Archive of SID

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Researches

نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۸ شماره ۲/ سال۱۳۹۷/ صفحات ۱۷۷تا ۱۹۱

اثر تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر شاخص‌های ریخت‌شناسی روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک روزه

مرضیه ابراهیمی[۱*]، فریده عبدالعلی زاده الوانق[۲]، مسعود ادیب مرادی[۳]، حسین جانمحمدی[۱] و ذوالفقار رجبی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۲

[۱] به‌ترتیب استادیار و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۲] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۳] استاد گروه بافت‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

[٤] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز

[*]مسئول مکاتبه: Email: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: تغذیه درون تخم‌مرغی به جنین کمک می‌کند تا بر محدودیت‌های تغذیه‌ای تخم غلبه کند و اثر محرک بر رشد و توسعه روده کوچک و سیستم ایمنی دارد. پژوهش‌های پیشین اثرهای مثبت تغذیه خوراکی آرژنین و لیزین در طی دوره پرورش بر رشد روده کوچک و سیستم ایمنی را گزارش کرده‌اند. **هدف**: بنابراین در این پژوهش اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر شاخص‌های بافت روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه-های گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ بررسی شد. **روش کار**: در این پژوهش از ۲۱۰ تخم‌مرغ بارور مادر گوشتی راس ۳۰۸ در قالب طرح کامل تصادفی با ۷ گروه آزمایشی شامل ۳۰ تخم‌مرغ انفرادی استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل شاهد (بدون تزریق)، شاهد- شم با تزریق آب استریل و تیمارها با تزریق محلول دارای نسبت‌های ۷۵/۷، ۸۰/۷، ۸۵/۷، ۹۰/۷ و ۹۵/۷ درصد اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین بودند که در روز ۱۴ دوره جوجه کشی به مایع آمنیوتیک تزریق شدند. در روز ۲۲ پژوهش، جوجه‌ها وزن‌کشی و کشتار شدند تا شاخص‌های بافت روده و اندام‌های سیستم ایمنی اندازه‌گیری شوند. **نتایج**: بر اساس نتایج آزمایش حاضر، تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین اثر افزایش دهنده ($P<۰/۰۵$) بر وزن بورس فابریسیوس، وزن دوازدهه، طول ژژنوم، وزن ژژنوم، طول ایلیوم، وزن ایلیوم، طول روده کوچک، وزن و وزن نسبی روده کوچک به وزن بدن داشتند. همچنین اثر افزایش‌دهنده معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر عمق کریپت، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم و ایلیوم، قطر کریپت ژژنوم و عرض پرز دوازدهه و ژژنوم مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی**: نتایج کلی پژوهش حاضر نشان داد تزریق ۹۰/۷ درصد نسبت ال- آرژنین به ال- لیزین بهترین اثر را در رشد روده کوچک و بهبود شاخص‌های میکرومتری ساختار بافتی روده جوجه‌های گوشتی داشته است.

واژگان کلیدی: اندام‌های سیستم ایمنی، بافت روده کوچک، تزریق درون تخم‌مرغی، نسبت ال-آرژنین به ال-لیزین

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

جنین پرندگان در یک محیط خالی از کربوهیدرات و با مقدار محدود انرژی و مواد مغذی برای حمایت از رشد و توسعه رویانی و خروج از تخم، رشد می‌کنند (فویه و همکاران ۲۰۰۶ a). در صورت تزریق مواد مغذی به درون تخم‌مرغ، این مواد می‌توانند بطور فعال یا غیرفعال از طریق مایع آمنیوتیک وارد بدن جنین شوند (یونی و همکاران و قوچخانی و همکاران ۲۰۱۷). نشان داده شده است که روزهای پایانی دوره جوجه‌کشی در رشد و توسعه روده کوچک از اهمیت بالایی برخوردار است (یونی و همکاران ۲۰۰۳)، با این حال دستگاه گوارش پرنده تازه از تخم درآمده هنوز به بلوغ کافی نرسیده است (کلاسینگ ۱۹۹۸). با توجه به این که مصرف خوراک موجب افزایش رشد پرزهای روده کوچک می‌شود (گیرا و همکاران ۲۰۰۱)، تعدادی از پژوهش‌ها به بررسی اثر تغذیه درون تخم‌مرغی بر رشد و عملکرد بافت روده پرداختند و اثرهای مثبت تغذیه درون تخم‌مرغی بر رشد، مرفولوژی بافت روده، فعالیت آنزیمی روده کوچک و همچنین جذب مواد مغذی را مشاهده کردند (بارتل و بارتال ۲۰۰۷؛ فویه و همکاران ۲۰۰۷ و چن و همکاران ۲۰۰۹).

آرژنین یک اسید آمینه ضروری در طیور است (بال و همکاران ۲۰۰۷). مشخص شده است که آرژنین ترشح انسولین را از سلول‌های بتا پانکراس و ترشح هورمون رشد را از هیپوفیز افزایش می‌دهد (فلوید و همکاران ۱۹۶۶ و دیویس ۱۹۷۲). اثرهای هورمون رشد به وسیله فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF-I و IGF-II) میانجی‌گری می‌شود (لرویت و همکاران ۲۰۰۱). در تعدادی از پژوهش‌ها اثرهای مثبت تزریق درون تخم‌مرغی آرژنین و همچنین تغذیه سطوح بالای آرژنین بر بهبود ذخایر گلیکوژنی بدن، سیستم ایمنی، تکامل روده کوچک، بهبود فعالیت‌های آنزیمی روده کوچک، رشد سلول‌های اندوتلیال روده‌ای، افزایش وزن نسبی روده کوچک، افزایش ارتفاع پرزهای دوازدهه، ژژنوم و ایلیوم و در نتیجه بهبود جذب و انتقال مواد مغذی از مسیر روده‌ای مشاهده شده است (فویه و همکاران ۲۰۰۶ b، ۲۰۰۷؛ بوچرت-تورت و همکاران ۲۰۱۰؛ یاوو و همکاران ۲۰۱۱؛ ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶ و نایاک و همکاران ۲۰۱۶).

لیزین به عنوان دومین اسید آمینه محدودکننده در طیور دریافت کننده جیره‌های بر پایه ذرت- سویا شناخته می‌شود (هامفری و همکاران ۲۰۰۶). همچنین لیزین به عنوان پایه بررسی محتوای سایر اسیدهای آمینه ضروری برای تعیین تعادل ایده‌آل اسیدهای آمینه استفاده می‌شود؛ بنابراین لیزین اسید آمینه مرجع از جنبه پروتئین ایده‌آل است و تخمین دقیق نیاز لیزین از اهمیت بالایی برخوردار است تا نسبت ایده‌آل سایر اسیدهای آمینه مشخص شود (بیکر ۲۰۰۹). ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تزریق درون تخم‌مرغی ۲۰ میلی‌گرم ال-لیزین اثر افزایشی بر وزن جوجه یک روزه، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلیوم، قطر کریپت‌های دوازدهه و ژژنوم و عرض پرزهای دوازدهه و ایلیوم داشت، در حالی که عمق کریپت‌های دوازدهه، ژژنوم و ایلیوم را کاهش داد. در پژوهشی تزریق درون تخم‌مرغی لیزین در روز ۱۴ دوره جوجه‌کشی بهبود غیرمعنی‌دار وزن نسبی روده کوچک مشاهده شد (بهانجا و همکاران ۲۰۱۲).

