



## بررسی اثرات تزریق داخل تخم مرغی عصاره بره موم بر عملکرد رشد و وضعیت سیستم ایمنی جوجه های گوشتی

ساحل بخشایش<sup>۱</sup>، جمال سیف دواتی<sup>۲</sup>، صیاد سیف زاده<sup>۳</sup>، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق<sup>۴</sup>، حسین عبدی بنمار<sup>۴</sup> و وحید واحدی<sup>۴</sup>

۱، ۳، ۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشجوی دکتری تغذیه دام و دامپزشک و استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی  
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسئول: jseifdavati@uma.ac.ir)  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲

### چکیده

به منظور بررسی اثر تزریق عصاره بره موم در تخم مرغ های مادر گوشتی بر عملکرد رشد و وضعیت سیستم ایمنی جوجه ها بعد از تفریخ پژوهش حاضر طراحی و اجرا شد. در روز ۱۴ جوجه کشی، ۳۲۴ عدد تخم مرغ سویه راس ۳۰۸ توزین و در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۶ گروه آزمایشی با ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۱۸ عدد تخم مرغ تقسیم شد. تیمارها شامل شاهد (بدون تزریق)، شاهد با تزریق آب استریل، تزریق محلول ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم بودند از محلول تهیه شده در ۶۰ میلی لیتر آب استریل، در روز ۱۵ جوجه کشی یک میلی لیتر به مایع آمینوتیک تخم مرغ ها تزریق انجام گرفت. نتایج نشان داد که تزریق عصاره بره موم به تخم مرغ در روز ۱۵ انکوباسیون تأثیری بر درصد جوجه درآوری، وزن جوجه های تفریخ شده و نسبت وزن جوجه های تفریخ شده به وزن تخم مرغ نشان نداد ( $p > 0.05$ ). اما در تخم مرغ های که ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم تزریق شده بود، نسبت وزن جوجه های تفریخ شده به وزن تخم مرغ در مقایسه با گروه شاهد بیشتر از نظر عددی بود. تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف عصاره بره موم تأثیر معنی داری بر مصرف خوراک، وزن بدن، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در کل دوره های پرورشی نداشت ( $p > 0.05$ ). نتایج بدست آمده از آنتی بادی های تولید شده در اثر تزریق SRBC در ۲۸ روزگی نشان داد گروه های دریافت کننده سطوح ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم و شاهد مثبت تمایل به کاهش در آنتی بادی های تولید شده در مقایسه با گروه شاهد منفی داشتند ( $p < 0.06$ ). در حالی که تزریق داخل تخم مرغی ۱۵۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم سبب افزایش تیترا آنتی بادی در مقایسه با تیمارهای دیگر شد ( $p < 0.05$ ). همچنین نتایج مربوط به تیترا آنتی بادی های تولید شده در اثر تزریق SRBC در ۳۵ روزگی نشان داد در گروهی که تزریق عصاره بره موم صورت گرفته بود تیترا آنتی بادی در مقایسه با گروه شاهد منفی پایین بود ( $p < 0.05$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق عصاره بره موم بر تخم مرغ های بارور در روز ۱۵ انکوباسیون نتوانست سبب بهبود عملکرد رشد و سیستم ایمنی جوجه های گوشتی شود.

واژه های کلیدی: عصاره بره موم، عملکرد رشد، سلول های خونی، پاسخ ایمنی، جوجه های گوشتی

### مقدمه

یکی از اهداف مهم تولیدکنندگان جوجه های یک روزه و پرورش دهندگان جوجه های گوشتی، تولید جوجه های با شاخص های بهبود یافته از جمله نرخ جوجه درآوری، وزن جوجه یکروزه، کاهش نرخ تلفات، مقاومت در مقابل بیماری ها و سرعت رشد مطلوب می باشد. همچنین افزایش تولید در دام و طیور مستلزم سالم بودن آنها بوده که این با افزایش قدرت سیستم ایمنی به وسیله انواع محرک های بیولوژیکی از طریق جیره یا تزریق امکان پذیر می باشد (۱۹، ۱). تزریق داخل تخم مرغی فن آوری جدیدی است که توسط یونی و فرکت (۳۶) مطرح شد. در این روش افزودنی را برای توسعه جنین به تخم مرغ تزریق می کنند. در اواخر دوران جنینی، افزودنی های تزریق شده به مایع آمینوتیک، هضم و توسط جنین قبل از تفریخ جذب می شود (۳۶). تغذیه داخل تخم مرغ می تواند به بهبود ظرفیت گوارش، افزایش نرخ رشد، بهبود راندمان غذایی، کاهش مرگ و میر پس از تفریخ، بهبود پاسخ ایمنی به آنتی ژن های روده، کاهش بروز اختلالات اسکلتی، رشد و افزایش رشد ماهیچه و عملکرد گوشت سینه منجر شود (۱۳). از افزودنی های بیولوژیکی که در جیره دام و طیور استفاده می شود می توان آنزیم ها، پروبیوتیک ها، مخمرها و بره موم را نام برد (۲۴). بره موم آنتی بیوتیکی طبیعی است که زنبور عسل

