



"مقاله پژوهشی"

تأثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر رشد جنینی و کیفیت جوجه های گوشتی (سویه راس ۳۰۸)

یاسر رضائیان<sup>۱</sup>، زربخت انصاری پیرسرائی<sup>۲</sup>، پوریا بی پروا<sup>۳</sup> و حمید دلدار<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: z.ansari@sanru.ac.ir)  
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
۴- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰  
صفحه: ۹۶ تا ۱۰۳

چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** عناصر معدنی کم مصرف، از جمله آهن، برای رشد و نمو جنینی و رشد پس از تفریح ضروری است. لذا برای رسیدن به بهترین کیفیت رشد جنینی و جوجه، بررسی های این مواد معدنی مفید است. پژوهش کنونی با هدف بررسی تاثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده، بر رشد جنینی، نرخ جوجه درآوری، کیفیت جوجه و ویژگی های لاشه انجام شد.

**مواد و روش ها:** در پژوهش حاضر، ۵۰۰ تخم مرغ سویه راس ۳۰۸، پس از شماره گذاری و وزن کشی، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، پنج تکرار و ۲۵ تخم مرغ در هر تکرار قرار گرفت. تیمارها عبارت بودند از: ۱- شاهد اول (Non-injected control): بدون تزریق ۲- شاهد دوم (Sham control): تزریق مخلوط اتانول، آسکوربیک اسید و نشاسته (حلال نانو آهن) ۳- تزریق مقدار ۲۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی ۴- تزریق مقدار ۵۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی. حجم تزریق ۵۰ میکرولیتر و روز تزریق روز صفر جنینی بود و درون زرده انجام شد. سپس تخم مرغ ها در دستگاه جوجه کشی (با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی گراد و رطوبت ۶۱ درصد) قرار داده شدند. در پایان دوره جوجه کشی، درصد تفریح و کیفیت جوجه بررسی شد. همچنین تخم مرغ های نابارور و تخم مرغ های با جنین مرده برای بررسی گامه های مرگ و میر جنینی به آزمایشگاه منتقل و شکسته شدند. جوجه های تفریح شده به مزرعه پرورشی منتقل شدند و پس از هفت روز پرورش، وزن کشی شده و خون گیری از قلب آن ها برای اندازه گیری برخی فراسنج های خونی انجام شد. از هر تیمار نه پرنده برای بررسی ویژگی های لاشه (ران+ساق، سینه، جگر، دوازدهم، ژژنوم، ایلیوم و سکوم) انتخاب و کشتار شدند. واکاوی داده ها با رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که تزریق نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده نرخ جوجه درآوری را کاهش داد، ولی تاثیری بر کیفیت جوجه نداشت و وزن جگر و دوازدهم نیز افزایش معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ). غلظت گلوکز خون نسبت به گروه های شاهد افزایش معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ). تغییر معنی داری در متغیرهای دیگر وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** با توجه به یافته های این پژوهش پیشنهاد می شود تا غلظت های کمتر از ۲۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم تزریق و بررسی شود و این نتایج می تواند دلیلی بر زیاد بودن غلظت های تزریقی و اثر زیان بار آن ها باشد.

**واژه های کلیدی:** تزریق درون تخم مرغی، رشد جنینی و کیفیت جوجه، نانواهن صفر ظرفیتی

مقدمه

رشد جوجه پیش از تغذیه خارجی به عناصر ماده مغذی جذب شده از زرده ی باقی مانده، وابسته است. این زرده در حفره شکمی قرار دارد و اولین منبع ماده مغذی برای جوجه های از تخم خارج شده می باشد (۲۵). با توجه به پیشرفت های ژنتیکی و سرعت رشد در صنعت طیور، مقدار مواد مغذی مورد نیاز در کیسه زرده برای رشد جنین تا زمان خروج آن محدود می باشد؛ اگرچه جوجه های گوشتی امکان استفاده از مواد مغذی مورد نیاز در کیسه زرده را دارند، اما طی چند روز اول پس از تفریح، به دلیل ناکافی بودن مواد مورد نیاز و نیز کامل نشدن سیستم ایمنی، تلفات زیاد در جوجه های یک روزه، رشد پایین در هفته اول و کاهش مقاومت در برابر بیماری ها رخ می دهد (۱۱). از طرفی در شرایط عملی، اغلب جوجه ها تا ۴۸ ساعت پس از تفریح به آب و غذا دسترسی ندارند. این محدودیت ها را می توان به وسیله وارد نمودن مواد مغذی به داخل تخم پرنده گان از طریق تزریق مواد مغذی درون تخم مرغ جبران نمود (۱۱). در رشد جنینی عوامل مختلفی می توانند تاثیرگذار باشند که یکی از مهم ترین آن ها مواد معدنی می باشد (۱۶). اهمیت عناصر معدنی کم مصرف مانند آهن برای رشد جنین جوجه بررسی شده و مورد تایید

قرار گرفته است (۲۶). آهن یک عنصر ضروری برای رشد جوجه های گوشتی می باشد، که در سوخت و ساز انرژی، ساخت نوروترانسمیتر و نیز در ساخت DNA، کلاژن و اسیدهای صفراوی دخالت می کند (۱۵). فناوری نانو حوزه نسبتاً جدید و در حال تکامل است. نانومواد عموماً رفتاری متفاوت نسبت به هم نوع خود در مقیاس بزرگ تر از نانو دارند. در مقیاس نانو، مساحت سطح ذرات بسیار افزایش می یابد که می تواند موجب واکنش پذیری بیش تر مواد شود، چرا که در این شرایط، اتم ها سطح کنترل خواص فیزیکی و شیمیایی ماده را تحت الشعاع قرار می دهند (۵). نانوذرات خانواده آهن دارای کاربردهای زیست پزشکی زیادی از قبیل بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی و گرمادرمانی سلول های سرطانی می باشند (۳۰). در این طبقه بندی نانوذرات آهن صفر ظرفیتی با توجه به این که نیمه عمر بسیار کمی نسبت به دیگر خانواده نانوذرات آهن دارند اثربخشی آنی داشته و بعد از گذشت زمان به گونه های بی خطر و مفید  $Fe^{2+}$  و  $Fe^{3+}$  تبدیل می شوند که از نظر تغذیه ای اهمیت به سزایی خواهد داشت (۱۰، ۲). نانوذرات آهن اثر سمی کمتری نسبت به سایر نمک های غیرآلی آهن دارند (۱۰). این پژوهش با هدف بررسی تاثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی

بهینه‌شده بر بهبود رشد جنینی و کیفیت جوجه‌های تفریح شده از این تخم‌مرغ‌ها انجام شد.