بنابراین با توجه به مطالب بیان شده در بالا به نظر می‌رسد تغذیه درون تخم‌مرغی همزمان این دو اسید آمینه بتواند موجب بهبود مرفولوژی بافت روده و تقویت سیستم ایمنی شود. چن و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که افزودن نسبت آرژنین به لیزین از ۱/۰۵ به ۱/۳۵درصد، هضم آرژنین را افزایش داد و افزایش وزن را در پی داشت. از سوی دیگر با افزایش نسبت آرژنین به لیزین اثر بهبود دهنده آن بر رشد و مرفولوژی روده کوچک و افزایش وزن نسبی اندام‌های سیستم ایمنی شامل طحال و تیموس گزارش شد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶). ال-مورانی (۱۹۸۲) نسبت ایده‌آل اسید آمینه آرژنین به لیزین را برای جنین‌های ۷ روزه ۸۵/۷ درصد برآورد کرده است، با این حال در مورد اثر استفاده از نسبت‌های مختلف اسید

www.SID.ir

Archive of SID

آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین در دوره جنینی جوجه‌های گوشتی اطلاعات بسیار اندکی در دست است. بنابراین در این پژوهش از نسبت‌های بالاتر و پایین‌تر این دو اسید آمینه به منظور تزریق درون تخم‌مرغی استفاده شد تا اثر تغذیه درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر شاخص‌های بافت روده کوچک و اندام‌های سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی یک‌روزه بررسی شود.

مواد و روش‌ها

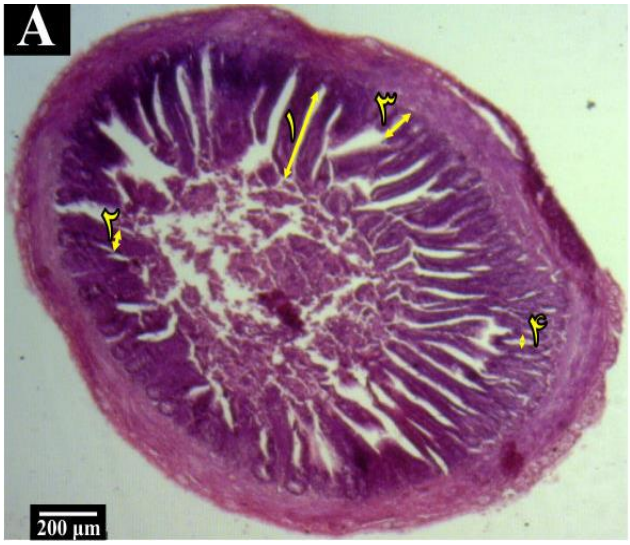
در این پژوهش، ۲۱۰ تخم‌مرغ بارور از مزرعه مرغ مادر گوشتی خوشخوان (تبریز، آذربایجان شرقی) با سن گله ۲۴ هفته تهیه شد. سپس تخم‌مرغ‌ها شماره‌گذاری شده و وزن اولیه آنها ثبت شد. تخم‌مرغ‌ها بر اساس وزن طبقه‌بندی شده و در وزن‌های یکسان به تیمارها اختصاص داده شدند. سپس تخم‌مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. دمای ۱۸ روز اول دستگاه روی ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن روی ۶۰ درصد و به تعداد ۶ بار چرخش در شبانه روز تنظیم شد. دما و رطوبت و چرخش طبقات دستگاه جوجه‌کشی به صورت روزانه کنترل می‌شد. در طول دوره جوجه‌کشی نوربینی در روزهای ۷ و ۱۴ به منظور حذف جنین‌های مرده انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۷ تیمار و ۳۰ تخم‌مرغ در هر تیمار اجرا شد. در آزمایش پیشین (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷)، با تزریق درون تخم مرغی سطوح مختلف لیزین، ۲ درصد لیزین بهترین پاسخ را ایجاد کرد که این سطح به عنوان سطح پایه لیزین در آزمایش حاضر برای محاسبه نسبت‌های مختلف اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین در نظر گرفته شد. در پژوهش ال-مورانی (۱۹۸۲) نسبت اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین برای جنین‌های ۷ روزه ۸۵/۷ درصد در نظر گرفته شد. بنابراین در این پژوهش، نسبت ۸۵/۷ درصد به همراه ۲ نسبت با فاصله ۵ درصد بالاتر (نسبت‌های ۹۰/۷ و ۹۵/۷ درصد اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین) و ۲ نسبت با فاصله ۵ درصد پایین‌تر (نسبت‌های ۷۵/۷ و ۸۰/۷ درصد اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین) ۵ تیمار آزمایش مربوط به نسبت‌های مختلف این اسیدهای آمینه را تشکیل دادند. در روز ۱۴ دوره جوجه‌کشی، نسبت‌های ۷۵/۷، ۸۰/۷، ۸۵/۷، ۹۰/۷ و ۹۵/۷ درصد اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین به همراه ۱ سطح شاهد (بدون تزریق) و ۱ سطح شاهد- شم (تزریق آب استریل به تنهایی) در مایع آمنیوتیک تزریق شدند. در این آزمایش در محلول تزریق همه گروه‌های دریافت کننده نسبت‌های ال- آرژنین به ال- لیزین نخست مقدار ۲۰ میلی‌گرم ال-لیزین در ۱ میلی لیتر آب مقطر حل شد و سپس در محلول نسبت ۷۵/۷ درصد اسید آمینه ال- آرژنین به ال- لیزین مقدار ۱۵/۱۴ میلی‌گرم آرژنین؛ در نسبت ۸۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مقدار ۱۶/۱۴ میلی‌گرم آرژنین؛ در نسبت ۸۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مقدار ۱۷/۱۴میلی‌گرم آرژنین؛ در نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مقدار ۱۸/۱۴میلی‌گرم آرژنین و در نسبت ۹۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مقدار ۱۹/۱۴ میلی‌گرم آرژنین در محلول آب مقطر دارای ال-لیزین حل و تزریق شد. زمان آماده‌سازی محلول، pH آن با استفاده از اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال و و هیدورکسید سدیم، روی ۷ تنظیم شد. در زمان تزریق دمای محلول تزریقی به ۳۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و تزریق هر تیمار در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. در زمان تزریق به درون تخم‌مرغ، ابتدا محدوده کیسه هوایی تخم‌مرغ‌های با جنین رشد کرده با استفاده از مداد علامت‌گذاری گردید. سپس به وسیله پنبه-الکل محدوده تزریق ضدعفونی شده و به وسیله سوزن مخصوص در ۳ الی ۴ میلی‌متری بالای مرز کیسه هوایی منفذی ایجاد شده و تزریق انجام شد. سپس دوباره سطح منفذ ایجاد شده در تخم‌مرغ با پنبه-الکل ضدعفونی شده و با چسب مسدود شد و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی انتقال داده شدند. در ۳ روز آخر دوره جوجه‌کشی دمای دستگاه روی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن روی ۷۰ درصد تنظیم شده

