش درصد ران در جوجه‌های یک‌روزه گردید (P<۰/۰۵). همچنین تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی و یا ترکیب ال-کارنیتین و بتائین باهم باعث افزایش درصد ران گردید (P<۰/۰۵).

شکل ۱ تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر بیان ژن در بافت کبد و ماهیچه سینه در جوجه یک‌روزه را نشان می‌دهد. در پژوهش کنونی، تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین و ۲/۵ میلی‌گرم بتائین سبب افزایش بیان نسبی ژن‌های IGF-1، MyoD و MyF5 در بافت کبد و ماهیچه سینه شده است (P<۰/۰۵). تزریق خشک و سالین به تخم‌مرغ تاثیری بر بیان ژن IGF-1 نداشت اما تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین باعث افزایش بیان‌نسبی ژن IGF-1 در کبد گردید (P<۰/۰۵). علاوه‌براین، تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی و ترکیب با هم باعث افزایش بیان نسبی ژن IGF-1 در کبد گردید (P<۰/۰۵). تزریق خشک و سالین به تخم‌های بارور تاثیری بر بیان ژن MyF5 نداشت اما تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین باعث افزایش بیان نسبی ژن MyF5 در ماهیچه سینه گردید (P<۰/۰۵). همچنین تزریق ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به تنهایی و ترکیب با هم باعث افزایش بیان نسبی ژن MyF5 در ماهیچه سینه گردید (P<۰/۰۵). تزریق خشک و سالین به تخم‌مرغ‌های بارور تاثیری بر بیان ژن MyoD در ماهیچه سینه نداشت درحالیکه تزریق ۸ میلی‌گرم ال-کارنیتین باعث افزایش بیان نسبی ژن MyoD در ماهیچه‌ی سینه گردید (P<۰/۰۵) همچنین ۲/۵ میلی‌گرم بتائین به‌تنهایی و ترکیب با هم باعث افزایش بیان نسبی ژن MyoD در ماهیچه سینه گردید (P< ۰/۰۵) (شکل ۱).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

جدول ۳- تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر قابلیت جوجه درآوری (درصد) و مرگ و میر جنین در جوجه گوشتی
Table 3. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on hatchability (%) and fetal death in broiler chickens

تیمار Treatment	جوجه درآوری از تخم مرغ ستری Hatching from setter egg	جوجه درآوری از تخم مرغ بارور Hatching from fertilized egg	مرگ و میر جنینی در گامه پایانی Fetal death in the final stage
بدون تزریق Non injected control	85.71[b]	90.94[b]	9.05[d]
تزریق خشک Dry punch	85.71[b]	87.42[c]	12.57[c]
تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سالین Injected 100 µl Salin	84.76[b]	84.76[d]	15.23 [b]
تزریق ۸ میلی‌گرم ال_کارنیتین Injected 8 mg L-Carnitin	95.23[a]	95.23[a]	4.76[e]
تزریق۲/۵ میلی‌گرم بتائین Injected 2.5 mg betaine	80.95[c]	80.00[e]	20.00[a]
تزریق ۸ میلی گرم ال کارنیتین+ ۲/۵ میلی گرم بتائین Injected 8 mg L-Carnitine+2.5 mg betaine	80.95[c]	81.71[e]	18.28[a]
خطای استاندارد میانگین SEM	0.8247	0.8988	0.8988
خطای احتمال P-value	<0.0001	<0.0001	<0.0001

a و b: حروف غیر همسان در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).
a-b: Means within each column with different superscripts are significantly different (P < 0.05)

جدول ۴- تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر وزن جوجه بعد تفریخ در جوجه گوشتی
Table 4. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on post-hatch weight in broiler chickens

تیمار Treatment	وزن جوجه تفریخ شده (گرم) Chick weight (gr)	وزن اولیه تخم مرغ (گرم) Egg weight (gr)
بدون تزریق Non injected control	40.27	57.34
تزریق خشک Dry punch	40.16	56.62
تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سالین Injected 100 µl Salin	40.45	56.62
تزریق ۸ میلی‌گرم ال_کارنیتین Injected 8 mg L-Carnitin	40.80	56.70
تزریق۲/۵ میلی‌گرم بتائین Injected 2.5 mg betaine	41.44	56.65
تزریق ۸ میلی گرم ال کارنیتین+ ۲/۵ میلی گرم بتائین Injected 8 mg L-Carnitine+2.5 mg betaine	40.33	57.00
خطای استاندارد میانگین SEM	0.4033	0.3366
خطای احتمال P-value	0.2000	0.3764

a و b: حروف غیر همسان در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).
a-b: Means within each column with different superscripts are significantly different (P< 0.05)