## مواد و روش‌ها جوجه‌کشی

به‌منظور انجام پیش‌آزمایش، دویست عدد تخم‌مرغ سویه راس ۳۰۸ از یک جوجه‌کشی محلی برای تعیین بهترین غلظت‌ها و زمان تزریق تهیه شد. با توجه به پیش‌آزمایش، زمان تزریق، پیش از گذاشتن در دستگاه جوجه‌کشی و مقدار نانواهن صفر ظرفیتی تزریقی به این صورت در نظر گرفته شد: ۱- شاهد یک (بدون تزریق) ۲- شاهد دو (شاهد شم): تزریق مخلوط اتانول، آسکوربیک‌اسید و نشاسته (حلال نانوذرات آهن) (۵۰ میکرولیتر)، ۳- تزریق مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بهینه‌شده (۵۰ میکرولیتر) و ۴- تزریق مقدار ۲۵۰۰ میلی‌گرم نانوذرات آهن صفر ظرفیتی بهینه‌شده (۵۰ میکرولیتر). در شروع آزمایش اصلی از ۵۰۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار سویه راس ۳۰۸ استفاده شد. تخم‌مرغ‌ها پس از ثبت شماره، وزن‌کشی شدند ( $56/23 \pm 1/04$ )؛ سپس با رعایت اصول تزریق، با استفاده از سرسوزن گیج ۲۵ منفذی در پوسته در ناحیه باریک تخم‌مرغ ایجاد و آب بدون یون و محلول نانواهن صفر ظرفیتی، در زرده تزریق و سپس منفذ ایجاد شده با چسب پارافینی، مسدود شد. در نهایت تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی (جیمزوی مدل میکروپی تی ۱۰۰) با دما و رطوبت نسبی به ترتیب برای روزهای ۱-۱۸، ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و ۶۱ درصد و برای روزهای ۱۹-۲۱، ۳۶/۰۷ درجه سانتی‌گراد و ۶۷ درصد منتقل شد. پیش از انتقال جوجه‌ها به هچر، سبدهای هچری بر اساس تیمارها و تکرارها توری‌بندی شدند به طوری که از هر تیمار در هر سبد وجود داشت. سپس در روز ۱۸ تخم‌مرغ‌ها در سبدها قرار داده و به هچر منتقل شدند. پس از پایان زمان هچ، تخم‌مرغ‌های هچ نشده بررسی شده تا تخم‌های بی‌نطفه مشخص شوند. پس از تفریح جوجه‌ها، ابتدا جوجه‌ها در هر تکرار شمارش شدند و پس از ثبت شماره‌ی پا و اندازه‌گیری وزن آن‌ها، به مدت هفت روز به سالن پرورش دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، منتقل شدند. طی پرورش، آب و خوراک پرندگان بر طبق برنامه استاندارد سویه راس ۳۰۸ بود.

## روش تهیه نانواهن صفر ظرفیتی بهینه‌شده

برای تهیه نانواهن صفر ظرفیتی ابتدا مقدار ۰/۸۸ گرم  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ، ۰/۸۱ گرم آسکوربیک‌اسید (ویتامین C) و ۱۵ میلی‌لیتر اتانول را در بالن ۵۰ میلی‌لیتری توسط آب دیونیزه به حجم مورد نظر رسانیده و از سوی دیگر ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد نشاسته که pH آن در ۱۰ تنظیم شده بود (اضافه شدن ۰/۲ گرم سود (NaOH) به محلول نشاسته) تهیه شد. سپس از این محلول، قطره قطره به ۲۵ میلی‌لیتر از محلول آهن تهیه شده اضافه شد، در حالی که محلول آهن به وسیله همزن مغناطیسی به شدت هم می‌خورد. پس از اضافه شدن تمام محلول نشاسته، رنگ محلول آهن از بی‌رنگ به سیاه

تغییر کرد که نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات صفر ظرفیتی بود. به منظور حفظ پایداری نانوذرات تشکیل شده، ۱۰ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۰/۵ درصد قلیایی با pH=10 (محلول توسط NaOH قلیایی شده است)، قطره قطره به ظرف واکنش اضافه شد. به منظور اطمینان از کامل شدن فرآیند تشکیل نانوذرات آهن، به مدت ۳۰ دقیقه نمونه هم زده شد (۲۳).

## بررسی فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های لاشه

به منظور سنجش غلظت‌های گلوکز، تری‌گلیسرید، HDL و LDL، در روز هفت پرورش پس از شش ساعت گرسنگی، وزن‌کشی جوجه‌ها انجام شده و از هر تیمار، نه جوجه برای خون‌گیری از قلب انتخاب شدند. نمونه‌ها در لوله‌های دارای EDTA ریخته شده و با زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس پلاسماهای نمونه‌های خون جدا شد (سانتریفیوژ شدن به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۳۰۰۰). برای اندازه‌گیری غلظت‌های فراسنجه‌های خونی، شامل گلوکز، تری‌گلیسرید، HDL و LDL پلاسما، از کیت‌های تشخیص شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (Automatic biochemistry analyzer BS-120) استفاده شد. پس از همچنین از هر تیمار، نه جوجه انتخاب و به روش جابه‌جایی مهره گردن کشتار شدند. قطعات لاشه شامل ران+ساق، سینه، جگر، دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم، سکوم جدا و وزن آن‌ها با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند.