از رزین های درختان و گیاهان جمع آوری کرده و در کیسه گرده ذخیره می کند. در هنگام جمع آوری رزین ها، بزاق و سایر ترشحات زنبور و همچنین موم با آن ترکیب می شود و سرانجام ماده ای رزینی تشکیل شده که تحت عنوان بره موم شناخته می شود (۳۴). روغن های فرار بره موم دارای فعالیت ضد میکروبی (۲۳)، آنتی اکسیدانی و تحریک کننده سیستم ایمنی هستند (۱۱). فعالیت ضد میکروبی بره موم به دلیل وجود مقادیر زیاد استرهای کافینات و ترکیبات فلاونوئیدی می باشد (۲۵). کوئی چانگووینگ (۳۰) بیان کردند که استفاده از بره موم سبب افزایش سیستم ایمنی بدن می شود. گزارش های از اثرات مثبت بره موم بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و تلفات در جوجه های گوشتی تحت استرس مشاهده شده است (۳۳). با توجه به ویژگی های ذکر شده برای بره موم (آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضد ویروسی و ...) تاکنون مطالعات کمی در باره اثرات تزریق داخل تخم مرغی بره موم بر وضعیت سیستم ایمنی و عملکرد رشد جوجه های گوشتی گزارش شده است. بنابر این در این تحقیق اثرات تزریق داخل تخم مرغی بره موم بر عملکرد رشد و وضعیت سیستم ایمنی در جوجه های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در شروع آزمایش، تعداد ۳۲۴ عدد تخم‌مرغ بارور از سویه گوشتی راس ۳۰۸ با میانگین وزنی ۶۹/۳۵ گرم و در سن ۴۶ هفتگی گله مادر تهیه شد و به‌طور انفرادی وزن کشی و به صورت تصادفی در ۶ تیمار آزمایشی و هر تیمار دارای ۳ تکرار با ۱۸ مشاهده در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. در روز ۱۵ انکوباسیون ابتدا محل مایع آمینوتیک تخم‌مرغ‌ها با استفاده از روش نوربینی مشخص و سپس یک میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده با سرنگ شماره ۲۲ به مایع آمینوتیک تخم‌مرغ‌های بارور تزریق شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون تزریق)، شاهد با تزریق آب استریل (کنترل منفی)، تزریق محلول ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم در ۶۰ میلی‌لیتر آب استریل به مایع آمینوتیک بود. عصاره روغنی بره موم در این تحقیق به صورت آماده از شرکت تقدیس مشهد تهیه شد. پس از اتمام تزریق، محل آن با الکل ضدعفونی شده و با پارافین مسدود شدند. سپس تخم‌مرغ‌ها دوباره در دستگاه جوجه کشی با دمای هجر ۳۷/۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد قرار داده شدند. در روز تفریخ، جوجه‌های هر گروه آزمایشی شمارش و وزن کشی شده و به سالن پرورشی انتقال داده شدند. برای بررسی عملکرد پس از تفریخ، از هر تیمار که شامل سه تکرار بودند ۱۸ قطعه جوجه وزن شدند و هر تیمار در گروه‌های مشابه برای یک دوره ۶ هفته‌ای پرورش یافتند. پرندگان مورد آزمایش در قفس به طور ردیفی قرار داده شده و تهویه و نور آرایه شدند. تمام جوجه‌ها در تیمارهای مختلف به صورت آزادانه از یک جیره آزمایشی مشترک تغذیه شدند. آب آشامیدنی به طور آزاد در اختیار جوجه‌ها گذاشته شد. مواد تشکیل‌دهنده و مواد مغذی ترکیب جیره آزمایشی بر اساس توصیه انجمن تحقیقات ملی آمریکا NRC 1994 (۲۶) در جدول ۱ ارائه شده است. مصرف خوراک روزانه (روز/جوجه/گرم) از تفاضل خوراک باقیمانده در آخر هفته مورد نظر از وزن خوراک ابتدای همان هفته محاسبه شد. برای تعیین

وزن بدن، جوجه‌ها در پایان هر هفته پس از ۴ ساعت گرسنگی جهت تخلیه دستگاه گوارش توزین شده و میانگین وزنی هر واحد آزمایشی و هر گروه محاسبه گردید. در این پژوهش برای بررسی ایمنی همورال از تست گلبول قرمز گوسفندی استفاده شد. بدین منظور در روزهای ۲۱ و ۲۸ پرورش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲ درصد گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) در بافر فسفات (PBS) با استفاده از سرنگ انسولین به داخل عضله سینه به سه قطعه جوجه از هر تکرار تیمار تزریق شد. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی همورال در روزهای ۲۸ و ۳۵ پرورش به مقدار ۲ سی‌سی از ورید بال جوجه‌های تزریق شده خونگیری انجام گرفت. پس از لخته شدن نمونه‌های خون، سرم آن‌ها جدا و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ و برای انجام مراحل بعدی آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای تعیین تیترا پاسخ کل (IgG + IgM) از روش هم‌آگلوتیناسیون (۲۰) میکروتیتر استفاده شد. در هنگام قرائت نمونه لگاریتم در مبنای ۲ عکس آخر رقتی که در آن هم‌آگلوتیناسیون دیده می‌شود به عنوان عیار پادتنی ثبت شد. برای اندازه‌گیری IgM و IgG که اجزای پاسخ به SRBC هستند، با جداسازی پادتن مقاوم به مرکاپتاتانول که در حقیقت IgG هست و کسر این مقدار از پاسخ کل می‌توان پادتن حساس به مرکاپتاتانول را بدست آورد که معرف IgM می‌باشد (۱۰). بعد از جمع‌آوری اطلاعات، تجزیه آماری درصد جوجه‌درآوری، وزن جوجه تفریخ شده و نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ در قالب طرح کاملاً تصادفی و تجزیه آماری SRBC ضریب تبدیل خوراک، افزایش وزن روزانه، میانگین افزایش وزن روزانه و میانگین خوراک مصرفی در قالب طرح اندازه‌گیری‌های مکرر (Measurement Repeat) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد (۳۲). مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ انجام شد (۳۲).