جدول ۵- تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر پارامترهای عملکردی در ۷ روزگی در جوجه گوشتی
Table 5. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on performance parameters of 7 days in broiler chickens

تیمار Treatment	مصرف خوراک (پرنده/ روز/ گرم) Feed intake (bird/day/gr)	افزایش وزن (پرنده/ روز/ گرم) Weight gain (bird/day/gr)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio (gr/gr)
بدون تزریق Non injected control	19.62	14.32	1.32
تزریق خشک Dry punch	19.54	14.55	1.34
تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سالین Injected 100 µl Salin	19.65	14.73	1.33
تزریق ۸ میلی‌گرم ال_کارنیتین Injected 8 mg L-Carnitin	19.79	14.92	1.32
تزریق۲/۵ میلی‌گرم بتائین Injected 2.5 mg betaine	19.66	15.09	1.30
تزریق ۸ میلی گرم ال کارنیتین+ ۲/۵ میلی گرم بتائین Injected 8 mg L-Carnitine+2.5 mg betaine	19.52	14.78	1.32
خطای استاندارد میانگین SEM	0.1577	0.3066	0.0267
خطای احتمال P-value	0.9169	0.5865	0.6214

a و b: حروف غیر همسان در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).
a-b: Means within each column with different superscripts are significantly different (P< 0.05)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

جدول۶- تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های گوشتی یک‌روزه

Table 6. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on biochemical blood parameters in broiler chickens

تیمار Treatment	تری گلیسیرید (میلی گرم/ دسی لیتر) Triglyceride (mg/dl)	کلسترول (میلی‌گرم/ دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	پروتئین کل (گرم/ دسی لیتر) Total protein) g/dl(
بدون تزریق Non injected control	66.40[a]	258.00[a]	2.28
تزریق خشک Dry punch	55.00[a]	244.20[a]	2.28
تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سالین Injected 100 µl Salin	58.80[a]	234.00[a]	2.42
تزریق ۸ میلی‌گرم ال_کارنیتین Injected 8 mg L-Carnitin	61.00[a]	190.60[b]	1.96
تزریق۲.۵ میلی‌گرم بتائین Injected 2.5 mg betaine	65.00[a]	186.00[b]	1.98
تزریق ۸ میلی گرم ال کارنیتین+ ۲/۵ میلی گرم بتائین Injected 8 mg L-Carnitine+2.5 mg betaine	40.80[b]	140.00[c]	1.98
خطای استاندارد میانگین SEM	3.7600	14.7450	0.1749
خطای احتمال P-value	0.0009	<0.0001	0.2926

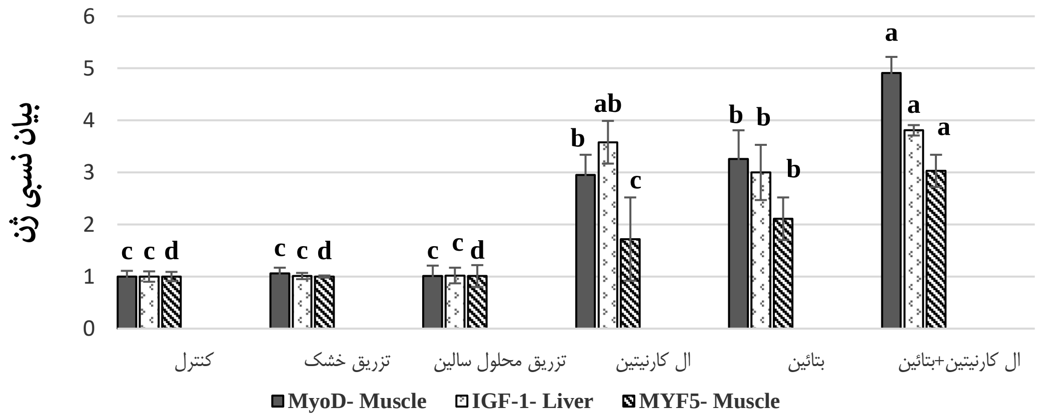
a و b: حروف غیر همسان در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).
a-b: Means within each column with different superscripts are significantly different (P< 0.05)

جدول ۷- تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر وزن اندام‌های داخلی و ویژگی‌های لاشه (درصد وزن زنده) جوجه‌های گوشتی یک‌روزه

Table 7. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on carcass traits in broiler chickens