## بررسی درصد تفریح و کیفیت جوجه‌ها

در روز تولد تعداد جوجه‌ها در هر تکرار شمارش شدند. سپس با شکستن تخم‌مرغ‌های تفریح نشده، گامه مرگومیر جنینی تخم‌مرغ‌های بارور با استفاده از روش تونا و همکاران (۲۷) بررسی و تخم‌مرغ‌های نابارور هم مشخص شدند. درصد مرگومیر جنینی و درصد جوجه‌دهی بر اساس تخم‌مرغ‌هایی که در دستگاه (ستری) قرار داده شدند و تخم‌مرغ‌های بارور از فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$100 \times \frac{\text{تعداد جوجه‌های تفریح شده}}{\text{تعداد تخم‌مرغ‌های قرار داده شده در دستگاه}} = \text{درصد جوجه‌دهی بر اساس تخم‌مرغ‌های ستری}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد جوجه‌های تفریح شده}}{\text{تعداد تخم‌مرغ‌های بارور}} = \text{درصد جوجه‌دهی بر اساس تخم‌مرغ‌های بارور}$$

$$100 \times \frac{\text{جنین یا جوجه تلف شده در هر گامه}}{\text{تعداد تخم‌مرغ‌های قرار داده شده در دستگاه}} = \text{درصد مرگ و میر جنینی}$$

برای تعیین کیفیت جوجه‌های تفریح شده شاخص‌هایی مانند فعالیت جوجه، وضعیت پوشش بدنی، ورم شکمی، وضعیت ناف، چشم و پا به طور چشمی ارزیابی شد و بر اساس پژوهش تونا و همکاران (۲۷) رتبه‌بندی انجام شد.

## مدل آماری و واکاوی داده‌ها

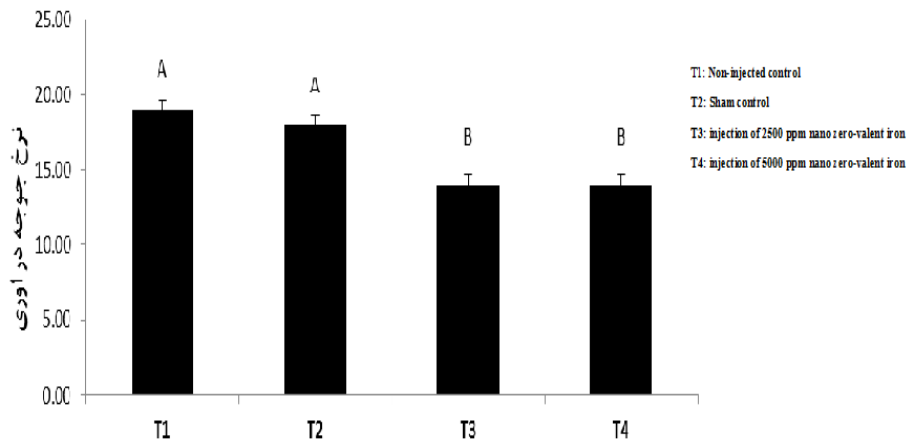
این پژوهش با استفاده از ۵۰۰ عدد تخم‌مرغ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار و در هر تکرار ۲۵ مشاهده انجام شد. در نهایت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SAS ۲۰۰۳) رویه GLM انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و سطح احتمال (۰/۰۵) انجام شد. همچنین برای آنالیز آماری کیفیت جوجه‌های تفریح شده روش ویلمسن و همکاران (۲۹) به کار گرفته شد.

## نتایج و بحث

## درصد تفریخ جوجه

اثر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر جوجه درآوری، در میان گروه های آزمایشی تخم مرغ های سویه راس ۳۰۸، در نمودار ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج، درصد تفریخ جوجه تحت تاثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی قرار گرفت و کاهش معنی داری در تیمارهای آزمایشی نشان داده شد ( $p < 0.05$ ). پژوهشگران دیگر نیز کاهش معنی داری را با تزریق نانو اکسید روی درون تخم مرغی در درصد تفریخ جوجه به دست آوردند و تاثیر آن را به اثر تزریق مرتبط دانستند (۱۳). فرآیند تفریخ به طور عمده به انباشت انرژی در تخم مرغ در دوره پایانی جوجه کشی وابسته است. برآورد شده است که زرده تخم مرغ دارای حدود ۳۳ درصد لیپید و کمتر از یک درصد کربوهیدرات است، که بیش از ۹۰ درصد نیاز انرژی رویان را تامین می کند. در اولین هفته دوره جوجه کشی، گلوکز منبع اصلی انرژی برای رشد جنین می باشد و نسبت زیادی از کربوهیدرات ها در این گامه استفاده می شود. در گامه های بعدی دوره جوجه کشی، اسیدهای چرب لیپید زرده منبع غالب انرژی جنین می باشد (۳۱). بر اساس پژوهش های پیشین، درصد تفریخ و وزن بدن جوجه های تفریخ شده تحت تاثیر نوع سوسترا و محل تزریق مواد مغذی در تخم مرغ قرار دارد (۱۷). تزریق درون تخم مرغی کمپلکس Vit D<sub>3</sub> و Ca هیچ تاثیر منفی بر درصد تفریخ نداشت. اما تزریق درون تخم مرغی (OH)-D<sub>3</sub> 25 درصد تفریخ را در تخم جوجه های گوشتی بدون اثرات مضر بر عملکرد رشد بهبود بخشید (۴). درصد تفریخ در تخم مرغ های تزریق شده با ۰/۵ میلی لیتر آب استریل دیونیزه

حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم گلوکز در دوزهای مختلف تفاوت معنی داری نشان نداد. در مقابل در این بررسی، تزریق به درون آلبومین تخم مرغ سبب کاهش معنی داری در درصد تفریخ شد. ممکن است این کاهش به دلیل تزریق به درون آلبومین باشد. دلیل دیگر ممکن است حفره آلژیک زیر کیسه هوایی باشد که باعث توقف تنفس جنین در حال رشد و مرگ آن می شود (۲۰). تزریق محلول کربوهیدرات و اسید آمینه در روز ۱۸ جنینی به کیسه آمینون تخم مرغ های بارور حاصل از مادر گوشتی در سن ۴۲ هفتگی در مقایسه با گروه شاهد، سبب کاهش نرخ جوجه درآوری شد (۱). با توجه به گزارش پژوهشگران (۱۷)، تزریق درون تخم مرغی مواد مختلف با دوزهای متفاوت (۱- شاهد بدون تزریق ۲- تزریق محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد ۳- تزریق ۲۵ ppm سولفات آهن ۴- تزریق ۳۰ ppm نانوذرات آهن ۵- تزریق ۱۰۰ ppm متیونین مایع ۶- تزریق ۱۵۰ ppm کلیت آهن-متیونین مایع ۷- تزریق ۱۰۰ ppm نانوذرات آهن-متیونین مایع ۸- افزودن ۰/۰۲ گرم در گیلوگرم نانوذرات آهن در جیره بعد از تفریخ)، نتایج متفاوتی را در درصد تفریخ جوجه نشان داد. با توجه به نتایج به دست آمده تزریق درون تخم مرغی سبب کاهش معنی داری در درصد جوجه درآوری شد. در واقع بیشترین جوجه درآوری را تیمارهای یک و دو و سپس تیمار هفت داشتند که تا حد زیادی ناشی از وزن بیش تر تخم مرغ در روز اول جوجه کشی است. در واقع زمانی که نانوذرات آهن با متیونین مایع ترکیب می شوند اثر هم کوشی آن ها افزایش یافته است (۱). نتایج این مطالعه با پژوهش دیگر که در آن تزریق نانوذرات آهن باعث کاهش جوجه درآوری نسبت به گروه شاهد شد، مطابق است (۱۷).

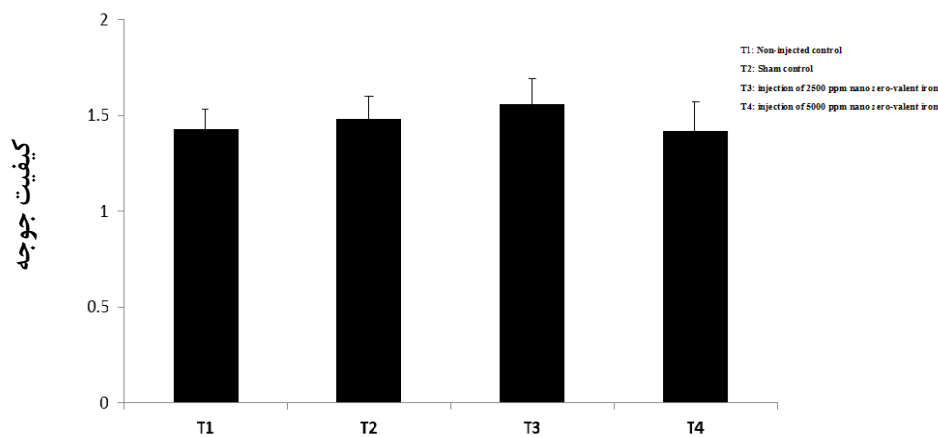


شکل ۱- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر نرخ جوجه درآوری  
Figure 1. Effect of experimental treatments on hatching rate

## کیفیت جوجه

تاثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر کیفیت جوجه، در بین گروه های آزمایشی تخم مرغ های سویه راس ۳۰۸، در نمودار ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج، کیفیت جوجه تحت تاثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی قرار نگرفت. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش های پیشین که تزریق درون تخم مرغی آسکوربیک

اسید (۲۴)، نیتريت سدیم (۷)، بوتیریک اسید (۱۸) و عصاره گرده کاج (۲۱) اثری بر کیفیت جوجه های تفریخ شده نداشت، مطابقت داشت. پژوهشگران نشان دادند که تزریق نانو اکسید روی منجر به افزایش پاسخ ایمنی سلولی و هومورال و همچنین افزایش وزن طحال در جوجه های گوشتی شد که نشان از افزایش و تقویت سیستم ایمنی در این جوجه ها داشت (۱۳).



شکل ۲- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت جوجه  
Figure 2. Effect of experimental treatments on chicken quality

این جوجه‌ها شد (۷). پژوهشگران گزارش کردند، نگاه‌داری تعادل گلوکز در خون جنین در طول دوره پایانی جوجه‌کشی و وابستگی زیادی به گلوکز ذخیره شده در جگر دارد که به طور عمده در شکل گلیکوژن است. همچنین گلوکز می‌تواند به وسیله گلوکونئوز از پروتئین‌های آلبومین و سپس از ماهیچه‌های جنین تولید شود. ناکافی بودن گلیکوژن موجود در جگر و پروتئین‌های آلبومین، جنین را مجبور به استفاده از پروتئین‌های ماهیچه‌ای برای تولید گلوکز می‌کند. به همین دلایل رشد جنین در اواخر دوره جوجه‌کشی محدود خواهد بود (۲۸). از آنجایی که گلوکز اولین و مهم‌ترین ماده مغذی برای رشد و نمو جنین است و با توجه به اینکه مقدار کربوهیدرات داخل تخم‌مرغ کم بوده و حدود یک درصد تخم‌مرغ را تشکیل می‌دهد، در نتیجه فعالیت چرخه گلیکولیز نسبت به اکسیداسیون چربی در زمان کمبود اکسیژن برای تنفس جنینی نسبت به تنفس ریوی ضروری‌تر است (۱). در نتیجه با توجه به گزارش‌های ذکر شده، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت گلوکز خون احتمالاً ناشی از افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوز در پایان دوره جنینی باشد.