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی طبق توصیه NRC (۲۶)

Table 1. The ingredients and nutrients composition of broiler chickens diets

اجزای خوراک (%)	دوره‌های پرورش ۱-۱۰ روزگی	دوره‌های پرورش ۱۱-۴۲ روزگی	ترکیب شیمیایی	دوره‌های پرورش ۱-۱۰ روزگی	دوره‌های پرورش ۱۱-۴۲ روزگی
دانه ذرت	۵۸/۵۰	۵۸/۸۵	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۹۱۷/۱	۳۰۲۳/۱
کنجاله سویا	۳۴/۷۵	۳۳/۳۵	پروتئین خام (%)	۲۲/۶۱۴	۱۹/۸۵
روغن گیاهی	۲	۳/۵۰	فسفر قابل دسترس (%)	۰/۵۰۱۶	۰/۴۴۹
دی کلسیم فسفات	۱/۸۰	۱/۶۰	متیونین + سیستین (%)	۰/۸۹۵۹	۰/۸۰۹۲
پودر صدف	۱/۲۵	۱/۱۰	آرژنین (%)	۱/۵۱۸	۱/۳۴۱
مکمل ویتامینه	۰/۵۷	۰/۵۲	تریپتوفان (%)	۰/۳۹۹۷	۰/۳۳۷۷
مکمل معدنی	۰/۵۷	۰/۵۲	سدیم (%)	۰/۰۵۱۱	۰/۰۹۶۲
دی ال متیونین	۰/۲۳	۰/۱۸	متیونین (%)	۰/۵۵۸	۰/۵۰۰
ال لایزین	۰/۱۳	۰/۱۸	لایزین (%)	۱/۲۶۳	۱/۱۷۲
نمک خوراکی	۰/۲	۰/۲	-	-	-

ویتامین A: ۳/۶ گرم، ویتامین B<sub>1</sub> ۰/۳۶ گرم، ویتامین B<sub>2</sub> ۱/۶۵ گرم، ویتامین B<sub>3</sub> ۲ گرم، ویتامین B<sub>6</sub> ۰/۶ گرم، ویتامین B<sub>12</sub> ۰/۳ گرم، ویتامین D<sub>3</sub> ۰/۸ گرم، ویتامین E ۷/۲ گرم، ویتامین K<sub>3</sub> ۰/۸ گرم، ویتامین B<sub>9</sub> ۰/۲۵ گرم، ویتامین B<sub>5</sub> ۶ گرم، ویتامین H ۲ گرم، منگنز اکسید ۳۲ گرم، آهن سولفات ۵۰ گرم، اکسید روی ۲۲ گرم، اکسید مس ۸ گرم، سلنیوم ۴ گرم، کولین کلراید ۲۰۰ گرم، آنتی اکسیدانت ۰/۲ گرم.

## نتایج و بحث

تزریق شده به وزن تخم مرغ جوجه های گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است.

اثر تزریق داخل تخم مرغی بره موم بر صفات جوجه درآوری، وزن جوجه تفریخ شده و نسبت وزن جوجه

جدول ۲- مقایسه صفات عملکرد جوجه ها در تیمارهای عصاره بره موم (قسمت در میلیون)

Table 2. Comparison of performance characteristics of chicks in oil-extracted propolis treatments (ppm)

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی				شاهد منفی	شاهد مثبت	
		۱۲۰۰ ppm	۶۰۰ ppm	۳۰۰ ppm	۱۵۰ ppm			
		بره موم	بره موم	بره موم	بره موم			
۰/۳۳	۴/۸۴	۵۲/۳۷	۶۳/۸۹	۵۶/۸۵	۵۹/۲۶	۵۳/۷۰	۶۶/۰۳	درصد جوجه درآوری
۰/۲۷	۱/۵۱	۳۳/۷۸	۳۲/۱۹	۴۲/۰۴	۴۰/۰۰	۳۹/۷۷	۴۲/۶۱	وزن جوجه تفریخ شده
۰/۲۵	۲/۳۶	۶۵/۷۵	۶۱/۳۴	۶۲/۹۰	۵۸/۶۹	۵۷/۶۹	۶۲/۱۵	نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم مرغ

حروف غیر مشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

شده می شود. ژای و همکاران (۴۰) با تزریق عصاره بره موم به تخم مرغ های لگهورن سفید در روز ۱۸ جوجه کشی، تأثیری بر وزن جوجه های تفریخ شده مشاهده نکرد. اثر تزریق داخل تخم مرغی بره موم بر نسبت وزن جوجه های تفریخ شده به وزن تخم مرغ نشان داد تزریق سطوح مختلف بره موم نسبت به گروه شاهد منفی اثر معنی داری نشان نداد. اما گروهی که ۱۲۰۰ قسمت در میلیون بره موم دریافت کرده بود افزایش غیر معنی داری در مقایسه با گروه های دیگر داشت. یونی و فرکت (۳۷) نشان دادند که تزریق داخل تخم مرغی بره موم سبب بهبود نسبت وزن جوجه تفریخ شده به وزن تخم مرغ قبل از تزریق شد.