تیمار Treatment	وزن بدن هنگام تولد (گرم) Hatching body weight (gr)	کیسه زرده (درصد از وزن بدن) Yolk sac (%)	جگر (درصد از وزن بدن) Liver (%)	ران (درصد از وزن بدن) Thigh (%)	سینه (درصد از وزن بدن) Breast (%)
بدون تزریق Non injected control	40.57	9.04	2.62	8.59[c]	1.78[b]
تزریق خشک Dry punch	40.22	8.78	2.42	8.74[c]	1.79[b]
تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سالین Injected 100 µl Salin	40.53	9.01	2.32	8.86[bc]	1.78[b]
تزریق ۸ میلی‌گرم ال_کارنیتین Injected 8 mg L-Carnitin	40.62	7.10	2.57	9.36[ab]	2.03[a]
تزریق۲/۵ میلی‌گرم بتائین Injected 2.5 mg betaine	40.65	6.74	2.60	9.46[a]	1.95[a]
تزریق ۸ میلی گرم ال کارنیتین+ ۲/۵ میلی‌گرم بتائین Injected 8 mg L-Carnitine+2.5 mg betaine	40.62	6.63	2.50	9.54[a]	1.95[a]
خطای استاندارد میانگین SEM	0.5963	0.7800	0.1664	0.1709	0.0403
خطای احتمال P-value	0.9958	0.0908	0.7611	0.0025	0.0007

a و b: حروف غیر همسان در هرستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).
a-b: Means within each column with different superscripts are significantly different (P< 0.05)



شکل ۱- تاثیر تزریق درون‌تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین بر بیان ژن فاکتورهای تنظیمی ماهیچه (MyoD و MyF5) در بافت ماهیچه سینه و IGF-1 در بافت جگر در جوجه یک‌روزه

Figure 1. The effect of in ovo injection of L-carnitine and betaine on expression genes of Myogenic regulator factors (MyoD, MyF5) in breast muscle and IGF-1 in liver of one day broiler chickens