### فرآیندهای خونی

اثر تزریق درون تخم‌مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر فرآیندهای خونی، در میان گروه‌های آزمایشی تخم‌مرغ‌های سویه راس ۳۰۸، در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، غلظت گلوکز پلاسما تحت تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی نانواهن صفر ظرفیتی (۵۰۰۰ ppm) قرار گرفت و در مقایسه با تیمار شاهد دوم (شم) و تزریق درون تخم‌مرغی نانواهن صفر ظرفیتی (۲۵۰۰ ppm)، بیشینه بود ( $p < 0.05$ ). اما سایر فرآیندهای خونی (تری‌گلیسرید، HDL و LDL) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ( $p > 0.05$ ). کم‌ترین غلظت گلوکز در گروه شاهد شم و بیشترین غلظت در تیمار تزریق شده با دوز ۲۵۰۰ ppm نانو آهن صفر ظرفیتی دیده شد. افزایش قند خون در اواخر دوران جنینی ممکن است در اثر افزایش گلوکاگون و افزایش فرآیند گلیکوژنولیز باشد (۱). کاهش پروتئین خون در جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با نیتريت ناشی از تبدیل پروتئین‌های بافتی و خون به گلوکز برای تامین انرژی مورد نیاز هاپوکسیای ایجاد شده باشد که حتی موجب کاهش وزن

جدول ۱- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فرآیندهای خونی

Table 1. Effect of experimental treatments on blood parameters

p-value	تزریق مقدار ۵۰۰۰ ppm نانوآهن صفر	تزریق مقدار ۲۵۰۰ ppm نانو ذرات آهن صفر	شاهد دوم	شاهد اول	فرآیندها
<0.01	۲۳۳/۵±۸۷/۶۷ <sup>ab</sup>	۲۰۴/۷±۶۲/۰ <sup>b</sup>	۲۰۱/۶±۶۶/۲۰ <sup>b</sup>	۲۳۱/۶±۶۶/۰۵ <sup>ab</sup>	گلوکز
0.08	۴۰/۸±۵۰/۲۳	۴۱/۲±۱۲/۲۴	۳۴/۰±۴۴/۴۱	۳۷/۵±۶۶/۱۲	تری‌گلیسرید
0.97	۶۴/۳±۳۰/۱۲	۶۵/۲±۴۹/۲۶	۶۶/۲±۳۵/۳۹	۶۵/۳±۳۳/۹۸	کلسترول-لیپوپروتئین با چگالی زیاد
0.86	۲۰۴/۷±۳۷/۲۴	۲۰۲/۱±۶۲/۰۷	۲۰۵/۷±۴۴/۸۰	۱۹۵/۱۰±۷۷/۰۵	کلسترول
0.97	۱۳۱/۸±۹۸/۲۹	۱۲۸/۹±۹۱/۸۴	۱۳۲/۹±۲۰/۳۸	۱۲۶/۸±۸۶/۴۱	کلسترول-لیپوپروتئین با چگالی کم

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمستتر، دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $p < 0.05$ ).

### ویژگی‌های لاشه

بهینه شده قرار گرفت و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری دیده شد ( $p < 0.05$ ). اما سایر صفات لاشه (وزن‌های ران+ساق، سینه، ژژنوم، ایلوم، سکوم و سر) تحت تاثیر قرار نگرفتند. کم‌ترین وزن جگر در تیمار شاهد و بیش‌ترین وزن آن در تیمار تزریق شده با دوز ۲۵۰۰ ppm نانو آهن صفر ظرفیتی دیده شد. کم‌ترین وزن دوازدهه در تیمار شاهد و بیش‌ترین

نتایج حاصل از تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر صفات لاشه، در بین گروه‌های آزمایشی تخم‌مرغ‌های سویه راس ۳۰۸، در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج گزارش شده، وزن جگر و وزن دوازدهه تحت تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی نانوآهن صفر ظرفیتی

بافتی طی مصرف زیاد و طولانی آهن بیش تر از حد باشد، می تواند موجب آسیب های پراکسیداتیو در کبد شود. مکانیسم اساسی بیماری زایی در مسمومیت آهن آسیب پراکسیداتیو چربی های غشای سلولی است و میزان آسیب بستگی به وضعیت آنتی اکسیدان های بدن به خصوص ویتامین E دارد. به دلیل این که افزایش و کاهش آهن سلولی هر دو موجب مرگ سلولی می شوند، سطح آهن فعال باید به دقت کنترل و محدود شود. بیش تر آثار پاتولوژیک افزایش عمومی آهن ناشی از تجمع آهن در بافت ها به ویژه بافت جگر است (۶). رادیکال های آزاد به غشای سلول آسیب می رسانند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و شاخص های تنش اکسیداتیو موجب التهاب بافت و مرگ سلول ها می شوند (۱۴). در مطالعه ای مشاهده شد که با تجویز اکسید آهن برخی از فاکتورهای تنش اکسیداتیو همانند مالون دی آلدئید و پروتئین کربونیل در کبد تغییر می کند و نانو اکسید آهن بیشتر از اکسید آهن معمولی توانست مقدار مالون دی آلدئید کبد را افزایش دهد. در مجموع می توان گفت با توجه به دوز مصرفی و دوره کوتاه مدت تجویز در مطالعه حاضر تغییرات ایجاد شده توسط نانو اکسید آهن تا حدودی بیانگر افزایش تنش اکسیداتیو در کبد بوده و مستعد کننده آترواسکلروز می باشد (۹).