www.SID.ir

Archive of SID

و تخم‌مرغ‌ها به سبدهای مخصوص هچری با جایگاه‌های انفرادی انتقال داده شدند. پس از پایان دوره جوجه‌کشی، جوجه‌های تازه هچ‌شده شماره‌گذاری شده و به صورت جداگانه وزن‌کشی شدند. سپس جوجه‌ها کشتار شده و وزن تیموس، طحال و بورس فابریسیوس اندازه گیری شد. همچنین وزن و طول دوازدهه (بخشی است که از سنگدان تا پانکراس و مجاری صفراوی ادامه دارد و با احاطه پانکراس حلقه را تشکیل می‌دهد)، ژژنوم (قسمتی است که از مجاری پانکراسی تا زائده جانبی مکل یا زائده کیسه زرده ادامه دارد) و ایلیوم (بخشی است که از زائده جانبی مکل تا محل اتصال ایلیوم و سکوم ادامه دارد) جوجه‌ها ثبت شد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷). نمونه‌های بافت به ترتیب به مقدار یک، دو و سه سانتی‌متر از قسمت پروکسیمال دوازدهه، قسمت وسطی ژژنوم و قسمت انتهایی ایلیوم همه جوجه‌ها بریده شده و در فرمالین ۱۰ درصد نگه‌داری شدند تا شاخص‌های بافت‌شناسی نمونه‌ها مورد بررسی قرار گیرند. وزن نسبی این اندام‌ها به وزن زنده جوجه یک روزه نیز محاسبه و گزارش شد. در هنگام انجام مراحل بافت‌شناسی، نخست نمونه‌های بافت روده ۵ جوجه از هر تیمار که بهترین شرایط را داشتند، انتخاب شد. سپس مراحل بافت‌شناسی مربوط به نمونه‌های روده شامل تثبیت نمونه‌ها با فرمالین ۱۰ درصد به مدت یک هفته، پردازش بافت (شامل آبگیری با استفاده از درجات صعودی الکل، شفاف‌کردن با استفاده از گزیلول و آغشتگی نمونه‌ها با پارافین)، قالب گیری با استفاده از قالب‌های لوکهارت، برش بافت با استفاده از دستگاه میکروتوم مدل MRS 3500 (شرکت Histo-Line Laboratories، ایتالیا)، چسباندن برش‌ها روی لام و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین صورت گرفت. در پایان ارتفاع پرزها، عمق کریپت، عرض پرز و قطر کریپت (شکل ۱) با استفاده از گراتیکول مدرج خطی و چهار خانه و همچنین عدسی چشمی کالیبره در گروه‌های آزمایشی اندازه‌گیری شد (پوستی و ادیب مرادی ۲۰۰۸) و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت محاسبه و گزارش شد. شایان ذکر است در زمان برش، مقاطع عرضی به ضخامت ۵ میکرومتر در هر بخش روده برش داده شد که امکان مطالعه مقاطع طولی پرزها را فراهم می کرد. همچنین در زمان بررسی سه برش با بهترین شرایط از هر بخش روده انتخاب شد و ۱۵ پرز در هر برش مورد بررسی قرار گرفتند. سپس میانگین این ۴۵ داده (۳ برش و ۱۵ مشاهده پرز در هر قسمت از بخش‌های دوازدهه، ژژنوم یا ایلیوم روده کوچک هر جوجه) به عنوان نتایج بافتی (طول پرزها، عمق کریپت، عرض پرز و قطر کریپت) آن بخش روده یک جوجه گزارش شد.

در پایان داده‌ها در قالب طرح کامل تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS 9.2 آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون آماری چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد. نتایج به صورت میانگین ±خطای استاندارد گزارش شدند.



شکل ۱- نمونه برش عرضی بافت روده کوچک شامل ۱) ارتفاع پرز ۲) عرض پرز ۳) عمق کریپت ۴) قطر کریپت

Figure 1- Cross-sectional incision of the small intestine tissue including: 1) villus height 2) villus width 3) Crypt depth 4) Crypt diameter

نتایج و بحث

تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین اثر افزایشی ($P<۰/۰۱$) بر وزن جوجه‌های یک

www.SID.ir

Archive of SID

روزه راس داشت (جدول ۱). همچنین در مقایسه تیمارها در نسبت ۸۵/۷ درصد آرژنین به لیزین بالاترین افزایش وزن مشاهده شد. ادوارد و همکاران (۲۰۱۶) با تزریق ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم ال- آرژنین در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر در روز ۹ جوجه‌کشی به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ، افزایش وزن جوجه‌ها را گزارش کردند. نایاک و همکاران (۲۰۱۶) با تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد آرژنین در روز ۱۸ دوره جنینی و سپس پرورش جوجه‌های گوشتی تا روز ۲۱، افزایش وزن در زمان هچ، افزایش وزن بدن در روز ۲۱ دوره پرورش و افزایش وزن روزانه طی این دوره را گزارش کردند. فویه و همکاران (b ۲۰۰۶) با تزریق آرژنین به درون مایع آمنیوتیک تخم بوقلمون اثری بر وزن بدن مشاهده نکردند، با این حال افزایش IGFهای خون به همراه بهبود ذخایر گلیکوژنی را گزارش کردند. همچنین تزریق درون تخم‌مرغی ۳/۷۸ میلی‌گرم لیزین در ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر موجب افزایش وزن جوجه‌های یک‌روزه شد (اسماوات و همکاران ۲۰۱۵). بهانجا و مندل (۲۰۰۵) بهبود نسبت وزن جوجه به تخم‌مرغ و وزن جوجه در نخستین هفته پس از هچ را در گروه دریافت‌کننده تزریق درون تخم‌مرغی آرژنین+لیزین در مقایسه با گروه شاهد گزارش کردند. چن و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که افزودن نسبت آرژنین به لیزین جیره از ۱/۰۵ به ۱/۳۵ درصد در دوره پرورش، افزایش وزن را در پی دارد. از سوی دیگر در پژوهش ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۳) افزودن آرژنین به مقدار ۱۵۳ و ۱۶۸ درصد آرژنین قابل هضم توصیه شده بر مبنای برنامه غذایی راس ۳۰۸ (افزایش نسبت آرژنین به لیزین) اثر افزایشی بر رشد داشت.

به نظر می‌رسد تحریک رشد ایجاد شده در اثر نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین نسبت به گروه‌های شاهد به دلیل نقش‌های بیولوژیکی آرژنین و لیزین در تحریک رشد اعمال شده است. مسیرهایی که آرژنین موجب تحریک رشد می‌شود شامل نقش آن در ساخت پروتئین، تحریک آزادسازی هورمون‌های پانکراسی و هیپوفیزی مانند انسولین و هورمون رشد (فلوید و همکاران ۱۹۶۶؛ جهانیان ۲۰۰۹ و داویس و همکاران ۱۹۷۲) و به دنبال آن تحریک تولید IGF-I (فویه و همکاران ۲۰۰۶ b) که موجب تحریک فرآیندهای آنابولیک می‌شود، می‌باشند (فرناندز و همکاران ۲۰۰۹). همچنین آرژنین موجب تحریک تولید پلی آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) می‌شود که اثرهای مثبت آنها شامل تحریک رشد، افزایش تولید DNA و تکثیر سلولی، افزایش جذب اسید آمینه توسط سلول و تولید پروتئین است (خواجعلی و وایدرمن ۲۰۱۰). قسمتی از اعمال آرژنین نیز از طریق تولید اکسید نیتریک و اثر آن بر رشد و متابولیسم بدن اعمال می‌شود (جوبگن و همکاران ۲۰۰۶). مسیرهایی که لیزین موجب تحریک رشد می‌شود شامل تحریک ساخت پروتئین (لابادن و آستیک ۲۰۰۱)، تحریک تولید ال-کارنیتین (ارسلان و همکاران ۲۰۰۴) و به دنبال آن افزایش مقدار فاکتور رشدشبه انسولین (IGF- I) و تحریک رشد ایجاد شده پی‌آیند آن (کیتا و همکاران ۲۰۰۲) است.

اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر وزن بورس فابریسیوس معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و بالاترین مقدار در اثر نسبت ۸۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد (جدول ۱). اثر تیمارها بر وزن نسبی بورس فابریسیوس به وزن بدن، وزن تیموس، وزن نسبی تیموس به وزن بدن، وزن طحال و وزن نسبی طحال به وزن بدن معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵؛ جدول ۱). در پژوهش مشابهی، تزریق درون تخم‌مرغی لیزین تا سطح ۲۰ میلی‌گرم بهبود وزن نسبی بورس فابریسیوس را در پی داشت (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷). این در حالی است که بهانجا و همکاران (۲۰۱۲) با تزریق درون تخم‌مرغی لیزین اثری بر پاسخ ایمنی همورال، وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نکردند. ملایانتینی (۲۰۱۴) گزارش کرد تغذیه سطوح بالای لیزین قابل هضم در دوره آغازین پرورش موجب افزایش وزن طحال و بورس فابریسیوس همراه با بهبود عملکرد ایمنی سلولی می‌شود، با این حال روی تولید آنتی بادی اثری ندارد. ادوارد و همکاران (۲۰۱۶) با تزریق ۱۰ و ۱۵

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌گرم ال- آرژنین در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر در روز ۹ جوجه‌کشی به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ، افزایش وزن بورس فابریسیوس را مشاهده کردند. مونیر و همکاران (۲۰۰۹) با افزودن ۲ درصد آرژنین به خوراک جوجه‌های گوشتی، افزایش وزن و وزن نسبی بورس فابریسیوس، طحال و تیموس را به همراه بهبود ایمنی هومورال و سلولی گزارش کردند. افزایش وزن بورس فابریسیوس در اثر تکثیر سلول‌های لنفوسیت در بورس ایجاد می‌شود (دیبنر و همکاران ۱۹۹۸). رشد بافت‌های لنفوییدی مانند بورس فابرسیوس در اواخر دوران جنینی طیور آغاز می‌شود. بورس فابرسیوس عضو بسیار مهمی است که در زمان تفریخ، مجراهای آن باز است و آنتی‌ژن‌های محیطی می‌توانند وارد آن شده و ساخت آنتی‌بادی‌ها را تحریک کنند. پس هر چه غذای خارجی به عنوان یک آنتی‌ژن زودتر وارد دستگاه گوارش شود، سبب ساخت سریع‌تر و بیشتر آنتی‌بادی‌ها می‌گردد که به رشد سیستم ایمنی جوجه کمک می‌کند (یگانی و کرور ۲۰۰۸). در زمان تفریخ ایمنوگلوبولین به مقدار بسیار کم در بورس یافت می‌شود که پس از شروع مصرف غذا به همراه رشد بورس، محتوای ایمنوگلوبولین نیز افزایش می‌یابد (یی و همکاران ۲۰۰۵). بنابراین قسمتی از افزایش وزن مشاهده شده در وزن بورس فابریسیوس مربوط به اثر تحریکی مستقیم مواد مغذی است. همچنین افزایش وزن بورس فابریسیوس مشاهده شده در پژوهش حاضر ممکن است از طریق نقش آرژنین در تحریک تولید پلی‌آمین‌ها، تحریک تولید IGF-I و همچنین تحریک تولید اکسید نیتریک از ماکروفاژها اعمال شده باشد (قریشی ۲۰۰۳ و جهانیان ۲۰۰۹). همچنین قسمتی از این اثرهای مثبت نیز ممکن است از طریق نقش لیزین در تحریک تولید کارنیتین و نقش کارنیتین در تولید IGF-I و به دنبال آن تحریک تکثیر سلول‌های بورس فابریسیوس اعمال شده باشد (شافعی و همکاران ۲۰۱۰).

اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر طول ژژنوم ($P<0/01$)، طول ایلیوم ($P<0/05$) و طول روده کوچک ($P<0/01$) معنی‌دار بود و بیشترین مقدار طول ایلیوم در اثر نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین و بیشترین مقدار طول ژژنوم در اثر نسبت‌های ۸۵/۷ درصد و ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد (جدول ۲). همچنین بر اساس نتایج، اثر نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر وزن دوازدهه ($P<0/01$)، وزن ژژنوم ($P<0/05$)، وزن ایلیوم ($P<0/01$)، وزن روده کوچک ($P<0/01$) و وزن نسبی روده کوچک به وزن بدن ($P<0/01$) معنی‌دار بود و بالاترین مقدار در اثر نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد (جدول ۲). اثر نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر طول دوازدهه و طول نسبی روده کوچک به وزن بدن معنی‌دار نبود ($P>0/05$). همچنین کلیه شاخص‌های وزنی و طولی روده در اثر نسبت ۹۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین کاهش محسوسی نشان داد و روند افزایشی در این شاخص‌ها را معکوس کرد (جدول ۲).

بر اساس نتایج بررسی میکرومتری ساختار بافتی روده، عمق کریپت، قطر کریپت ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند ($P>0/05$)، این در حالی است که اثر نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر عرض پرز دوازدهه معنی‌دار بود ($P<0/01$) و بالاترین مقدار در اثر نسبت‌های ۷۵/۷ و ۸۰/۷ درصد مشاهده شد (جدول ۲). همچنین اثر افزایشی معنی‌دار ($P<0/01$) نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر عمق کریپت، قطر کریپت، طول پرز، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و عرض پرز ژژنوم مشاهده شد (جدول ۲). در مقایسه تیمارها بیشترین مقدار ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ژژنوم در اثر نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین مقدار قطر کریپت ژژنوم در اثر نسبت ۸۵/۷ درصد و بیشترین مقدار عرض پرز در اثر نسبت ۷۵/۷ درصد مشاهده شد، این در حالی است که کمترین مقدار عمق کریپت ژژنوم در اثر نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد. نتایج بررسی میکرومتری

www.SID.ir

Archive of SID

ساختار بافتی روده کوچک اثر معنی‌دار و افزایش‌دهنده (P<۰/۰۵) نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین را بر عمق کریپت، ارتفاع پرز ونسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ایلیوم را نشان دادند (جدول ۲). در مقایسه تیمارها بالاترین مقدار ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و همچنین کمترین مقدار عمق کریپت ایلیوم در اثر نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین مشاهده شد (جدول ۲). عمق کریپت و عرض پرز ایلیوم تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند (P >۰/۰۵)، (جدول ۲).

جدول۱- اثر تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر وزن و اندام‌های سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸

Table 1- Effect of *in ovo* injection of different L- arginine to L- lysine ratios on weight and immune system organs of a day old Ross 308 broiler chicks

صفات Traits*	تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین (درصد) In ovo injection of different L- arginine to L- lysine ratios (%)							P-value
	شاهد-شم ShamControl	شاهد Control	نسبت ۷۵/۷ 75.7 ratio	نسبت ۸۰/۷ 80.7 ratio	نسبت ۸۵/۷ 85.7 ratio	نسبت ۹۰/۷ 90.7 ratio	نسبت ۹۵/۷ 95.7 ratio	
وزن جوجه Chick Weight (g)	35.56±0.77^{c}	35.30±0.96^{c}	38.44±1.05^{abc}	37.55±1.03^{abc}	38.99±0.80^{a}	38.27±0.69^{ab}	36.34±0.77^{bc}	0.009
وزن بورس Bursa Weight (g)	0.017±0.003^{b}	0.017±0.002^{b}	0.023±0.003^{ab}	0.020±0.003^{ab}	0.025±0.002 ^{a}	0.022±0.002 ^{ab}	0.016±0.002^{b}	0.027
وزن نسبی بورس Relative bursa Weight (%)	0.049±0.005	0.049±0.006	0.058±0.007	0.054±0.006	0.063±0.005	0.058±0.004	0.043±0.005	0.129
وزن طحال Spleen Weight (g)	0.009±0.001	0.009±0.002	0.011±0.002	0.012±0.002	0.012±0.001	0.014±0.001	0.009±0.001	0.143
وزن نسبی طحال Relative spleen Weight (%)	0.028±0.004	0.027±0.004	0.029±0.005	0.031±0.005	0.029±0.004	0.037±0.003	0.025±0.004	0.326
وزن تیموس Thymus Weight (g)	0.022±0.002	0.022±0.003	0.031±0.003	0.028±0.003	0.029±0.002	0.031±0.002	0.027±0.003	0.088
وزن نسبی تیموس Relative thymus Weight (%)	0.062±0.006	0.061±0.007	0.079±0.008	0.073±0.007	0.073±0.006	0.079±0.005	0.072±0.006	0.254

* داده‌ها شامل میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند. $^{a-c}$میانگین‌های موجود در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند (p<۰/۰۵).

