

بررسی تأثیر تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف نیتريت بر رشد و توسعه ی جنين و برخی از فراسنجه های خونی جوجه های تازه هچ شده

• الميرا محمدی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

• محسن دانشيار (نویسنده مسئول)

استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

• فرهاد فرخی اردبیلی

استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

• اسکندر علیزاده

کارشناس ارشد، مرکز اصلاح نژاد و پشتیبانی مرغ بومی استان آذربایجان غربی

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۴۴۱۲۹۷۲۳۴۱

Email: m.daneshyar@urmia.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، اثر تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف نیتريت سدیم (۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم به ازای هر تخم مرغ) بر رشد و توسعه ی جنين و بعضی از فراسنجه های خونی جوجه های تازه هچ شده بررسی شد. تعداد ۳۰۸ عدد تخم مرغ بارور برای این منظور استفاده شد. این تخم مرغ ها در روز هفتم جوجه درآوری به ۴ گروه آزمایشی تقسیم شدند و سطوح مختلف نیتريت سدیم را به صورت محلول در آب مقطر دریافت کردند. آزمون کای اسکوار برای مقایسه ی آماری جوجه درآوری و تلفات جنين استفاده شد. نتایج فراسنجه های خونی بر پایه ی طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۵ نمونه ی خونی برای هر یک مورد آنالیز قرار گرفتند. مقایسه ی میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. تزریق نیتريت سدیم تأثیری بر درصد جوجه درآوری و مرگ و میر نداشت ($P > 0.05$). وزن جوجه های حاصل از تخم مرغ های تزریق شده با نیتريت سدیم پایین تر از وزن جوجه های تخم مرغ های شاهد بود ($P < 0.05$). پروتئین کل خون جوجه های حاصل از تخم مرغ های تزریق شده با سطح ۰/۰۴۲ میلی گرم نیتريت سدیم به طور معنی داری پایین تر از مقدار مربوط به جوجه های حاصل از تخم مرغ های شاهد بود ($P < 0.05$). همچنین در مقایسات مستقل، پروتئین تام خون جوجه های هچ شده از تخم مرغ های تزریق شده با نیتريت سدیم کمتر از مقدار مربوط به جوجه های شاهد بود ($P < 0.05$). تفاوت معنی داری بین جوجه های تیمارهای مختلف برای کلسترول، تری گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین خون مشاهده نشد ($P > 0.05$). به طور کلی تزریق داخل تخم مرغی نیتريت سدیم تأثیری بر جوجه درآوری، مرگ و میر، کلسترول کل، تری گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین خون جوجه های تازه هچ شده ندارد ولی پروتئین تام خون این جوجه ها را کاهش می دهد و منجر به کاهش وزن این جوجه ها می گردد.

کلمات کلیدی: پروتئین خون، تزریق داخل تخم مرغی، نیتريت سدیم، وزن جوجه ی یکروزه

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 97 pp: 52-59

Evaluation of different sodium nitrite levels *in ovo* injection on embryo growth and development, and some blood metabolites on newly hatched chicks

By: Mohamadi, E. Msc, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, Daneshyar, M. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author; Tel: +984412972341), Farokhi F. Ardabili, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, Alizadeh, E. Msc, West Azerbaijan Native Hen Support and Breeding Center, Urmia, Iran

In this experiment, the effect of *in ovo* injection of different levels of sodium nitrite (0, 0.042, 0.084 and 0.168 mg per egg) was investigated on embryo growth, and development, and some blood metabolites on newly hatched chicks. For this purpose, three hundred and eight fertile eggs were used. These eggs were divided to four groups on day 7 of incubation and injected with different sodium nitrite levels dissolved in distilled water. Chi-square test was used to statistical compare of hatchability and embryo mortality. The results of blood metabolites were analyzed based a completely randomized design with four treatments and five blood samples in each treatment. The Duncan multiple comparison test was used to comparison of means at significance level of 0.05. Injection of sodium nitrite had no effects on hatchability and mortality ($P>0.05$). Body weight of chicks in sodium nitrite injected eggs was lower than that of control eggs ($P<0.05$). The total blood protein of chicks from the eggs injected with 0.042 mg sodium nitrite was lower than that of the chicks from other eggs ($P<0.05$). Moreover, total blood protein of chicks from sodium injected eggs was lower as compared to that of control eggs ($P<0.05$). There was no significant differences between the treatments for blood total cholesterol, triglyceride, hematocrit and hemoglobin ($P>0.05$). It was concluded that injection of sodium nitrite doesn't affect hatchability, mortality and blood total cholesterol, triglyceride, hematocrit and hemoglobin but it decreases the blood total protein and hence body weight of newly hatched chicks.