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

در مراحل پایانی توسعه جنینی منابع مغذی موجود در مایع آمنیوتیک به‌وسیله جنین مورد استفاده قرار می‌گیرد و پس از هضم از طریق روده جنین قبل از خروج از تخم جذب می‌شود. تغذیه جنین با استفاده از مکمل‌های مغذی می‌تواند به تامین احتیاجات جنین در طی دوره جوجه‌کشی به‌خصوص در شرایط کمبود منابع مغذی کمک نماید (Parker *et al.*, 2003). همه‌ی مواد مغذی مورد نیاز برای رشد جنین از تخمگذاری، فراهم می‌شود. کمبود تغذیه‌ای در زمان تشکیل تخم، می‌تواند پیامدهای مهمی در جنین در حال رشد داشته باشد. بیشتر اجزای تشکیل دهنده جیره غذایی طیور از ذرت و سویا تشکیل شده است که دارای مقدار کم یا فاقد ال- کارنیتین است (Buyse *et al.*, 2001). بنابراین، تخم‌مرغ حاوی مقدار کمی ال-کارنیتین است یا اصلاً ندارد. اگرچه بیوسنتز ال-کارنیتین در زمان رشد جنین افزایش می‌یابد، اما سطوح آن همچنان پایین‌تر از مقدار اندازه‌گیری شده در مرغ‌های بالغ است زیرا فعالیت گاما بوتیرو بتائین‌هیدروکسیلاز (که آنزیمی حیاتی در کاتالیز گاما بوتیروبتائین به ال-کارنیتین است)،کم است. به‌همین دلیل، جنین جوجه ممکن است ظرفیت محدودی برای سنتز زیستی ال-کارنیتین طی انکوباسیون داشته باشد (Rebouche, 1992). به‌دلیل ظرفیت محدود جوجه‌های جوان برای سنتز ال-کارنیتین، افزودن ال-کارنیتین ممکن است اثرات سودمندی برای جوجه داشته باشد (Leibetseder, 1995). ژای و همکاران (Zhai *et al.*, 2008)، ال-کارنیتین را به عنوان ترکیب بالقوه برای بهبود قابلیت جوجه درآوری و عملکرد رشد در مرغ‌های تخمگذار بیان کردند. در این تحقیق تزریق ال-کارنیتین موجب افزایش درصد جوجه درآوری شد. مطابق با نتایج این آزمایش، محققین بیان کردند (Keralapurath *et al.*, 2010b) اگرچه، تزریق درون تخم‌مرغی بر عملکرد رشد و بازده کشتار در جوجه‌های گوشتی تاثیری نداشت، اما ال-کارنیتین طول انکوباسیون و قابلیت هچ را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد. غلظت بالای ال-کارنیتین ممکن است موجب تحریک متابولیسم جنینی، افزایش استفاده از چربی زرده و به‌همین ترتیب افزایش محتوای آب درون تخم‌مرغ شود (Keralapurath *et al.*, 2010a). اثر مثبت ال-کارنیتین بر قابلیت جوجه درآوری را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد. بافت جنین جوجه حاوی سطوح بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر است. اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر به پراکسیداسیون لیپیدهای ناشی از رادیکال‌های آزاد بسیار حساس است که توسط میتوکندری به‌علت میزان متابولیسم بالا در جنین‌های با رشد سریع تولید می‌شود. استرس اکسیداتیو تولید رادیکال‌های آزاد را با افزایش نشت الکترونی از سیستم انتقال الکترونی میتوکندری، تحریک می‌کند. تولید بیش از حد رادیکال آزاد منجر به نقص در محیط سلولی می‌شود و متابولیسم در جنین را مختل می‌کند (Agarwal *et al.*, 2005). ال-کارنیتین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازد و مکمل آن در جیره طیور غلظت ال-کارنیتین را در زرده تخم مرغ افزایش می‌دهد و متابولیسم لیپید زرده جنین را بهبود می‌بخشد (Rabie *et al.*, 2015). بنابراین، وجود ال-کارنیتین در تخم بارور ممکن است مرگ و میر جنین در مرحله جوجه درآوری را با کاهش تنش اکسیداتیو کاهش دهد و درنتیجه نرخ جوجه درآوری را افزایش می‌دهد. در این پژوهش با توجه به کاهش مرگ‌و میر در گامه پایانی درگروه با تزریق ال-کارنیتین و همچنین افزایش نرخ جوجه‌درآوری، احتمال می‌رود ال-کارنیتین با کاهش تنش اکسیداتیو و از بین بردن رادیکال آزاد ناشی از اکسیداسیون چربی، موجب افزایش درصد جوجه‌درآوری شده است. اثر مثبت ال-کارنیتین در کاهش غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول پلاسما ممکن است به‌دلیل تاثیر ال-کارنیتین بر کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز باشد. مطابق با این یافته‌ها، زو و همکاران (Xu *et al.*, 2003) گزارش کردند لیپوپروتئین لیپاز تری‌گلیسرید را به گلیسرول و اسیدهای چرب کاتالیز می‌کند. علاوه براین با کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز، هیدرولیز LDL افزایش می‌یابد. LDL نقش مهمی در تنظیم ذخیره چربی بدن و درنتیجه کاهش چربی زیرجلدی به عهده دارد (Abd El-Azeem *et al.*, 2014; Ghonim, 2016). در همین راستا، بیان شده است تزریق درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین در مرحله جنینی غلظت ترکیبات لیپیدی پلاسما را کاهش می‌دهد (Rabie *et al.*, 2015). تزریق ال-کارنیتین موجب افزایش درصد سینه و ران در مقایسه با گروه شاهد گردید. افزایش درصد ماهیچه به‌دلیل افزایش کارآیی اکسیداسیون اسید چرب که ممکن است موجب کاهش وابستگی جنین به مسیر گلوکونئوژنیک و ذخیره پروتئین ماهیچه پس از تفریخ شود و بدین‌ترتیب سبب افزایش بازدهی ماهیچه در هنگام رشد شود. افزودن ال-کارنیتین موجب افزایش بازدهی اکسیداسیون اسیدهای چرب و درنتیجه منجر به بهبود استفاده از نیتروژن جیره شود (Keralapurath *et al.*, 2010a).