* Data are included mean±standard error. $^{a-c}$ Means within the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- اثر تزریق نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر شاخص‌های بافت‌شناسی روده کوچک در جوجه‌های گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸.

Table 2- Effect of *in ovo* injection of different L- arginine to L- lysine ratios on small intestine histology characteristics of day-old Ross 308 broiler chicks

صفات Traits*	شاهد-شم ShamControl	شاهد Control	نسبت ۷۵/۷ 75.7 ratio	نسبت ۸۰/۷ 80.7 ratio	نسبت ۸۵/۷ 85.7 ratio	نسبت ۹۰/۷ 90.7 ratio	نسبت ۹۵/۷ 95.7 ratio	P-value
	تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین (درصد) In ovo injection of different L- arginine to L- lysine ratios (%)							
Duodenum								
Weight (g)	0.17±0.01^{bc}	0.16±0.01^{c}	0.19±0.01^{abc}	0.18±0.01^{abc}	0.19±0.01^{ab}	0.20±0.01^{a}	0.18±0.01^{bc}	<0.01
Relative duodenum weight (%)	0.47±0.01	0.47±0.02	0.49±0.02	0.49±0.02	0.5±0.01	0.52±0.01	0.48±0.01	0.10
Length (cm)	6.36±0.23	6.26±0.28	6.75±0.31	6.78±0.30	7.11±0.24	7.10±0.20	6.59±0.23	0.08
Crypt depth (µm)	91.28±8.48	75.85±8.48	95.29±11.99	76.15±11.99	101.34±11.99	115.22±11.99	82.72±11.99	0.16
Crypt diameter (µm)	20.07±2.12	17.96±2.12	21.72±2.99	20.16±2.99	26.52±2.99	24.32±2.99	21.91±2.99	0.35
Villus height/crypt depth ratio (%)	1.57±0.21	1.87±0.21	1.74±0.29	2.31±0.29	1.86±0.29	1.47±0.29	2.28±0.29	0.27
Villus height (µm)	139.72±12.09	136.84±12.09	165.31±17.09	171.95±17.09	173.62±17.09	168.36±17.09	158.41±17.09	0.35
Villus width (µm)	47.20±4.30^{b}	47.16±4.30^{b}	93.36±6.08^{a}	83.17±6.08^{a}	42.90±6.08^{b}	50.11±6.08^{b}	57.70±6.08^{b}	<0.01
Jejunum								
Weight (g)	0.27±0.01^{ab}	0.26±0.02^{b}	0.29±0.02^{ab}	0.30±0.02^{ab}	0.30±0.01^{ab}	0.32±0.01^{a}	0.26±0.01^{b}	0.02
Relative jejunum weight (%)	0.76±0.02	0.74±0.03	0.77±0.03	0.79±0.03	0.78±0.03	0.83±0.02	0.72±0.02	0.08
Length (cm)	13.61±0.42^{ab}	12.79±0.52^{b}	13.94±0.57^{ab}	14.74±0.56^{a}	15.11±0.44^{a}	14.87±0.37^{a}	14.29±0.42 ^{ab}	0.01
Crypt depth (µm)	88.06±5.42^{abc}	98.37±5.42^{a}	90.24±7.67^{ab}	71.48±7.67^{bcd}	81.41±7.67^{abc}	58.17±7.67^{d}	65.27±7.67^{cd}	<0.01
Crypt diameter(µm)	15.15±1.54^{c}	17.68±1.54^{bc}	21.86±2.17^{b}	22.71±2.17^{ab}	28.49±2.17^{a}	20.39±2.17^{bc}	22.64±2.17^{ab}	<0.01
Villus height/crypt depth ratio (%)	1.46±0.14^{d}	1.10±0.14^{d}	1.63±0.20^{cd}	2.06±0.20^{bc}	2.03±0.20^{bc}	2.79±0.20^{a}	2.39±0.20^{ab}	<0.01
Villus height (µm)	119.64±4.34^{b}	106.35±4.34^{b}	145.03±6.14^{a}	145.85±6.14^{a}	154.46±6.14^{a}	161.68±6.14^{a}	158.11±6.14^{a}	<0.01
Villus width (µm)	39.67±4.09^{b}	46.65±4.09^{b}	105.33±5.78^{a}	103.24±5.78^{a}	53.68±5.78^{b}	49.98±5.78^{b}	42.27±5.78^{b}	<0.01
Ileum								
Weight (g)	0.20±0.01^{b}	0.21±0.01^{b}	0.24±0.02^{ab}	0.24±0.02^{ab}	0.24±0.01^{ab}	0.26±0.01^{a}	0.23±0.01^{ab}	<0.01
Relative ileum weight (%)	0.57±0.03^{b}	0.59±0.04^{ab}	0.63±0.04^{ab}	0.64±0.04^{ab}	0.62±0.03^{ab}	0.69±0.03^{a}	0.62±0.03^{ab}	0.11
Length (cm)	11.12±0.49^{ab}	10.32±0.61^{b}	12.24±0.67^{a}	12.16±0.65^{a}	12.21±0.51^{a}	12.82±0.43^{a}	11.84±0.49^{ab}	0.03
Crypt depth (µm)	101.42±7.28^{a}	106.12±7.28^{a}	69.79±10.30^{bc}	70.92±10.30^{bc}	90.94±10.30^{ab}	44.57±10.30^{c}	78.47±10.30^{ab}	<0.01
Crypt diameter (µm)	18.37±1.57	18.34±1.57	21.88±2.22	22.25±2.22	17.72±2.22	24.32±2.22	20.31±2.22	0.22
Villus height/crypt depth ratio (%)	0.91±0.20^{c}	0.88±0.20^{c}	1.94±0.28^{b}	1.77±0.28^{b}	1.32±0.28^{bc}	2.86±0.28^{a}	1.64±0.28^{bc}	<0.01
Villus height (µm)	90.87±6.45^{b}	91.40±6.45^{b}	116.35±9.13^{ab}	114.70±9.13^{ab}	111.61±9.13 ^{ab}	120.49±9.13^{a}	111.54±9.13^{ab}	0.04
Villus width (µm)	43.05±6.37	38.42±6.37	55.11±9.01	67.14±9.01	36.82±9.01	41.65±9.01	50.43±9.01	0.16
Small intestine								
Weight (g)	0.64±0.03^{bc}	0.63±0.03^{c}	0.73±0.04^{abc}	0.72±0.04^{abc}	0.75±0.03^{ab}	0.78±0.02^{a}	0.66±0.03^{bc}	<0.01
Relative small intestine weight (%)	1.81±0.05^{b}	1.79±0.07^{b}	1.88±0.07^{ab}	1.92±0.07^{ab}	1.90±0.05^{ab}	2.04±0.05^{a}	1.79±0.05^{b}	0.01
Length (cm)	31.09±0.95^{bc}	29.38±1.18^{c}	32.93±1.29^{abc}	33.69±1.27^{ab}	34.43±0.99^{ab}	34.79±0.85^{a}	32.72±0.95^{abc}	<0.01
Relative length (%)	87.65±1.79	83.25±2.24	85.42±2.47	90.12±2.42	88.17±1.88	90.93±1.61	90.02±1.80	0.11

* داده‌ها شامل میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند. $^{a-d}$میانگین‌های با حروف متفاوت اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری دارند (p<۰/۰۵).