Keywords: Blood protein, *In ovo* injection, Sodium nitrite, One-day chick weight

مقدمه

افزایش جمعیت جهان و نیاز به غذای بیشتر، نبود زمین حاصلخیز کافی و محدود بودن سطح زیر کشت، نظر متخصصان را به سمت افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی سوق داده است. یکی از راهکارهای افزایش محصولات کشاورزی استفاده از کودهای شیمیایی بخصوص کودهای نیتراته است. افزایش استفاده از این کودها باعث افزایش غلظت یون نترات در خاک و سپس شسته شدن آن ها به سمت آب های زیرزمینی شده است و در نتیجه، منجر به افزایش نترات آب گردیده است. یون نترات از آلاینده های منابع آب های زیر زمینی است که علاوه بر چرخه ی طبیعی، ازت در اثر ورود فاضلاب انسانی، مواد زاید شهری و صنعتی و فعالیت های کشاورزی وارد منابع آب و خاک شده و اثرات نامطلوبی بر سلامتی مصرف کنندگان بر جا می گذارد. نترات، یونی پایدار و محلول در آب است که به طور طبیعی به صورت یون (NO_3^-) در قسمتی از چرخه ی ازت ساخته می شود. نترات به خودی خود مضر نیست ولی پس از تبدیل شدن به نیتريت سمی خواهد بود. نیتريت بعد از ورود به جریان خون با آهن دو ظرفیتی هموگلوبین واکنش داده و آن را به یون آهن سه ظرفیتی تبدیل می

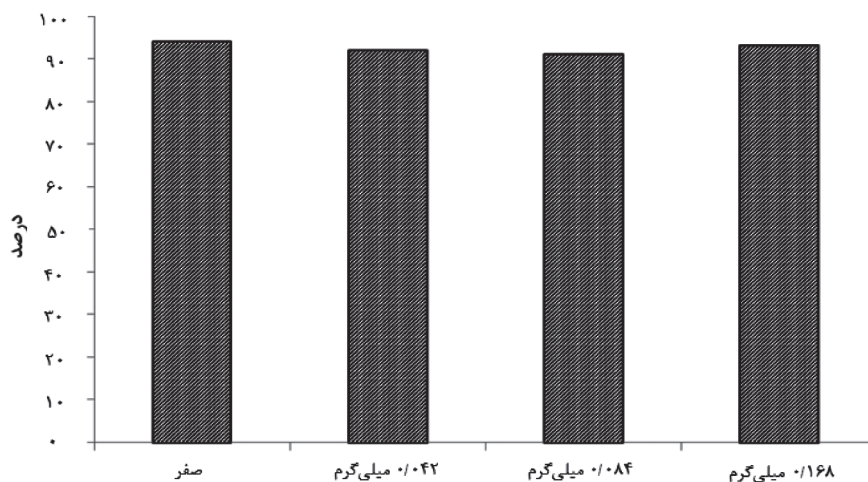
کند و به این ترتیب مت هموگلوبین تولید می شود که قابلیت حمل اکسیژن را ندارد و به این حالت مت هموگلوبینمیا گفته می شود (Fan و همکاران، ۱۹۸۷). مت هموگلوبینمیا باعث کمبود اکسیژن می گردد. به علاوه مشکلات و بیماری هایی مانند سرطان، افزایش فشار خون، افزایش مرگ و میر جنین، نقص سیستم عصبی مرکزی، دیابت، سقط های خود به خودی، عفونت دستگاه تنفسی و کاهش قدرت سیستم ایمنی را نیز به دنبال دارد (Morton، ۱۹۷۱؛ Malberg و همکاران، ۱۹۷۸؛ Super و همکاران، ۱۹۸۱؛ Dorsch و همکاران، ۱۹۸۴؛ Kozliuk و همکاران، ۱۹۸۹؛ Kostraba و همکاران، ۱۹۹۲؛ مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری، ۱۹۹۶؛ Hill، ۱۹۹۹؛ Gupta و همکاران، ۲۰۰۰). در سال ۱۹۶۲ انجمن بهداشت عمومی آمریکا حد مجاز نترات و نیتريت را برای مصارف انسانی در آب آشامیدنی به ترتیب ۵۰ و ۳ میلی گرم در لیتر توصیه نمود (سازمان جهانی بهداشت، ۱۹۸۵؛ انجمن بهداشت عمومی آمریکا، ۱۹۷۷ و ۱۹۹۶). نیتريت در خون دستخوش تغییر می شود و در واکنش اکسیداسیون با اکسی هموگلوبین مت هموگلوبین تولید می کند. بر عکس هموگلوبین، مت هموگلوبین قادر به انتقال اکسیژن نیست و بنابراین، افزایش تولید