در تحقیقی که روی طیور انجام شده بود، استفاده از نانو اکسید آهن در جیره جوجه های گوشتی، باعث افزایش وزن اجزای لاشه به ویژه جگر و خوراک مصرفی در تیمارهای مکمل در مقایسه با تیمار شاهد شد. در آزمایشی مقدار آهن مورد استفاده در جیره پایه برای دستیابی به سطح بیشینه تولید دام کافی نبود و به صورت استفاده از مکمل آهن به خصوص به صورت نانو اکسید آهن سبب بهبود عملکرد و افزایش وزن اجزای لاشه بره ها شد (۱۰).

با توجه به پژوهش های پیشین می توان گفت، افزایش وزن جگر در تیمارهای تحت تاثیر نانواهن صفر ظرفیتی به دلیل افزایش اتساع عروقی، پرخونی، افزایش تعداد و حجم سلول های جگر (۵) و همچنین انباشت کلسترول زرده به جگر جنین در اواخر جنینی (۱۲) باشد؛ همچنین افزایش وزن دوازدهم می تواند در اثر افزایش تکثیر سلول ها و طول پرزهای آن باشد (۱). اما سایر صفات لاشه ممکن است به دلیل حذف سریع نانوذرات آهن از خون توسط سلول های جگر و عدم نفوذ آن ها به درون بافت ها تحت تاثیر قرار نگرفتند (۵).

### نتیجه گیری کلی

به طور کلی از یافته های این پژوهش نشان داد که تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده تاثیری بر کیفیت جوجه نداشت و غلظت های ppm ۲۵۰۰ و ppm ۵۰۰۰، وزن جگر و دوازدهم را افزایش و نرخ جوجه درآوری را کاهش داد که می تواند دلیلی بر زیاد بودن غلظت های تزریقی و اثر سوء آن ها باشد.

وزن آن در تیمار تزریق شده با دوز ppm ۵۰۰۰ دیده شد. نانوذرات آهن به دلیل بالا بودن سطح فعالیت و نفوذ پذیری به درون سلول ها، می توانند به شیوه فعالی سوخت و ساز درون سلولی را با تحریک فرآیندهای مختلف، تحت تاثیر قرار دهند (۱۰). مهم ترین علت عدم تاثیرات سمی نانوذرات اکسید آهن بر جانوران، حذف سریع آن ها از جریان خون توسط ماکروفاژهای موجود در جگر، طحال و گره های لنفاوی است که البته این حذف سریع پس از پدیده اپسونیزاسیون (تجمع پروتئین های خون در اطراف نانوذرات) رخ می دهد، که باعث تحریک سیستم ایمنی و دفع نانوذرات می شود. بنابراین بسیاری از نانوذرات تزریق شده به سرعت از جریان خون خارج شده و فقط مقدار کمی از آن ها فرصت نفوذ و ورود به اندام های مختلف بدن را پیدا می کنند و در نتیجه اثرات جانبی چندانی ایجاد نمی کنند (۵). پژوهشگران نشان داد که تزریق نانو آهن معدنی و آلی به کیسه هوای تخم مرغ ها در روز هفتم انکوباسیون منجر به افزایش وزن طحال، بورس فایبرسیوس و تیموس شد و در نهایت با افزایش دادن غلظت ایمونوگلوبولین های G و M سیستم ایمنی جوجه ها را بهبود بخشید (۳). تاثیر غلظت های مختلف نانوذرات اکسید آهن و روی بر بافت شناسی و ریخت شناسی جگر و عضله ماهی قزل آلی رنگین کمان انجام شد، در نمونه های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره اکسید آهن، جگر دچار لیپیدوز جگر، اتساع عروقی در فضای پورت و پرخونی شد. در نمونه های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم نانوذره روی، افزایش حجم سلول های جگری و سلول های بیگانه خوار کویفر، همچنین بهم ریختگی دسته های هپاتوسیت ها و پرخونی در جگر دیده شد (۵). در بررسی های پیشین نشان داده شده است که در اواخر دوره جنینی و در هنگام خروج جوجه از تخم، کلسترول زرده در جگر انباشته شده و موجب افزایش اندازه و رشد جگر می شود (۱۲). تزریق گلو تامین، دکستروز و مخلوط ساکارز و دکستروز به کیسه آمینون در انتهای دوره جنینی سبب افزایش طول پرزهای ژژنوم شد (۸). تزریق درون تخم مرغی کربوهیدرات ها ممکن است به دلیل افزایش میزان تکثیر سلول های روده موجب افزایش معنی دار طول پرزهای روده شود (۱).

آهن فراوان ترین فلز موجود در بدن است. این عنصر به عنوان بخشی از هموگلوبین، میوگلوبین، سیتوکروم، کاتالاز، پراکسیداز، گزانتین اکسیداز و آلفا گلیسرو فسفودئیدروژناز شناخته شده است. فعال شدن آهن فرو با پراکسید هیدروژن یا پراکسید های لیپیدی موجب تولید آهن فریک، OH و رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل یا رادیکال های لیپیدی می شود. این رادیکال ها منجر به صدمه به غشای لیپیدی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می شوند. آهن آزاد به دلیل توان اکسیدکنندگی و همچنین توان تولید رادیکال های آزاد اکسیژن به وسیله واکنش هابر-ویس و به دلیل اینکه با پروتئین ها پیوندهای محکمی ایجاد می کند که موجب تجمع آن می شود، برای سلول ها سمی است. هنگامی که ذخایر آهن