در این پژوهش، افزودن ال-کارنیتین موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن IGF-1 در بافت جگر در جوجه یک‌روزه شده است. این افزایش ممکن است به‌دلیل تاثیر ال-کارنیتین بر صرفه‌جویی بیشتر متیونین و لیزین برای سنتز پروتئین باشد که موجب افزایش میوژنز و هایپرتروفی ماهیچه به‌دلیل افزایش ترشح IGF-1 و در نتیجه سبب بهبود رشد ماهیچه شود. مطالعات اخیر نشان داده است IGF-1 نقش اساسی در تکثیر و بلوغ سلول‌های ماهواره‌ای، که پیش‌ساز میوفیبریل‌ها هستند، در طی مرحله جنینی ایفا می‌کنند (Abdel-Fattah and Shourrap, 2012; Shafey *et al.*, 2010). گزارش شده است MyoD، MyF5 و MRFs بیان ژن خاص در ماهیچه و رشد ماهیچه در هنگام جنینی و بعد از تولد را بر عهده دارند (Bailey *et al.*, 2001). همچنین افزودن ال-کارنیتین به‌میزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در آب آشامیدنی، بیان ژن‌های MyoD و MyF5 ماهیچه‌ی سینه در جوجه‌های گوشتی را افزایش داد (Abouzed *et al.*, 2019). با توجه به نتایج این آزمایش، احتمال می‌رود رابطه مثبتی بین افزایش بیان ژن‌های IGF-1 ، MyoD و MyF5 وجود داشته باشد. رشد جوجه‌ها با رشد ماهیچه‌ی اسکلتی در ارتباط است که بوسیله فاکتورهای تنظیم‌کننده میوژنیک تنظیم می‌شود. افزایش بیان ژن‌های مرتبط با رشد و نمو ماهیچه می‌تواند تاثیر مثبتی بر رشد ماهیچه بعد از تفریخ و در پی آن افزایش وزن بدن را

[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]