طبق استاندارد جهانی ۳ میلی گرم بر لیتر می باشد (سازمان جهانی بهداشت، ۱۹۸۵؛ انجمن بهداشت عمومی آمریکا، ۱۹۷۷ و ۱۹۹۶) که با در نظر گرفتن میزان مصرف روزانه ۳ لیتر آب یک زن باردار با متوسط وزن ۸۰ کیلوگرم، ۰/۱۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بدست می آید و سطح مجاز نیتريت در تخم مرغ با میانگین وزن ۵۵ گرم، ۰/۰۰۶ میلی گرم خواهد بود و میزان ۰/۰۸۴ میلی گرم نیتريت سدیم برای ۱۴ روز انکوباسیون خواهد بود. بنابراین، سطوح بالاتر یعنی دو برابر آن (۰/۱۶۸ میلی گرم) و پایین تر یعنی نصف آن (۰/۰۴۲ میلی گرم) از ۰/۰۸۴ میلی گرم نیتريت سدیم مورد استفاده قرار گرفت. در روز هفتم انکوباسیون، تخم مرغ ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۷۷ تایی تقسیم شدند. به تخم مرغ های گروه شاهد آب مقطر (به عنوان حلال برای نیتريت سدیم جامد) تزریق شد در حالی که سطوح ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم به سه گروه دیگر تزریق شد. به همه ی تخم مرغ های گروه های آزمایشی ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر (حاوی ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم) با سرنگ ۱ سی سی به محل کیسه ی هوایی تزریق شد. قبل از تزریق، همه ی تخم مرغ ها با اتانول ۷۰ درصد استریلیزه شدند. سپس سوراخ کوچکی با سرسوزن (گیج ۲۲) در سطح تخم مرغ ها ایجاد شد. بعد از تزریق، این سوراخ ها با لاک غلط گیر بسته شده و به انکوباتور برگردانده شدند (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۰). بر اساس تحقیق Daneshyar و همکاران (۲۰۱۰) روز هفتم انکوباسیون زمان مناسب برای تزریق انتخاب شد زیرا این زمان مرحله ی بحرانی در رشد رویان می باشد (Willier، ۱۹۵۴). در روز هجدهم انکوباسیون، تمامی تخم مرغ های حاوی جنین زنده به سیدهای هچری انتقال داده شدند. در روز ۲۱، تخم مرغ های هچ نشده باز شدند و جنین های نابارور و مرده شناسایی شدند. جنین های مرده در دو گروه تلف شده تا سن ۷ روزگی و بعد از ۷ روزگی طبقه بندی شدند. سن مرگ و میر مطابق معیار Hamburger-Hamilton (۱۹۵۱) و توسط تصویرهای مربوط به مراحل رشد جنین در روزهای مختلف مشخص گردید. درصد هچ به صورت نسبت جوجه های هچ شده به تخم مرغ های بارور محاسبه شد. در زمان هچ، ۳۰ جوجه از هر گروه برای ارزیابی کیفیت جوجه (Tona و همکاران، ۲۰۰۳) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین همه ی جوجه ها در زمان هچ وزن کشی شده و ۱۰ جوجه از هر گروه به طور تصادفی انتخاب و کشتار شدند. نمونه های خونی حین کشتار از گردن این جوجه ها گرفته شد (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۰). دو سری نمونه ی خونی در لوله های حاوی ماده ی ضد انعقادی (EDTA) جمع آوری شد. یک سری از این نمونه های خونی در ۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه برای جمع آوری نمونه های پلاسما سانتریفیوز شدند. این نمونه های پلاسما تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد نگه داشته شدند. درصد هماتوکریت نمونه های خونی به روش سانتریفیوژ (Hematocrit Centrifuge, NT) تعیین شد. هموگلوبین نمونه های خون با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت زیست شیمی ایران و همچنین میزان کلسترول کل، تری گلیسرید و پروتئین کل نمونه های پلاسما توسط روش اسپکتروفتومتری (با دستگاه Alcyon، ۳۰۰، USA) و با استفاده از کیت پارس آزمون تهران- ایران اندازه گیری شدند. داده های