جدول ۲- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های لاشه

Table 2. Effect of experimental treatments on carcass characteristics

p-value	تزریق مقدار ۵۰۰۰ ppm نانوذرات آهن صفر	تزریق مقدار ۲۵۰۰ ppm نانوذرات آهن صفر	شاهد دوم	شاهد اول	فرآیندها
۰/۳۸	۱۹/۱۲±۲۲/۴۹	۱۸۷/۶±۲۸/۳۹	۱۸۱/۳±۰۳/۰۱	۱۸۷/۳±۹۴/۷۹	وزن لاشه
۰/۴۱	۳۴/۰±۱۷/۸۸	۳۲/۱±۳۸/۲۰	۳۲/۱±۴۹/۱۱	۳۴/۰±۴۹/۹۲	وزن سینه
<۰/۰۱	۱۲/۰±۴۲/۱۵ <sup>a</sup>	۱۱/۰±۷۴/۳۱ <sup>a</sup>	۷/۰±۲۱/۵۳ <sup>d</sup>	۷/۰±۱۴/۴۷ <sup>b</sup>	وزن جگر
۰/۲۸	۲۹/۰±۵۰/۳۴	۲۸/۱±۶۰/۲۳	۲۷/۰±۷۷/۵۴	۳۰/۱±۰۸/۰۲	وزن ساق+ران
۰/۰۳	۴/۰±۴۸/۱۰ <sup>d</sup>	۴/۰±۷۰/۱۷ <sup>a</sup>	۴/۰±۳۰/۱۴ <sup>d</sup>	۴/۰±۰۱/۱۷ <sup>d</sup>	وزن دوازدهم
۰/۳۲	۵/۰±۵۰/۳۹	۵/۰±۱۸/۳۱	۴/۰±۸۰/۲۱	۴/۰±۹۹/۱۹	وزن رزوم
۰/۱۸	۳/۰±۴۷/۲۲	۳/۰±۴۶/۲۶	۳/۰±۰۶/۲۳	۲/۰±۷۷/۲۸	وزن ایبوم
۰/۲۶	۱/۰±۸۷/۱۷	۱/۰±۹۸/۱۲	۱/۰±۵۱/۱۳	۱/۰±۷۷/۱۶	وزن سکوم
۰/۶۴	۱۲/۰±۳۰/۱۲	۱۱/۰±۷۷/۳۱	۱۱/۰±۷۱/۲۴	۱۱/۰±۹۱/۳۱	وزن سر

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک، دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p&lt;۰/۰۵).

## منابع

- Amiri, N., M. Salarmoini and S. Tasharofi. 2015. Effect of in ovo injection of different nutrients and 36 h starvation after hatch on hatchability, blood metabolites, intestinal morphology and growth performance of broiler chicks. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7: 162-172 (In Persian).
- Droge, W. 2002. Free radicals in physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82: 47-95.
- Gad, G.G. and E.A. Abdalla. 2019. Physiological study on nano particles to improve immune response and performance of broiler chicken. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 22: 635-646.
- Ghobadi, N. and H.R.H. Matin. 2015. Response of broiler chicks to in ovo injection of calcium, phosphorus, and vitamin d complex (cadphos). *Global Journal of Animal Scientific Research*, 3: 544-549.
- Hajirahimi, A., F. Farokhi and A. Tukmechi. 2014. Evaluate effects of Iron oxide and zinc nanoparticles on the liver and muscles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Research*, 28: 293-306.
- Hentze, M.W. and M.V. Muckenthaler. 2004. Balancing acts molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, 117: 285-97.
- Mohamadi, E., M. Daneshyar, F. Farokhi and E. Alizadeh. 2012. Evaluation of different sodium nitrite levels in ovo injection on embryo growth and development, and some blood Metabolites on newly hatched chicks. *Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 97: 52-59 (In Persian).
- Mousavi, S.N., M. Shivazad, M. Chamani, A. Sadeghi and H. Lotfolahian. 2009. Study of in ovo feeding as an early nutrition method in broiler chickens. *Dynamic Agriculture*, 5: 417-425.
- Naqvi, S., M. Samim, M.Z. Abdin, F. Jalees Ahmed, A.N. Maitra, C.K. Prashant and A.K. Dinda. 2010. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International Journal of Nanomedicine*, 5: 983-989.
- Nikonov, I.N., Y.G. Folmanis, G.E. Folmanis, L.V. Kovalenko, G.Y. Laptev, I.A. Egorov and I.G. Tananaev. 2011. Iron nanoparticles as a food additive for poultry. *Doklady Biological Sciences*, 440: 328-331.
- Nov, Y. and Z. Uni. 2010. Early nutritional strategies. *World's Poultry Science Journal*. 66: 639-646.
- Oliveira, T.F.B., A.G. Bertechini, R.M. Bricka, E.J. Kim, P.D. Gerard and E.D. Peebles. 2015. Effects of in ovo injection of organic zinc, manganese, and copper on the hatchability and bone parameters of broiler hatchlings. *Poultry Science*, 94: 2488-2494.
- Palouj, J., M. Kazemi-Fard, M. Rezaei and Z. Ansari-Piresaraei. 2021. Effects of in ovo Injection of Nano Zinc Oxide on the Hatchability, Immunity and Antioxidant Responses, and Relative Gene Expressions of Interleukin 2 and 12 in Broiler Chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 11: 595-603.
- Puntarulo, S. 2005. Iron, Oxidative stress and Human Health. *Molecular Aspects Medicine*, 26: 299-312.
- Quintana, L., A. Monasterio, K. Escuredo, J. Delamo, P. Alfonso, F. Elortza and M. Pocoví. 2006. Identification of chitotriosidase isoforms in plasma of Gaucher disease patients by two-dimensional gel electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1764: 1292-1298.
- Romanoff, A.L. and A.J. Romanoff. 1967. *Biochemistry of the avian embryo; a quantitative analysis of prenatal development*. First edition. New York: John Wiley and Sons, 398 pp.
- Saki, A.A., M. Abbasinezhad and A. Ahmadi. 2014. Effect of iron nanoparticles and liquid methionine (Alimet) in ovo feeding and diet on broiler chicken performance. *Animal Production Research*. 3:57-71 (In Persian).
- Salahi, A., S.N. Mousavi, F. Foroudi, M.M. Khabisi and M. Norozi. 2011. Effects of in ovo injection of butyric acid in broiler breeder eggs on hatching parameters, chick quality and performance. *Global Veterinaria*, 7: 468-477.