موجب شود. غلامی و همکاران (Gholami *et al.*, 2015) گزارش کردند تزریق بتائین وزن تفریخ جوجه‌ها را بهبود بخشید. بهبود وزن تفریخ جوجه‌ها ممکن است به‌دلیل خاصیت اسمزی بتائین باشد که موجب حفظ آب سلولی می‌شود (Attia *et al.*, 2005) و تبخیر آب از تخم‌مرغ را کاهش می‌دهد. در این تحقیق تزریق بتائین نیز موجب افزایش درصد بافت ماهیچه سینه و ران نسبت به گروه شاهد شد. مطابق با این تحقیق، هو و همکاران (Hu *et al.*, 2015) گزارش کردند تزریق بتائین وزن بدن را بهبود بخشید، درحالیکه هو و همکاران (Hu *et al.*, 2017) بیان کردند تزریق بتائین وزن بدن را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۵). افزایش وزن بدن بعد تفریخ ممکن است سبب بهبود عملکرد بدن جنین جوجه در هنگام تزریق بتائین شود (Gholami *et al.*, 2015). علاوه براین، بتائین توانایی پیشگیری از دهیدراته شدن (Metzler-Zebeli *et al.*, 2009) و حفظ آب سلولی را بوسیله فعالیت حفاظتی اسمولیتیکی برعهده دارد (Senesi *et al.*, 2013). همچنین بتائین در واکنش‌های متیلاسیون شرکت کرده و از متیلاسیون متیونین به محصولات متابولیکی مضر جلوگیری می‌کند. از فعالیت دیگر بتائین می‌توان تبدیل هموسیستئین به متیونین اشاره کرد که از تجمع مقادیر سمی هموسیستئین پیشگیری می‌کند (Metzler-Zebeli *et al.*, 2009; Maddahian *et al.*, 2017). بتائین ممکن است مسیرسیگنال IGF-1 را در ماهیچه‌ی جوجه‌ها فعال کند. بیان شده است مسیر سیگنالی IGF-1 می‌تواند به‌عنوان واسطه ذاتی در حالت اتوکراینی و پاراکراینی در ماهیچه‌ی اسکلتی عمل کند و تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای را تحریک می‌کند و افزایش بازسازی ماهیچه و تعیین سنتز پروتئین و در نهایت افزایش توده ماهیچه‌ای را برعهده دارد (Saeed *et al.*, 2017). مطالعات قبلی نشان داده است افزودن بتائین غلظت پلاسمایی IGF-1 را در خوک و مرغ تخمگذار افزایش دهد، همچنین افزایش بیان mRNA فاکتور رشد شبه انسولینی در جگر مرغ و سلول میوبلاست در موش نیز گزارش شده است (Huang *et al.*, 2006; Choe *et al.*, 2010; Senesi *et al.*, 2013). مطابق با این یافته‌ها، چن و همکاران (Chen *et al.*, 2018)، بیان کردند افزودن بتائین بیان ژن IGF-1 را در ماهیچه سینه افزایش داد. با توجه به عملکرد رشد و بازده ماهیچه، بتائین به‌عنوان محرک مثبت به‌منظور فعال‌سازی مسیر سیگنالی IGF-1 در جهت تحریک رشد ماهیچه شناخته شده است. این نتایج نشان می‌دهد بتائین ممکن است رشد ماهیچه را از طریق افزایش سنتز پروتئین نسبت به تجزیه پروتئین، افزایش دهد. در پژوهش چن و همکاران (Chen *et al.*, 2018)، به‌منظور بررسی مکانیسم اثر بتائین بر رشد ماهیچه سطوح بیان ژن‌های تنظیم کننده میوژنیک اندازه‌گیری شد. MyoD برای تکثیر میوبلاست ضروری است. افزایش بازده ماهیچه ران ممکن است به‌دلیل افزایش بیان نسبی ژن‌های میوژنیک در جوجه یکروزه باشد. نتایج مشابه در پژوهش سنسی و همکاران (Senesi *et al.*, 2013) نشان داد بتائین می‌تواند تشکیل نئومیوتوب‌ها را با افزایش پروتئین MyoD در مرحله تکثیر سلولی و افزایش MyF5 و MyoG در مرحله تمایز سلولی در موش افزایش دهد. در این آزمایش، تاثیر مثبت تزریق ترکیب ال-کارنیتین و بتائین بر کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون در جوجه‌ها مشاهده شده است. پارامترهای بیوشیمیایی سرم متابولیسم تغذیه‌ای و وضعیت سلامتی حیوان رانشان می‌دهد. بتائین تجمع لیپید کبدی را از طریق اکسیداسیون اسیدهای چرب، با فعال کردن بیان ژن‌های PPARα و CPT1α، کاهش می‌دهد (Zhan *et al.*, 2006) و ال-کارنیتین با کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز موجب کاهش غلظت چربی می‌شود. پاسخ جنین به تغذیه جنینی در دوره جنینی تحت تاثیر عواملی نظیر دز تزریقی، گونه، سن و ترکیب جیره گله مادر و زمان تزریق می‌تواند متفاوت باشد. شاید کاهش معنی‌دار غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول در این گروه را ترکیب دو دز ال-کارنیتین و بتائین و بازده مثبت آن دانست. ماهیچه اسکلتی ۳۵-۴۵٪ از وزن لاشه را تشکیل می‌دهد، بتائین و ال-کارنیتین می‌تواند ترشح IGF-1 را تحریک کرده و در نتیجه بیان ژن‌های تنظیمی ماهیچه را افزایش داده و در پی آن تکثیر و بلوغ سلول‌های ماهواره‌ای را در مرحله جنینی بهبود دهد. تغذیه درون تخم‌مرغی ال-کارنیتین و بتائین می‌تواند بر پارامترهای تولیدی از جمله افزایش اندازه ماهیچه در زمان تفریخ اثر مثبت داشته باشد. اثر مثبت افزایش درصد ماهیچه و بیان ژن‌های میوژنیک در تزریق ترکیب ال-کارنیتین و بتائین نیز مشاهده شد. با توجه به افزایش بیان نسبی ژن‌ها در گروه تزریق ال-کارنیتین به‌همراه بتائین می‌توان احتمال داد ال-کارنیتین و بتائین در راستای همدیگر موجب افزایش بیان ژن IGF-1 و ژن‌هایMyoD و MyF5 در بافت ماهیچه‌ای و تمایز فیبرهای ماهیچه‌ای اسکلتی و افزایش اندازه میوتوب شود، در نتیجه عملکرد رشد و بازده ماهیچه را در جوجه‌های گوشتی بهبود بخشد. براساس یافته‌های این تحقیق می‌توان بیان نمود که تزریق ال-کارنیتین و بتائین به داخل تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای تاثیر مثبتی بر عملکرد رشد دارد و در پی آن سبب بهبود بازده ماهیچه‌ای در جوجه‌های گوشتی می‌شود.

منابع

Abd El-Azeem, N. A., Abdo, M. S., Madkour, M., and El-Wardany, I. (2014). Physiological and histological responses of broiler chicks to in ovo injection with folic acid or lcarnitine during embryogenesis. *growth*, *3*, 4. http://dx.doi.org/10.5829/idosi.gv.2014.13.04.85231

Abdel-Fattah, S., and Shourrap, M. (2012). Physiological effects of in ovo L carnitine and embryonic thermal conditioning on pre and posthatch development of broiler chicks. 3rd Mediterranean Poultry Summit and 6th International Poultry Conference,

Abouzed, T., Dorghamm, D., Kahilo, K., Elkattawy, A., Nassef, E., and El-Sawy, H. (2019). Impact Of L-Carnitine Supplementation On Growth Of Broiler Chicken Through Determination Of Changes In The

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]
[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

Expression Of Cat2, Myod And Myf5 Genes. *Slovenian Veterinary Research*, *56*(22-Suppl). https://doi.org/10.26873/SVR-805-2019