نتایج مربوط به تزریق داخل تخم مرغی بره موم بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی در جدول ۳ ارائه است. نتایج نشان داد تزریق سطوح مختلف بره موم به تخم مرغ های بارور تأثیر معنی داری بر مصرف خوراک در سه بازه زمانی ۱-۱۰ روزگی، ۱۱-۴۲ روزگی و کل دوره پرورشی نداشت. تحقیقات نشان داده که استفاده از مقدار ۲۵۰ میلی گرم بره موم موجب افزایش مصرف خوراک شده که نشان دهنده عملکرد بهتر جوجه های گوشتی است (۱۷). در تحقیقی بونومی و همکاران (۷) با افزودن ۳۰ قسمت در میلیون بره موم به جیره غذایی مرغ های تخم گذار افزایشی در خوراک مصرفی مشاهده کردند. مطالعه قیصری و همکاران (۱۴) نشان می دهد که استفاده از عصاره بره موم سبب افزایش مصرف خوراک جوجه های گوشتی می شود.

همان طور که مشاهده می شود تزریق عصاره بره موم تأثیر معنی داری بر درصد جوجه درآوری جوجه های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد نداشت. اوها و همکاران (۲۷) گزارش کردند که تزریق داخل تخم مرغی بره موم سبب کاهش درصد جوجه درآوری در مقایسه با گروه شاهد شده است. یونی و فرکت (۳۶) با تزریق داخل تخم مرغی بره موم افزایش معنی داری در درصد جوجه درآوری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده کردند. کوسکون و همکاران (۹) بیان کردند که با تزریق اسید آمینه ها، ویتامین C، کربوهیدرات ها و هورمون ها درصد جوجه درآوری تحت تأثیر قرار نمی گیرد. آیگون و همکاران (۴) گزارش کردند که تزریق داخل تخم مرغی عصاره بره موم تأثیری بر درصد جوجه درآوری بلدرچین های ژاپنی نداشت. پوررضا و همکاران (۲۹) بیان کردند که دقت و مهارت همراه با سرعت عمل بالا در مراحل تزریق داخل تخم مرغی از عوامل تأثیرگذار بر درصد جوجه درآوری می باشد. یونی (۳۵) اعتقاد داشتند که تزریق برخی مواد مغذی به داخل تخم مرغ سبب عدم تعادل مواد مغذی تخم مرغ در طی انکوباسیون شده و بدین ترتیب سبب کاهش رشد و توسعه جنین و در نهایت مرگ جنین می شوند. نتایج حاصل از تزریق سطوح مختلف بره موم به تخم مرغ های بارور تأثیری بر وزن جوجه های تفریخ شده نداشت. کادام و همکاران (۲۱) نشان دادند که تغذیه جنینی با عصاره بره موم، می تواند وزن جوجه های تفریخ شده را بهبود بخشد. همچنین در این راستا نیز یونی و فرکت (۳۷) گزارش کردند که تزریق داخل تخم مرغی بره موم سبب افزایش وزن جوجه های تفریخ

جدول ۳- اثر تزریق عصاره بره موم به تخم‌مرغ بر عملکرد رشد در دوره‌های مختلف پرورشی

Table 3. Effect of in ovo of oil-extracted propolis on growth performance in different periods of rearing

تیمارهای آزمایشی							
P value	SEM	۱۲۰۰ ppm بره موم	۶۰۰ ppm بره موم	۳۰۰ ppm بره موم	۱۵۰ ppm بره موم	شاهد مثبت	شاهد منفی
مصرف خوراک (روز/جوجه/گرم)							
۰/۱۹	۳/۲۳	۷۲/۶۱	۶۵/۲۶	۶۳/۴۳	۶۲/۸۰	۷۲/۲۶	۶۷/۹۰
۰/۴۱	۲۷/۳۸	۴۸۱/۰	۴۱۹/۳	۴۰۸/۴	۴۱۶/۵	۴۵۶/۸	۴۲۱/۸
۰/۷۳	۵۴/۵۶	۷۰۰/۵	۶۱۱/۶	۶۰۴/۹	۶۸۵/۷	۶۶۳/۶	۶۲۵/۷
وزن بدن (گرم)							
۰/۲۷	۲۶/۶۰	۲۶۰/۴	۲۶۲/۵	۲۵۵/۷	۲۳۴/۲	۱۹۹/۷	۲۹۵/۳
۰/۳۱	۱۵۶/۵۸	۱۷۰۶/۱	۱۴۶۸/۱	۱۵۰۵/۴	۱۵۳۹/۲	۱۳۳۵/۳	۱۶۳۳/۷
۰/۳۴	۲۳۰/۹۷	۲۴۸۹/۹	۲۱۴۸/۶	۲۱۹۰/۹	۲۰۵۴/۸	۱۷۶۷/۵	۲۴۰۰/۳
افزایش وزن روزانه (روز/جوجه/گرم)							
۰/۱۷	۲/۹۱	۳۱/۵	۳۳/۱	۳۱/۱	۲۷/۲	۲۶/۶	۳۷/۴
۰/۴۳	۵/۸۷	۶۱/۱۹	۵۶/۵۴	۶۳/۵۳	۶۸/۸۳	۵۸/۹۱	۷۲/۲۲
۰/۵۱	۴/۰۳	۴۷/۹۶	۵۰/۰۸	۵۰/۵۶	۵۲/۹۵	۴۵/۱۳	۵۶/۱۳
ضریب تبدیل غذایی							
۰/۲۹	۰/۳۳	۲/۳۲	۱/۹۷	۲/۰۴	۲/۴۸	۲/۸۹	۱/۸۲
۰/۳۲	۰/۲۱	۱/۹۸	۱/۷۹	۱/۹۱	۲/۰۹	۲/۵۰	۱/۷۸
۰/۵۴	۰/۲۹	۱/۹۷	۱/۹۵	۱/۲۹	۲/۴۴	۲/۴۰	۱/۷۹