* Data are included mean±standard error. $^{a-d}$ Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

تعدادی از پژوهش‌ها نتایج مشابهی مبنی بر اثرهای مثبت آرژنین و لیزین بر شاخص‌های روده کوچک گزارش کرده‌اند به طوری که ادوارد و همکاران (۲۰۱۶) با تزریق ال- آرژنین به مایع آمنیوتیک تخم‌مرغ در روز ۹ جوجه‌کشی افزایش وزن و طول ایلیوم به همراه افزایش تعداد پرزهای ژژنوم روده کوچک را گزارش کردند. فویه و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی آرژنین موجب افزایش هضم و جذب مواد مغذی در ژژنوم بوقلمون می‌شود. همچنین افزودن مقدار آرژنین (افزایش نسبت آرژنین به لیزین) در جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود شاخص‌های وزنی و طولی روده کوچک به همراه افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در روده کوچک شد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶). موراکمی و همکاران (۲۰۱۲) با افزایش آرژنین جیره دوره آغازین جوجه‌های گوشتی، افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و کاهش عمق کریپت در پاسخ به آرژنین را گزارش کردند. همچنین نشان داده شده است تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف ال-لیزین اثری بر وزن و طول روده باریک نداشت. با این حال تزریق درون تخم‌مرغی ۲۰ میلی‌گرم ال-لیزین اثر افزایشی بر ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت دوازدهه، ژژنوم و ایلیوم، قطر کریپت‌های دوازدهه و ژژنوم و عرض پرزهای دوازدهه و ایلیوم داشت، در حالی که عمق کریپت‌های دوازدهه، ژژنوم و ایلیوم را کاهش داد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۷). بهانجا و همکاران (۲۰۱۲) با تزریق درون تخم‌مرغی ۲۵ میلی‌گرم ال-لیزین در روز ۱۴ دوره جنینی افزایش عددی وزن نسبی روده کوچک در جوجه‌های یک روزه را گزارش کردند.

افزایش ارتفاع پرز با افزایش سطح جذبی در افزایش جذب مواد مغذی از مسیر روده‌ای نقش دارد (کاسپری ۱۹۹۲). همچنین کریپت به عنوان کارخانه تولید پرز در نظر گرفته می‌شود (یاسون و همکاران ۱۹۸۷). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به عنوان یک شاخص برای تخمین ظرفیت هضمی روده کوچک در نظر گرفته می‌شود. پلاسکه و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که ارتفاع پرز همبستگی مثبتی با افزایش وزن زنده بدن و مصرف خوراک دارد و کاهش در نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به عنوان یک عامل مضر در هضم و جذب در نظر گرفته می‌شود. همچنین کاهش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت با افزایش سرعت تکثیر سلول‌های کریپتی و تعداد سلول‌های دارای DNA تجزیه شده (نشان‌دهنده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) همراه است که هر دو نشان‌دهنده ترن‌آور بالای انتروسیت‌ها است. همچنین نشان داده شده است که افزایش طول روده باریک از طریق افزایش سطح هضم و جذب می‌تواند بهبود رشد جوجه‌ها را طی دوره رشد در پی داشته باشد (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶). بنابراین با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین (به غیر از نسبت ۹۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین) از طریق افزایش طول روده باریک، افزایش طول پرز، افزایش عرض پرز و افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت موجب افزایش سطح مقطع روده و بنابراین بهبود ظرفیت هضم و جذب جوجه‌ها شده و انتظار می‌رود طی دوره رشد بهبود رشد جوجه‌ها را در پی داشته باشد. سازوکار پیشنهادی برای اثرهای بهبود دهنده تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر رشد و مورفولوژی روده کوچک بدین شرح است: ۱- تزریق مواد مغذی به درون مایع آمنیوتیک به دلیل استفاده جنین از این مایع از طریق دهان (فویه و همکاران ۲۰۰۶ a) موجب تطابق زودتر روده کوچک با مواد غذایی (یونی و فرکت ۲۰۰۴) و رشد زودهنگام روده و عملکرد آن شده و بهبود هضم و جذب را به همراه دارد (یونی و فرکت ۲۰۰۴ و چن و همکاران ۲۰۰۹). بنابراین تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف این دو اسید آمینه تا نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین، موجب تطابق زودهنگام و تکامل سریع تر دستگاه گوارش شده است. ۲- به نظر می‌رسد قسمتی از اثرهای بهبود دهنده تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین از طریق آرژنین میانجی‌گری شده باشد. تن و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود پایه ملکولی اثر آرژنین بر بافت

www.SID.ir

Archive of SID

روده را تشریح کردند و نشان دادند که آرژنین با فعال کردن مسیر سیگنالی mTOR[1] در سلول‌های انتروسیت روده ساخت پروتئین را افزایش و تجزیه پروتئین را مهار می‌کند. همچنین پاره‌ای دیگر از اثرها ممکن است از طریق اثر آرژنین بر مسیرهای محرک رشد و تکثیر سلولی شامل تحریک تولید انسولین و هورمون رشد (فلویـد و همکـاران ۱۹۶۶؛ جهانیـان ۲۰۰۹ و داویـس و همکـاران ۱۹۷۲)، تحریک تولید پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین)، (خواجعلی و وایدرمن ۲۰۱۰) و تحریک تولید اکسید نیتریک (جوبگن و همکاران ۲۰۰۶) اعمال شده باشد و از این طریق افزایش طول و وزن روده کوچک و افزایش طول پرز، عرض پرز و قطر کریپت را ایجاد کرده است. ۳- قسمتی از اثرهای بهبود دهنده تزریق درون تخم‌مرغی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین بر شاخص‌های وزنی، طولی و همچنین بهبود مرفولوژی بافت روده ممکن است از طریق نقش لیزین در بیوسنتز الکارنیتین (ارسلان ۲۰۰۶) میانجی‌گری شده باشد. ال کارنیتین با افزایش غلظت IGF-I موجب افزایش تکثیر سلولی (شافعی و همکاران ۲۰۱۰) و بنابراین افزایش رشد روده و بهبود مرفولوژی آن شده است. ۴- همچنین مشخص شده است که افزایش تمایز و رشد سلول¬های روده با افزایش نیاز به پروتئین و اسیدهای آمینه همراه است (کانت و همکاران ۱۹۹۶) و اسیدهای آمینه به عنوان سوبسترای اصلی در تمایز سلول‌های روده از جمله انتروسیت‌ها نقش دارند (کالدر و یکوب ۱۹۹۹). بنابراین ممکن است این عامل نیز در افزایش ارتفاع پرز در اثر برخی نسبت‌های مختلف ال- آرژنین به ال- لیزین نقش داشته باشد.

نتیجه گیری کلی

در پژوهش حاضر اگرچه نسبت ۸۵/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین بهترین اثر را در افزایش وزن جوجه یک روزه و وزن بورس فابریسیوس داشت (که البته در این دو شاخص اختلاف معنی‌داری بین اثر دو نسبت /۸۵ درصد و /۹۰ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین وجود نداشت)، در مورد بیشتر شاخص‌های وزنی، طولی و بافت‌شناسی روده کوچک با نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین بیشترین افزایش مشاهده شد و بنابراین سطح قابل توصیه در این آزمایش نسبت ۹۰/۷ درصد ال- آرژنین به ال- لیزین هست.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقایان دکتر رافت، دکتر دقیق کیا، دکتر مقدم و سایر همکاران و دانشجویان گروه علوم دامی دانشگاه تبریز که در انجام این آزمایش همکاری داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

[1]Mammalian target of rapamycin

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

Al-Murrani WK, 1982. Effect of injecting amino acids into the egg on embryonic and subsequent growth in the domestic fowl. British Poultry Science 23: 171–174.

Arslan C, 2006. L-carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding a review. Revue de Médecine Vétérinaire 157:134-142.

Arslan C, Citil M and Satsi M, 2004. Effect of L-carnitine administration on growth performance, carcass traits, serum lipids and abdominal fatty acid composition of geese. Revue de Médecine Vétérinaire 155(6): 315-320.