Agarwal, A., Gupta, S., and Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *3*(1), 28. https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-28

Apicella, J. M., Lee, E. C., Bailey, B. L., Saenz, C., Anderson, J. M., Craig, S. a. S., Kraemer, W. J., Volek, J. S., and Maresh, C. M. (2013). Betaine supplementation enhances anabolic endocrine and Akt signaling in response to acute bouts of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *113*(3), 793-802. https://doi.org/10.1007/s00421-012-2492-8

Araújo, I. C. S., Leandro, N. S. M., Mesquita, M. A., Café, M. B., Mello, H. H. C., and Gonzales, E. (2016). Effect of Incubator Type and Broiler Breeder Age on Hatchability and Chick Quality. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *18*. http://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0146

Arslan, C. (2006). L-carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding a review. *Revue de médecine vétérinaire*, *157*(3), 134.

Attia, Y., Hassan, R., Shehatta, M., and Abd-El-Hady, S. B. (2005). Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing 2. Different levels of methionine. *Int. J. Poult. Sci*, *4*(11), 856-865. https://doi.org/10.3923/ijps.2005.856.865

Buyse, J., Janssens, G., and Decuypere, E. (2001). The effects of dietary L-carnitine supplementation on the performance, organ weights and circulating hormone and metabolite concentrations of broiler chickens reared under a normal or low temperature schedule. *British Poultry Science*, *42*(2), 230-241. https://doi.org/10.1080/00071660120048492

Chen, R., Zhuang, S., Chen, Y., Cheng, Y., Wen, C., and Zhou, Y. (2018). Betaine improves the growth performance and muscle growth of partridge shank broiler chickens via altering myogenic gene expression and insulin-like growth factor-1 signaling pathway. *Poultry science*, *97*(12), 4297-4305. https://doi.org/10.3382/ps/pey303

Choe, H., Li, H., Park, J., Kang, C., and Ryu, K. S. (2010). Effects of dietary betaine on the secretion of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-1 and-3 in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *23*(3), 379-384. https://doi.org/10.5713/ajas.2010.70653

Ebrahimi, M., Janmohammadi, H., Kia, H. D., Moghaddam, G., Rajabi, Z., Rafat, S. A., and Javanmard, A. (2017). The effect of L-lysine in ovo feeding on body weight characteristics and small intestine morphology in a day-old Ross broiler chicks. *Revue de médecine vétérinaire*, *168*(4-6), 116-124.

Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., and Mosenthin, R. (2005). Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition research reviews*, *18*(1), 31-48. https://doi.org/10.1079/nrr200493

Gholami, J., Qotbi, A. A., Seidavi, A., Meluzzi, A., Tavaniello, S., and Maiorano, G. (2015). Effects of in ovo administration of betaine and choline on hatchability results, growth and carcass characteristics and immune response of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, *14*(2), 3694. https://doi.org/10.4081/ijas.2015.3694

Ghonim, A. I. (2016). Effect Of In-Ovo Injection With L-Carnitine On Hatchability And Posthatching Performance Of Growing Ducklings Under Summer Conditions In Egypt. *Egyptian Poultry Science Journal*, *36*(3), 695-709. https://dx.doi.org/10.21608/epsj.2016.168801

Hu, Y., Sun, Q., Li, X., Wang, M., Cai, D., Li, X., and Zhao, R. (2015). In Ovo injection of betaine affects hepatic cholesterol metabolism through epigenetic gene regulation in newly hatched chicks. *PloS one*, *10*(4), e0122643. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122643

Hu, Y., Sun, Q., Liu, J., Jia, Y., Cai, D., Idriss, A. A., Omer, N. A., and Zhao, R. (2017). In ovo injection of betaine alleviates corticosterone-induced fatty liver in chickens through epigenetic modifications. *Scientific reports*, *7*(1), 40251. https://doi.org/10.1038/srep40251

Huang, Q.-C., Xu, Z.-R., Han, X.-Y., and Li, W.-F. (2006). Changes in hormones, growth factor and lipid metabolism in finishing pigs fed betaine. *Livestock Science*, *105*(1-3), 78-85. http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.livsci.2006.04.031

Keralapurath, M., Corzo, A., Pulikanti, R., Zhai, W., and Peebles, E. (2010a). Effects of in ovo injection of L-carnitine on hatchability and subsequent broiler performance and slaughter yield. *Poultry science*, *89*(7), 1497-1501. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00551

Keralapurath, M., Keirs, R., Corzo, A., Bennett, L., Pulikanti, R., and Peebles, E. (2010b). Effects of in ovo injection ofl-carnitine on subsequent broiler chick tissue nutrient profiles. *Poultry science*, *89*(2), 335-341. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00333