حروف غیرمشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است

فسفولیپاز A<sub>2</sub> و سیکلواکسیژناز می‌تواند از افزایش التهاب و ضخامت روده ناشی از میکروب‌های مضر بکاهد و از این طریق سبب بهبود هضم و جذب مواد خوراکی در روده شود در نتیجه آن عملکرد رشد نیز بهبود یابد. در گزارشی نشان داده شده است دوزهای بالا از عصاره بره موم در انسان موجب افزایش پروتئین‌های سطح سلولی و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژناز شده و از طرفی سطح پتانسیل غشای میتوکندریایی کاهش می‌یابد که با سیکنال‌های واسطه‌ای پروتئین سلولی، آپوپتوز یا مرگ سلولی رخ می‌دهد (۱۸). نتایج بدست آمده از تاثیر عصاره بره موم بر ضریب تبدیل خوراک نیز نشان داد که تزریق عصاره بره موم به تخم‌مرغ‌های بارور تاثیری بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های ۱۰-۱۱ روزگی، ۴۲-۱۱ روزگی و کل دوره پرورشی نداشت. در گزارشی استفاده از ۲۵۰ میلی گرم بره‌موم در جیره موجب بهبود در ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی شده است (۱۷). مغایر با نتایج این تحقیق رودسری و همکاران (۳۱) گزارش کردند که مکمل کردن بره موم در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد می‌شود.

همان‌طور که مشاهده می‌شود تزریق بره موم به تخم‌مرغ‌های بارور اثری بر افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره ۱۰-۱۱ روزگی، ۴۲-۱۱ روزگی و کل دوره نداشت. درحالی که تزریق آب مقطر (شاهد مثبت) به تخم‌مرغ‌ها اثر کاهشی بر وزن بدن و افزایش وزن روزانه نسبت به گروه شاهد منفی داشت. همچنین گروهی که ۱۵۰ قسمت در میلیون بره موم تزریق شده بود کاهش غیرمعنی‌داری نسبت به گروه شاهد منفی نشان داد. خجسته و شیوازاد (۲۲) گزارش کردند که افزودن عصاره اتانولی بره موم در جیره غذایی، میانگین افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی را در کل دوره آزمایشی تحت تاثیر قرار داد. تزریق داخل تخم‌مرغی ویتامین سبب افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در سن ۱۴-۲۸ روزگی گردید (۶). اندرسون و همکاران (۲) گزارش کردند که استفاده از ۵ درصد عصاره بره موم سبب افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شده است. آتیا و همکاران (۳) گزارش کردند که استفاده از عصاره بره موم در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود وزن بدن گردید. عزیززاده و همکاران (۵) بیان کردند که عصاره بره موم به دلیل داشتن خاصیت ضد میکروبی سبب کاهش میکروفلورای مضر روده شده و همچنین با کاهش فعالیت

جدول ۴- تاثیر مقادیر مختلف عصاره بره موم بر میزان عیار anti-SRBC، ایمونوگلوبولین G و M جوجه‌های گوشتی (log<sub>2</sub>)

Table 4. Effect of different amounts of oil-extracted propolis on the level of anti- SRBC titers, immunoglobulin G (IgG) and M (IgM) in broiler chicks (log<sub>2</sub>)

		تیمارهای آزمایشی					
P value	SEM	۱۲۰۰ ppm بره موم	۶۰۰ ppm موم	۳۰۰ ppm موم	۱۵۰ ppm بره موم	شاهد مثبت	شاهد منفی
۰/۰۶	۰/۳۶	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰	۴/۳۳	۳/۰۰	۴/۰۰
۰/۰۳	۰/۳۰	۳/۳۳ <sup>ab</sup>	۲/۶۶ <sup>D</sup>	۳/۶۶ <sup>ab</sup>	۳/۳۳ <sup>ab</sup>	۳/۰۰ <sup>D</sup>	۴/۳۳ <sup>a</sup>
۰/۳۰	۰/۳۳	۱/۳۳	۱/۳۳	۱/۰۰	۲/۰۰	۱/۶۶	۱/۰۰
۰/۶۶	۰/۴۳	۱/۶۶	۱/۶۶	۲/۰۰	۱/۳۳	۱/۰۰	۱/۳۳
۰/۳۶	۰/۵۴	۱/۶۶	۱/۶۶	۲/۰۰	۲/۳۳	۱/۳۳	۳/۰۰
۰/۰۱	۰/۳۰	۱/۶۶ <sup>D</sup>	۱/۰۰ <sup>D</sup>	۱/۶۶ <sup>D</sup>	۲/۰۰ <sup>D</sup>	۲/۰۰ <sup>D</sup>	۳/۰۰ <sup>a</sup>