تأثیر تزریق درون تخم مرغی نانواهن صفر ظرفیتی بهینه شده بر رشد جنینی و کیفیت جوجه های گوشتی (سویه راس ۳۰۸) ..... ۱۰۲

19. Salary, J., F. Sahebi-Ala, M. Kalantar and H.R.M. Matin. 2014. In ovo injection of vitamin E on post-hatch immunological parameters and broiler chicken performance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4: 616-619.
20. Salmazadeh, M., Y. Ebrahimnezhad, H.A. Shahryar and R. Beheshti. 2012. The effects of in ovo injection of glucose and magnesium in broiler breeder eggs on hatching traits, performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. *European Poultry Science*, 76: 277-284.
21. Sarbozi Farah Abad, A., Z. Ansari-Pirsaraei, P. Biparva and E. Dirandeh. 2018. Effect of in ovo injection of Pine pollen extract on growth and sex differences of broiler chicks. *Research on Animal Production*, 8: 66-75 (In Persian).
22. SAS, 2003. User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. Inst., Inc., Cary, NC.5136 p.
23. Savasari, M., M. Emadi, M.A. Bahmanyar and P. Piparva. 2015. Optimization of Cd (II) removal from aqueous solution by ascorbic acid-stabilized zero valent iron nanoparticles using response surface methodology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21: 1403-1409.
24. Sgavioli, S., J.B. Matos Júnior, L.L. Borges, M.F. Praes, V.S. Morita, G.L. Zanirato and I.C. Boleli. 2015. Effects of ascorbic acid injection in incubated eggs submitted to heat stress on incubation parameters and chick quality. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 17: 181-189.
25. Spaeke, B.K., R.C. Noble and A.M.B. Murray. 1998. The utilization of yolk lipids by the chick embryo. *World's Poultry Science Journal*, 54: 319-334.
26. Tako, E. and R.P. Glahn. 2011. Iron status of the late term (*Gallus gallus*) embryo and hatchling. *International Journal Poultry Science*, 10: 42-48.
27. Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V.M. Moraes, J. Buyse and E. Decuyper. 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poultry Science*, 82: 736-741.
28. Uni, Z. and R.P. Ferket. 2004. Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60: 101-111.
29. Willemsen, H., N. Everaert, A. Witters, L. De Smit, M. Debonne, F. Verschuere and V. Bruggeman. 2008. Critical assessment of chick quality measurements as an indicator of posthatch performance. *Poultry Science*, 87: 2358-2366.
30. Yang, X.J., X.X. Sun, C.Y. Li, X.H. Wu and J.H. Yao. 2011. Effects of copper, iron, zinc, and manganese supplementation in a corn and soybean meal diet on the growth performance, meat quality, and immune responses of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 20: 263-271.
31. Zhang, L., X.D. Zhu, X.F. Wang, J.L. Li, F. Gao and G.H. Zhou. 2016. Individual and combined effects of in-ovo injection of creatine monohydrate and glucose on somatic characteristics, energy status, and posthatch performance of broiler embryos and hatchlings. *Poultry Science*, 95: 2352-2359.

## Effect of *in Ovo* Injection of Optimized Nano-Scale Zero-Valent Iron on Embryonic Growth and Quality of Broiler Chicks (ROSS 308 Strains)

Yaser Rezaeian<sup>1</sup>, Zarbakht Ansari Pirsaraei<sup>2</sup>, Pouria Biparva<sup>3</sup> and Hamid Deldar<sup>4</sup>

1- Graduated M.Sc. Student, Animal Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Associate professor, Animal Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding author: z.ansari@sanru.ac.ir)

3- Associate professor, Basic Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

4- Associate professor, Animal Science Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: 9 April, 2021

Accepted: 19 February, 2022

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Low-consumption minerals, such as iron, are essential for embryonic growth and development and post-hatch growth. Therefore, to achieve the best quality of embryonic and chick growth, it is useful to study these minerals. The aim of the present study was to investigate the effect of *in ovo* injection of optimized nano-scale zero-valent iron on optimal embryonic growth, hatching rate, chick quality, and carcass characteristics.

**Material and Methods:** In the present study, 500 eggs of 308 strains, after numbering and weighing, were placed in a completely randomized design with four treatments, five replicates and 25 eggs per each replicate. Treatments were: 1- Control one (without injection); 2- Control two (injection of ethanol, ascorbic acid and starch); 3- Injection of 2500 ppm nano zero-valent iron; 4- Injection of 5000 ppm nano zero-valent iron. The volume of injection was 50  $\mu$ l and into the yolk. Then, the eggs were placed in the incubator (37.5 C and 61% humidity). At the end of the incubation period, the percentage of hatching and the quality of the chicks were checked. Infertile eggs and the eggs with a dead embryo were also transferred to the laboratory for examination of embryonic mortality. The hatched chicks were transferred to the farm and, after seven days of rearing, were weighed and blood taken from their hearts to measure some blood parameters. From each treatment, nine birds were selected and slaughtered to study carcass characteristics (drumstick, breast, liver, duodenum, jejunum, ileum, and cecum). Data were analyzed using the general Linear Model procedures of SAS 9.1.

**Results:** The results showed that nano-scale zero-valent iron injection decreased hatching rate, but did not affect the quality of the chicks and also, liver and duodenum weights increased significantly ( $p < 0.05$ ). Blood glucose concentration showed a significant increase compared to control groups ( $p < 0.05$ ). Other parameters were not affected by the experimental treatments.

**Conclusion:** According to the findings of this study, it is recommended that injections below 2500 ppm be injected and examined, and these results can be a reason for the high concentration of injectable concentrations and their adverse effects.

**Keywords:** Embryonic growth and chick quality, *In ovo* injection, Nano zero-valent iron