Leibetseder, J. (1995). Studies of L-Carnitine effects in poultry. *Archiv für Tierernaehrung*, *48*(1-2), 97-108. https://doi.org/10.1080/17450399509381832

Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. *methods*, *25*(4), 402-408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Maddahian, A., Morovat, M., Dadvar, P., and Bafti, M. S. (2017). Effect of feed restriction with or without betaine supplementation on immune response, blood cation-anion balance, body temperature and bone characteristics of broiler chickens under heat stress. *Journal of Livestock Science*, *8*, 179-186.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]

[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]

Metzler-Zebeli, B., Eklund, M., and Mosenthin, R. (2009). Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. *World's Poultry Science Journal*, *65*(3), 419-442. https://doi.org/10.1017/S0043933909000300

Moradi, H., Mohammadi, S. C. A., Sharifi, S. D., Hosseinzadeh, S., Seyed, J. E., and Salehi, A. (2021). Ursolic Acid Improve Skeletal Muscle Hypertrophy by Increasing of PAX7, Myod and Myogenin Expression and Satellite Cells Proliferation in Native Broiler Chickens. *Research on Animal Production 11*(30), 11-19. (In Persian)

Parker, M. H., Seale, P., and Rudnicki, M. A. (2003). Looking back to the embryo: defining transcriptional networks in adult myogenesis. *Nature Reviews Genetics*, *4*(7), 497-507. https://doi.org/10.1038/nrg1109

Rabie, M., Ismail, F., and Ahmed, A. (2015). Effect of in ovo injection of L-carnitine at different incubational ages on egg hatchability in broiler breeders and post-hatch performance. *Asian J. Anim. Vet. Adv*, *10*, 875-884. https://doi.org/10.3923/ajava.2015.875.884

Rebouche, C. J. (1992). Carnitine function and requirements during the life cycle. *The FASEB Journal*, *6*(15), 3379-3386. https://doi.org/10.1096/fasebj.6.15.1464372

Rezaeian, Y., Ansari Pirsaraei, Z., Biparva, P., and Deldar, H. (2022). Effect of in Ovo Injection of Optimized Nano-Scale Zero-Valent Iron on Embryonic Growth and Quality of Broiler Chicks (ROSS 308 Strains). *Research On Animal Production*, *13*(36), 96-103. (In Persian)

Rommel, C., Bodine, S. C., Clarke, B. A., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, T. N., Yancopoulos, G. D., and Glass, D. J. (2001). Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI (3) K/Akt/mTOR and PI (3) K/Akt/GSK3 pathways. *Nature cell biology*, *3*(11), 1009-1013. https://doi.org/10.1038/ncb1101-1009

Saeed, M., Babazadeh, D., Naveed, M., Arain, M. A., Hassan, F. U., and Chao, S. (2017). Reconsidering betaine as a natural anti-heat stress agent in poultry industry: a review. *Tropical animal health and production*, *49*, 1329-1338. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1355-z

SAS, User Guide. (2007). SAS Inst. Inc., Cary, NC. *Version 9.1 ed.*

Senesi, P., Luzi, L., Montesano, A., Mazzocchi, N., and Terruzzi, I. (2013). Betaine supplement enhances skeletal muscle differentiation in murine myoblasts via IGF-1 signaling activation. *Journal of translational medicine*, *11*(1), 1-12. https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-174

Shafey, T., Al-Batshan, H., Al-Owaimer, A., and Al-Samawei, K. (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. https://doi.org/10.1080/00071660903271190

Velleman, S. (2007). Muscle development in the embryo and hatchling. *Poultry science*, *86*(5), 1050-1054. https://doi.org/10.1093/ps/86.5.1050

Xu, Z., Wang, M., Mao, H., Zhan, X., and Hu, C. (2003). Effects of L-carnitine on growth performance, carcass composition, and metabolism of lipids in male broilers. *Poultry science*, *82*(3), 408-413. https://doi.org/10.1093/ps/82.3.408

Zhai, W., Neuman, S., Latour, M., and Hester, P. (2008). The effect of in ovo injection of L-carnitine on hatchability of white leghorns. *Poultry science*, *87*(3), 569-572. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00348

Zhan, X., Li, J., Xu, Z., and Zhao, R. (2006). Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcase composition and metabolism of lipids in male broilers. *British Poultry Science*, *47*(5), 576-580. https://doi.org/10.1080/00071660600963438

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-05-20]

[DOI: 10.61186/rap.15.43.75]