حروف غیرمشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است

سبب افزایش غلظت ایمینوگلوبولین G نسبت به گروه شاهد می‌شود (۴۱/۸). گیورگی و همکاران (۱۵) بیان کردند که استفاده از بره موم در جوجه‌های گوشتی سبب افزایش سیستم ایمنی می‌شود. در مطالعه دیگر کوئی چانگووینگ و همکاران (۳۰) گزارش کردند که افزودن بره موم به جیره غذایی سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را افزایش می‌دهد. فلاونوئیدها که یکی از ترکیبات بره موم می‌باشند که سبب تحریک تولید آنتی‌بادی در جوجه‌های گوشتی می‌شود (۱۶). در تحقیقی مشاهده شده است که استفاده از بره موم سبب تقویت اینترلوکین ۱، ۲، ۳ شده و این نیز می‌تواند سبب افزایش تولید آنتی‌بادی‌ها شود (۲۸). قیصری و همکاران (۱۴) بیان کردند که عدم تاثیرگذاری بره موم در پاسخ سیستم ایمنی احتمالاً به دلیل سطوح کم استفاده شده باشد.

نتیجه‌گیری می‌شود که تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره بره موم در سطوح مختلف تاثیری بر مصرف خوراک، وزن بدن، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی، درصد جوجه‌درآوری، وزن جوجه‌های تفریخ شده و وزن جوجه‌های تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ جوجه‌های گوشتی در دوره‌های ۱-۱۰ روزگی، ۱۱-۴۲ روزگی و کل دوره در شرایط این تحقیق نداشت. اما استفاده از سطوح ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم توانست سبب بهبود وزن بدن و وزن جوجه‌های تفریخ شده به وزن تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد مثبت شود. نتایج مربوط به تیتراژ آنتی‌بادی‌های تولید شده در اثر تزریق SRBC در ۲۸ روزگی نشان داد آنتی‌بادی‌های تولید شده در گروه‌های دریافت‌کننده سطوح ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم اثر کاهشی در مقایسه با گروه شاهد (منفی) داشته است. همچنین نتایج مربوط به تیتراژ آنتی‌بادی‌های تولید شده در اثر تزریق SRBC در ۳۵ روزگی نیز نشان از اثر کاهشی در گروه‌های تزریق شده از عصاره بره موم در مقایسه با گروه شاهد (منفی) داشت.

نتایج مربوط به تزریق SRBC در زمان‌های ۲۱ و ۲۸ بعد از تفریخ بر میزان عیار آنتی‌بادی، IgG و IgM در زمان‌های ۲۸ و ۳۵ روز بعد از تفریخ در جدول ۴ نشان داده است.

تزریق داخل تخم‌مرغی ۱۵۰ قسمت در میلیون عصاره بره موم اثر معنی‌داری در تیتراژ آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه SRBC در زمان ۲۸ داشت ( $p < 0/06$ ). درحالی که تزریق SRBC به ورید جوجه‌های گوشتی نشان داد تخم‌مرغ‌های که ۱۵۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ قسمت در میلیون بره موم تزریق شده بود آنتی‌بادی‌های کمتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند ( $p < 0/05$ ). نتایج مربوط به تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره بره موم در طی انکوباسیون نشان داد که غلظت ایمینوگلوبولین‌های G در زمان‌های ۲۸ و ۳۵ روز بعد از تفریخ تحت تاثیر سطوح تزریق شده‌ی بره موم قرار نگرفتند. همچنین نتایج نشان داد که غلظت ایمینوگلوبولین M در گروه‌های که تزریق در آن‌ها صورت گرفته بود غلظت کمتری در زمان ۳۵ از خود نشان دادند. گلبول‌های قرمز خون گوسفندی (SRBC) یک آنتی‌ژن وابسته به سلول‌های T است به طوری که هنگام وارد شدن به بدن، نیازمند همکاری سلول‌های T برای فعال سازی سلول‌های B و در نتیجه آن تولید آنتی‌بادی است. تزریق داخل رگی SRBC، تیتراژ آنتی‌بادی بالاتری را نسبت به تزریق عضلانی نشان می‌دهد و همچنین با افزایش درصد SRBC و دوز تزریق، تیتراژ آنتی‌بادی بالاتری تولید می‌شود (۳۹). قیصری و همکاران (۱۴) نشان دادند که استفاده از عصاره بره موم در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیری بر غلظت آنتی‌بادی‌های تولید شده ناشی از تزریق SRBC نداشت. انگ و همکاران (۱۲) با بررسی ۱ الی ۴ درصد عصاره بره موم در جیره جوجه‌های گوشتی نشان دادند که سطوح اضافه شده نتوانست محرکی برای سیستم ایمنی بدن باشد. برخی مطالعات نیز نشان می‌دهد که استفاده از عصاره بره موم در جوجه‌های گوشتی