Asmawat I, Sonjaya H, Natsir A and Pakiding W, 2015. Native chicken embryo quality improvement through *in ovo* feeding. Asian Journal of Microbiology Biotechnology & Environmental Sciences 17: 69-74.

Baker DH, 2009. Advances in protein– amino acid nutrition of poultry. Amino Acids 37: 29-41.

Ball RO, Urschel KL and Pencharz PB, 2007. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. The Journal of Nutrition 137: 1626S-1641S.

Bartell SM and Batal AB, 2007. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. Poultry Science 86: 1940-1947.

Bauchart-Thevret C, Cui L, Wu G and Burrin DG, 2010. Arginine-induced stimulation of protein synthesis and survival in IPEC-J2 cells is mediated by mTOR but not nitric oxide. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 299: E899-E909.

Bhanja SK and Mandal AB, 2005. Effect of *in ovo* injection of critical amino acids on pre and post hatch growth, immunocompetence and development of digestive organs in broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Science 18: 524-531.

Bhanja SK, Baran Mandal A, Agarwal SK and Majumdar S, 2012. Modulation of post hatch-growth and immunocompetence through *in ovo* injection of limiting amino acids in broiler chickens. Indian Journal of Animal Sciences 82: 993-8.

Calder PC and Yaqoob P, 1999. Glutamine and the immune system. Amino Acids 17: 227–241.

Cant PJ, McBride BW and Croom JWJ, 1996. The regulation of intestinal metabolism and its impact on whole animal energetics. Journal of Animal Science 74: 2541–2553.

Caspary WF, 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. The American Journal of Clinical Nutrition 55: 299S-308S.

Chen J, Li X, Balnave D and Brake J, 2005. The influence of dietary sodium chloride, arginine: lysine ratio, and methionine source on apparent ileal digestibility of arginine and lysine in acutely heat-stressed broilers. Poultry Science 84: 294-297.

Chen W, Wang R, Wan HF, Xiong XL, Peng P and Peng J, 2009. Influence of *in ovo* injection of glutamine and carbohydrates on digestive organs and pectoralis muscle mass in the duck. British Poultry Science 50: 436 – 442.

Davis SL, 1972. Plasma levels of prolactin, growth hormone, and insulin in sheep following the infusion of arginine, leucine and phenylalanine. Endocrinology 91: 549-555.

Dibner J, Knight C, Kitchell M, Atwell C, Downs A and Ivey F, 1998. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. Journal of Applied Poultry Research 7: 425-436.

Ebrahimi M, Janmohammadi H, Daghigh Kia H, 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: 116-124.

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z and Ghafari Balesini M, 2016. The effects of dietary L-arginine on some parameters of meat quality, intestine histology and immune system of 46-d old broiler chickens. Journal of Animal Science Reaserches 26: 83-96. (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Ebrahimi M, Zare Shahneh A, Shivazad M, Ansari Pirsaraei Z, Tebianian M, Adibmoradi M and Nourijelyani K, 2013. Evaluation of the effect of feeding L- arginine on growth performance, carcass traits and blood parameters in broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science 44: 157-166.

Edwards NM, Heberle ND and Hynd PI, 2016. The effect of *in ovo* administration of L-arginine on the hatchability and embryological development of broiler chicks. SAP Animal Production 2016, Adelaide.

Fernandes JIM, Murakami AE, Martins EN, Sakamoto MI and Garcia ERM, 2009. Effect of arginine on the development of the pectoralis muscle and the diameter and the protein: deoxyribonucleic acid rate of its skeletal myofibers in broilers. Poultry Science 88: 1399-1406.

Floyd JCJ, Fajans SS, Conn JW, Knopf RF and Rull J, 1966. Stimulation of insulin secretion by amino acids. Journal of Clinical Investigation 45: 1487–1502.

Foye OT, Ferket PR and Uni Z, 2007. The effects of *in ovo* feeding arginine, β-hydroxy-β-methyl-butyrate, and protein on jejunal digestive and absorptive activity in embryonic and neonatal turkey poults. Poultry Science 86:2343–2349.

Foye OT, Uni Z and Ferket PR, 2006a. Effect of *in ovo* feeding egg white protein, β-hydroxy-β-methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. Poultry Science 85:1185–1192.

Foye OT, Uni Z, McMurtry JP and Ferket PR, 2006b. The effects of amniotic nutrient administration, *in ovo* feeding of arginine and/or ß-hydroxy-ß-methyl butyrate (HMB) on insulin-like growth factors, energy metabolism and growth in turkey poults. International Journal of Poultry Science 5: 309-317.

Geyra A, Uni Z and Sklan D, 2001. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. British Journal of Nutrition 86:56–61.

Ghochkhani R, Ebrahimi M, Daghigh Kia H and Rafat SA, 2017. Effects of in ovo feeding with different ratios of D-L methionine to L- lysine on carcass parameters and blood metabolite concentrations in day-old Ross broiler chicks. Animal Science Research 27: 143-158.

Humphrey BD, Stephensen CB, Calvert CC and Klasing KC, 2006. Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (Gallus gallus domesticus). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 143: 218-227.

Jahanian R, 2009. Immunological responses as affected by dietary protein and arginine concentrations in starting broiler chicks. Poultry Science 88: 1818-1824.

Jobgen WS, Fried SK, Fu WJ, Meininger CJ and Wu G, 2006. Regulatory role for the arginine–nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. The Journal of Nutritional Biochemistry 17: 571-588.

Khajali F and Widerman RF, 2010. Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. World's Poultry Science Journal 66: 751-766.

Kita K, Kato S, Amanayama M, Okumura J and Yokota H, 2002. Dietary Lcarnitine increase plasma insulin-like growth factor: I. concentration in chiken fed a diet with adequate dietary protein level. British Poultry Science 43: 117-121.

Klasing KC and Barnes DM, 1988. Decreased amino acid requirements of growing chicks due to immunologic stress. Journal of Nutrition 118: 1158–1164.

Labadan MC and Austic RE, 2001. Lysine and arginine requirement of broiler chickens at two to three-week intervals to eight weeks of age. Poultry Science 80: 599-606.

Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL and Butler A, 2001. The somatomedin hypothesis. Endocrine Reviews 22, 53–74.

Mulyantini NG, 2014. The Antibody and Organ Immune Responses of Broiler Starter Fed Diets with Graded Levels of Digestible Lysine. Media Peternakan 37: 57-60.

www.SID.ir

Archive of SID

Munir K, Muneer MA, Masaoud E, Tiwari A, Mahmud A, Chaudhry RM and Rashid A, 2009. Dietary arginine stimulates humoral and cell-mediated immunity in chickens vaccinated and challenged against hydropericardium syndrome virus. Poultry Science 88: 1629-1638.

Murakami AE, Fernandes JI, Hernandes L and Santos TC, 2012. Effects of starter diet supplementation with arginine on broiler production performance and on small intestine morphometry. Pesquisa Veterinária Brasileira 32: 259-266.

Nayak N, Rajini RA, Ezhilvalavan S, Sahu AR and Kirubaharan JJ, 2016. Influence of in-ovo arginine feeding on post-hatch growth performance and economics of broilers. Journal of Animal Research 6: 585-591.

Pluske JR, Hampson DJ and Williams IH, 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig – a review. Livestock Production Science 51: 215- 236.

Poosti A and Adibmoradi M, 2008. Laboratory technics in histology. University of Tehran Press. (In Persian).

Qureshi MA, 2003. Avian macrophage and immune response: an overview. Poultry Science 82: 691-698.

Shafey TM, Al-Batshan HA, Al-Owaimer AN and Al-Samawei KA, 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: 122-131.

Tan B, Yin Y, Kong X, Li P, Li X, Gao H, Li X, Huang R and Wu G, 2010. L-Arginine stimulates proliferation and prevents endotoxin-induced death of intestinal cells. Amino Acids 38: 1227–1235.