## منابع

- Alitaneh, S., N. Afzali, H. Sarir and H. NaeimiPour. 2017. Screening for effects of different levels of Ajowan (*Carum Copticum* L.) and Coriander (*Coriandrum Sativum* L.) seeds on performance and carcass characteristics of Ross broiler chickens. Research on Animal Production, 7(14): 21-32 (In Persian).
- Anderson, P. and S. Palmbaha. 1970. Effect of aqueous alcohol emulsion and oil extract of propolis on the growth of chicks. Akad Rak, 25: 124-146.
- Attia, Y.A., A.E.A. Al-Hamid, M.S. Ibrahim, M.A. Al-Harathi, F. Bovera and A.S.H. Elnaggar. 2014. Productive performance, biochemical and hematological traits of broiler chickens supplemented with propolis, bee pollen, and mannan oligosaccharides continuously or intermittently. Livestock Science, 164: 87-95.
- Aygun, A. 2016. The effects of *in-Ovo* injection of propolis on egg hatchability and starter live performance of Japanese quails. Brazilian Journal of Poultry Science, 18(2): 83-89.
- Azizzadeh, N.R., S. Forag, L. Mousa and M.A. Abo-Zaid. 1998. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. Microbios, 93: 43-54.
- Bhanja, S.K., A.B. Mandal, S.K. Agrawal, S. Majumdar and A. Bhattacharyya. 2007. Effect of *in Ovo* injection of vitamins on the chick weight and post-hatch growth performance in broiler chickens. Central Avian Research Institute, 243: 122-131.
- Bonomi, A., F. Marletto and F. Binachi. 1976. Propolis in feeds for laying hens. Avicoltura, 54: 43- 54.
- Çetin, E., S. Silici, N. Çetin and B.K. Güçlü. 2010. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. Poultry Science, 89: 1703-1708.
- Coskun I., H. Cayan, O. Yilmaz, A. Taskin, E. Tahtabacen and H.H. Samli. 2014. Effects of *in-ovo* pollen extract injection to fertile broiler eggs on hatchability and subsequent chick weight. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, 1: 485-489.
- Delhanty, J.J. and J.B. Salomon. 1966. The nature of antibodies to goat erythrocytes in the developing chicken. Journal of Immunology, 11: 103-113.

11. Dimov, V., N. Ivanovska, N. Manolova, V. Bankova, N. Nikolav and S. Popov. 1991. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti infectious protection and macrophage function. *Apidologie*, 22: 155-162.
12. Eyng, C., A.E. Murakami, T.C. Santos, T.G. Silveira, R.B. Pedroso and D.A. Lourenço. 2015. Immune responses in broiler chicks fed propolis extraction residue-supplemented diets. *Asian Austria Journal Animal Science*, 28: 135-142.
13. Ferket, P.R. 2006. Incubation and *in ovo* nutrition affects neonatal development, 33rd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference, September 26, 2006, Sheraton Imperial Hotel, North Carolina.
14. Gheisari, A., S. Shahrvand and N. Landy. 2017. Effect of ethanolic extract of propolis as an alternative to antibiotics as a growth promoter on broiler performance, serum biochemistry and immune responses. *Veterinary World*, 10: 249-254.
15. Giurgea, R., H. Popescu, C. Polinicencu and D. Copreanu. 1982. Effect of standardized propolis extracts on the central lymphatic system and the immunological reactions of chickens. *Clujul Medical*, 55: 72-75.
16. Goodwin, J.S. and D.R. Webb. 1980. Regulation of the immune response by prostaglandins. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 15: 106-122.
17. Haghighian Roudsari, M., M. Mehdizadeh, F. Bagherzadeh, H. Lotfelahian, F. Mousavi and A.H. Abolghasemi. 2005. Effect of oil-extracted peropolis on the performance of broiler chicks. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 18:57-65.
18. Hongzhuan, X., Z.H. Jing, M. Junying, L. Yajing, C.H. Yafang and H. Fuliang. 2011. Effect of Brazilian propolis on human umbilical vein endothelial cell apoptosis. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 78-85.
19. Hosseini Nashli, S.M., F. Moslemipur, S. Maghsoudlou and M. Kazemi Fard. 2017. The Effects of Saturea and Thyme Medicinal Plants with or without Enzyme on Performance, Blood Parameters in Broiler Chickens. *Research on Animal Production*, 8(16): 70-78 (In Persian).
20. Isakov, N., M. Feldmann and S. Segel. 2005. The mechanism of modulation of humoral immune responses after injection of mice with SRBC. *Journal Immunology*, 128: 969-975.
21. Kadam, M.M., M.R. Barekatin, S.K. Bhanja and P.A. Iji. 2013. Prospects of *in ovo* feeding and nutrient supplementation for poultry: the science and commercial applications-a review. *Journal of Science Food Agriculture*, 93: 3654-3661.
22. Khojasteh Shalmany, S. and M. Shivazad. 2006. The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chick performance. *International Journal Poultry Science*, 5: 84-88.
23. Kupczynski, R., M. Adamski, D. Falta and A. Roman. 2012. The efficiency of propolis in post-colostral dairy calves. *Archiv Tierzucht*, 55: 315-324.
24. Mehdizadeh, S.M., J. PorReza, A. Jokar, H. Lotfollahian and G. Tahmasebi. 2005. Effect of propolis on performance and immune response of laying hens. *Pajouhesh & Sazandegi*, 64: 85-89 (In Persian).
25. Mohammadzadeh, S., M. Shariatpanahi, M. Hamed, R. Ahmadvani, N. Samadi and S.N. Ostad. 2007. Chemical composition of oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chemistry*, 3: 1097-1103.
26. NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. Ed. Washington D.C: National Academy press.
27. Ohta, Y. and M.T. Kidd. 2001. Optimum site for *in ovo* propolis injection in broiler breeder eggs. *Poultry Science*, 80: 1425-1429.
28. Park, Y.K., J.F. Paredes-Guzman, C.L. Aguiar, S.M. Alencar and F.Y. Fujiwara. 2004. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 52: 1100-1103.
29. Pourreza, J. and A. Karimi. 1998. Incubation. Publications Department of Education and Agriculture Organization of Economic Research Kosar.
30. Quichanqiong, L. 1995. Study of the persistent period of immunity and un-activated propolis adjuvant vaccine against the egg drop syndrome in hen. *Veterinary Research Institute, CAAS, Lan Zou, China*.
31. Roodsari, M.H., M. Mehdizadeh, F.B. Kasmani, H. Lotfelahian, F. Mosavi and A.H. Abolghasemi. 2004. Effects of oil-extracted propolis on the performance of broiler chicks. *Agriculture Science Technology*, 18: 57-65.
32. SAS Institute. 2003. SAS User's Guide. Statistics. Version 9.1 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
33. Seven, I., T. Aksu and P. Tatli Seven. 2007. Propolis ve hayvan beslenmesinde kullanımı, *Istanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18: 79-84.
34. Sforcin, J.M. and V. Bankova. 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 253-260.
35. Uni, Z. 2014. The effects of *in-ovo* feeding [cited 2016 Jan 8]. Available from: <http://www.thepoultryfederation.com/public/userfiles/files/Zehava%20Uni%20Presentation.pdf>.
36. Uni, Z. and P.R. Ferket. 2003. Enhancement of development of oviparous species by *in ovo* feeding. US Regular Patent US 6,592,878. North Carolina State Univ., Raleigh and Yissum Res. Dev. Co. of the Hebrew Univ. Jerusalem, Jerusalem, Israel.
37. Uni, Z. and R.P. Ferket. 2004. Method for early nutrition and potential. *World's Poultry Science Journal*.
38. Uni, Z., P.R. Ferket, E. Tako and O. Kedar. 2005. *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poultry Science*, 84: 764-770.
39. Van Der Zip, W. 1980. Clostridial enteritis is an often underestimated problem. *International World Poultry*, 16: 42.
40. Zhai, S., L. Neumoan, M.A. Latour and P.Y. Hester. 2006. The effect of *in ovo* injection of propolis on hatch rate and body weight of white leghorns. *Poultry Science*, 85: 146-151.
41. Ziaran, H.R., H.R. Rahmani and J. Pourreza. 2005. Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broiler performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8: 1485-1490.

## The Effects of *in Ovo* Injection Oil-Extracted Propolis on Growth Performance and Immune Status of Broilers

Sahel Bakhshayesh<sup>1</sup>, Jamal Seifdavati<sup>2</sup>, Sayyad Seifzadeh<sup>3</sup>, Farzad Mirzaei Aghjeh Gheshlagh<sup>4</sup>, Hosein Abdi Benmar<sup>4</sup> and Vahid Vahedi<sup>5</sup>

1, 3, 4 and 5- Graduated M.Sc. Student, PhD Student in Animal Nutrition, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili

Received: May 17, 2017

Accepted: February 21, 2018

### Abstract

The purpose of this study was to determine the effects of *in-ovo* injection of oil-extracted propolis on the growth performance and immune status of broiler chicks (Ross 308) after hatching. A total of 324 fresh hatching eggs were randomly distributed into six treatment groups of 54 eggs per treatment with three replicates of 18 eggs each. Treatments included sham as negative control (without injection), positive control with sterile water injection, and *in ovo* injection 4 levels (150, 300, 600 and 1200 ppm) of oil- extracted propolis solution prepared in 60 ml of sterile water, one ml into site of the embryo in sac of amniotic fluid into eggs at the 15<sup>th</sup> day of incubation. The results showed that propolis extract injected into eggs at day 15 of incubation did not show effect on hatchability, body weight and weight of the hatched chicks hatched egg weight ( $p>0.05$ ). But in eggs, which injected 1200 ppm of oil-extracted propolis, the ratio of the weight of hatched chicks to egg weight was more numerically than the control group. Ovo injection levels of oil-extracted propolis were no significant on feed intake, body weight, average daily gain and feed conversion ratio in total rearing periods among treatments. The results obtained of the antibodies produced by the injection of SRBC at 28 days showed that groups receiving levels 300, 600 and 1200 ppm oil-extracted propolis and positive control had a tendency to decrease in antibodies produced in compared with the negative control group ( $P<0.06$ ). While *in ovo* injection of 150 ppm of oil-extracted propolis increased the antibody titer compared with other treatments ( $p<0.05$ ). Also the results of titer antibodies produced by the injection of SRBC in 35 days also showed the effect of decreasing in propolis extract injected groups compared with the control group ( $p<0.05$ ). The results show that *in-ovo* injection of propolis oil extract on day 15 of incubation fertilized eggs could not improve growth performance and immune system of broiler chickens.

**Keywords:** Propolis extract, Growth performance, Blood cells, Immune response, Broiler chickens