Uni Z and Ferket RP, 2004. Methods for early nutrition and their potential. World's Poultry Science Journal 60: 101-111.

Uni Z, Tako E, Gal-Garber O and Sklan D, 2003. Morphological, Molecular and Functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. Poultry Science 82:1747–1754.

Uni Z, Ferket PR, Tako E and Kedar O, 2005. *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryos. Poultry Science 84:764–770.

Yao K, Guan S, Li T, Huang R, Wu G, Ruan Z and Yin Y, 2011. Dietary L-arginine supplementation enhances intestinal development and expression of vascular endothelial growth factor in weanling piglets. British Journal of Nutrition 105: 703-709.

Yason CV, Summers BA and Schat KA, 1987. Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: pathology. American Journal of Veterinary Research 48: 927-938.

Yegani M and Korver DR, 2008. Factors affecting intestinal health in poultry. Poultry Science 87: 2052-2063.

Yi GF, Allee GL, Knight CD and Dibner JJ, 2005. Impact of glutamine (GLM) and Oasis hatchling supplement on growth performance and immune responses of broiler vaccinated and challenged with Eimeria maxima. Poultry Science 84: 283-93.

www.SID.ir

Archive of SID

The impact of *in ovo* feeding with different L- arginine to L- lysine ratios on small intestine histological characteristics and immune system organs in day-old chicks

M Ebrahimi[1*], F Abdolalizadeh Alvanagh[2], M Adibmoradi[3], H Janmohammadi[1] and Z Rajabi[4]

Received: June 19, 2017 Accepted: October 14, 2017

[1]Assistant Professor and Professor, Respectivly, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] MSc Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3] Professor, Department of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[4]Associate professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: marzebrahimi@tabrizu.ac.ir

Introduction: The avian embryo develops in a carbohydrate free environment and restricted resources of energy and nutrients for supporting its growth (Foye et al. 2006a). *In ovo* injection is a method for supplying nutrients into amniotic fluid, which further can be ingested orally and improves intestinal development and function (Uni et al. 2005; Foye et al. 2007). Previous studies showed positive effects of arginine and lysine on intestinal growth and morphology (Foye et al. 2006 b; Nayak et al. 2016; Ebrahimi et al. 2017). Al-Murrani (1982) reported that 85.7% L- arginine to L- lysine ratio is adequate for growth of 7 d-old chick embryo. Though there are few reports regarding the effect of different L-arginine to L- lysine ratios on chick embryo intestine growth. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of *in ovo* injection with different L- arginine to L- lysine ratios on small intestine growth and its morphology, and also the immune system organs' weight of a day-old Ross 308 broiler chicks.

Material and methods: A total of 210 fertile Ross × Ross 308 broiler eggs were purchased from a breeder flock with 24 weeks of age. Eggs were weighed and then assigned into 7 experimental groups with 30 individual eggs per each group. Treatment groups were included: non-injected control, sham-control (distilled water), and 75.7, 80.7, 85.7, 90.7, and 95.7 % L- arginine to L- lysine ratios, which was injected into the amniotic fluid on 14 d of incubation from the broad end of eggs. Lysine was considered 2% based on a previous experiment (Ebrahimi et al. 2017) and then, L- arginine to L- lysine ratios were considered based on what Al-Murrani (1982) reported for 7 d old chick embryo with 5% higher and lower intervals (85.7%). On d 22, chicks were weighed and slaughtered. Afterward, length and weight of duodenum, jejunum, and ileum were recorded. Also, thymus (right lobes), bursa of Fabricius, and spleen were weighed. Moreover, relative weight of these organs to hatchling weight was calculated. For intestine morphology evaluation, segments of duodenum, jejunum, and ileum drowned in 10% neutral buffered formalin around one week for fixation. After fixation, tissue samples were processed using dehydration protocol (series of graded alcohols), clearance by xylene, and embedment in paraffin. Then, these samples were cut into 5 µm thick cross sections using microtome instrument and were mounted on slides. Then, staining process was performed using Hematoxylin and Eosin (Poosti and Adibmoradi 2008). Finally, villus height, crypt depth, villus width and crypt diameter were measured by a Zeiss light microscope. Data were then analyzed based on a completely randomized design by the GLM procedure of SAS 9.2 software.

Results and discussion: Based on the results, *in ovo* feeding of different L- arginine to L- lysine ratios up to 85.7% had an increasing effect on chick weight ($P<0.01$; Table 1). Similar to the present results, Edwards et al. (2012) and Nayak et al. (2016) reported that *in ovo* injection of arginine had an

www.SID.ir

Archive of SID

increasing effect on chick weight. Also, it was indicated that *in ovo* injection of lysine improved hatchling weight (Asmawat et al. 2015; Ebrahimi et al. 2017). The improving effect of different L-arginine to L- lysine ratios partly may be mediated by growth stimulatory effects of arginine (stimulating secretion of insulin and growth hormone along with increasing synthesis of nitric oxide and polyamines), (Floyd et al. 1966; Davis et al. 1972; Jobgen et al. 2006; Khajali and Widerman 2010) and partly by growth stimulatory effects of lysine (stimulating carnitine synthesis and as a result, increasing IGF-I secretion), (Arslan et al. 2004; Kita et al. 2002). Treatments also increased bursa of Fabricius weight ($P<0.05$) and the highest amount was observed by 85.7% L- arginine to L- lysine ratio (Table 1). In accordance with the present study, *in ovo* injection of lysine up to 20 mg improved bursa of Fabricius weight (Ebrahimi et al. 2017). *In ovo* injection of different L- arginine to L- lysine ratios had an increasing effect on jejunum ($P<0.01$), ileum ($P<0.05$), and small intestine length ($P<0.01$), relative weight of small intestine to chick live body weight ($P<0.01$), and duodenum, jejunum, and ileum weights ($P<0.05$; Table 2). Also morphological results indicated higher villus height and villus height/crypt depth ratio, while lower crypt depth in jejunum and ileum by almost all treatments in comparison with control groups (Table 2). Also, 90.7% L- arginine to L- lysine ratio had the best improving effect on the most of intestinal parameters. Similar to the present results, Edwards et al. (2016) showed that *in ovo* injection of arginine improved weight, length and villus height of intestine in chicks. Foye et al. (2007) indicated improving effect of *in ovo* injection with arginine on digestion and absorption capacity of jejunum in turkey. Ebrahimi et al. (2017) reported that *in ovo* injection of 20 mg L- lysine increased ($P<0.05$) jejunum weight and also villus height, villus height/crypt depth ratio, while reduced crypt depth of duodenum, jejunum, and ileum. As increasing in intestine length, villus height, and villus height/crypt depth ratio are indicators for high nutrient digestion and absorption, it may be concluded that *in ovo* injection of 90.7% L- arginine to L- lysine ratio will be able to improve growth of chicks during the rearing period (Pluske et al. 1997; Caspary 1992; Ebrahimi et al. 2016, 2017). Improving effect of arginine may be mediated by activating mTOR signaling pathway which resulted in higher protein synthesis, while lower protein degradation (Tan et al. 2010). Lysine may improve intestinal growth parameters by biosynthesis of L-carnitine and then stimulating IGF-I secretion which can result in improvement of intestine growth (Arslan 2006; Shafey et al. 2010).

Conclusion: In the present study, though 85.7% L- arginine to L- lysine ratio had the best effect on hatchling and bursa of Fabricius weight, *in ovo* injection of 90.7% L- arginine to L- lysine ratio had the best improving effect on weight, length, and morphological parameters of broiler chicks, then is a suggestible level for *in ovo* injection.

Keywords: Immune system organs, *In ovo* injection, L- arginine to L- lysine ratio, Small intestine histology

www.SID.ir