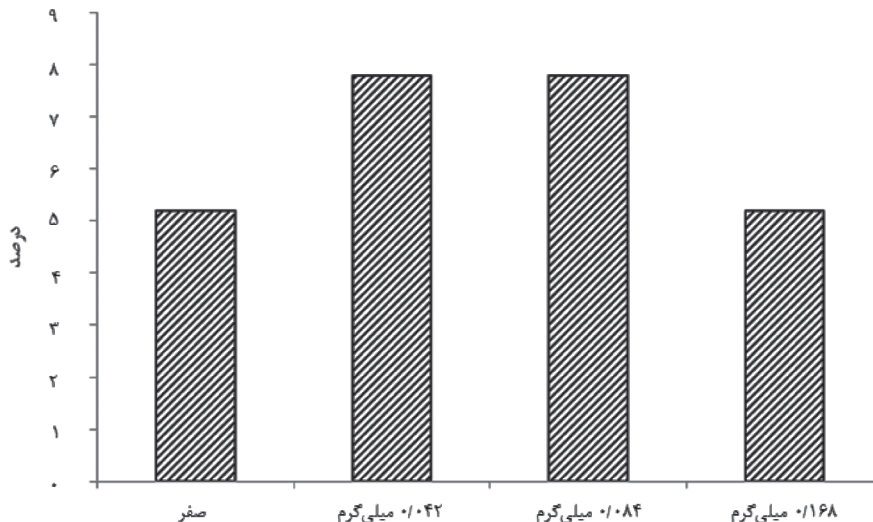
مت هموگلوبین در جریان خون توانایی خون برای انتقال اکسیژن را کاهش می دهد. نیتريت می تواند از طریق جفت وارد گردش خون جنین شود (Kuciba و Sleight، ۱۹۷۰؛ Gruener و Shuval، ۱۹۷۲؛ Grener و همکاران، ۱۹۷۳) و منجر به مشکلاتی در جنین گردد. اطلاعات کافی در مورد اثرات منفی نیتريت بر رشد و توسعه ی جنین در انسان در دسترس نیست. اما اثرات منفی آن بر جنین بعضی از حیوانات گزارش شده است. برای مثال، مصرف نیتريت از طریق آب آشامیدنی در گاوهای شیری باعث افزایش تولید مت هموگلوبین می شود (Grener و همکاران، ۱۹۷۳). همچنین، مصرف ۵۰-۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیتريت سدیم در آب آشامیدنی موش های آبستن باعث تولید مت هموگلوبین در خون آنها و متعاقباً جنین گردیده است (علوم آکادمی ملی، ۱۹۸۱؛ Fan، ۱۹۹۶). Globus و همکاران (۱۹۷۸) اثرات سوء مصرف نیتريت سدیم را بر جفت و جنین موش مشاهده کردند. Inui (۱۹۷۹) گزارش کرد که تزریق سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن به همستر در روز ۱۱ یا ۱۲ آبستنی تغییرات کروموزومی را در نتاج آن ها باعث نشد اما بالاترین سطح نیتريت (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث جهش گردید. Sund (۱۹۵۷)، سقط جنین و تحلیل رفتن بعضی از ارگان های جنین سقط شده ناشی از مت هموگلوبینمیا را در اثر چرای تلیسه های آبستن در مراتع دارای خاک حاوی سطوح بالای ازت و نیتريت مشاهده شد. اگرچه اثرات منفی نیتريت در بعضی از حیوانات مشاهده شده است ولی تاکنون هیچ نتیجه ی در رابطه با اثرات احتمالی رو به افزایش نیتريت محصولات کشاورزی و آب آشامیدنی و نیتريت تولیدی حاصل از آن بر رشد جنین انسان گزارش نشده است. جنین جوجه در مقایسه با جوجه ی هچ شده به سطوح پایین تر ترکیبات سمی خیلی حساس است (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۰). جنین جوجه به طور موفقیت آمیزی به عنوان یک روش تشخیصی برای ارزیابی سلامت افزودنی های خوراکی، داروها، حشره کش ها، علف کش ها، قارچ کش ها و حتی بیماری زایی ویروس ها استفاده شده است (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۰). این روش با آزمایش های تغذیه ای متفاوت است زیرا ماده ی شیمیایی تماس مستقیمی با جنین در طول رشد و توسعه خواهد داشت و اثرات سمی آن به راحتی قابل مشاهده خواهد بود (Daneshyar و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین هدف از این آزمایش بررسی اثرات احتمالی تزریق سطوح مختلف نیتريت سدیم (۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم به ازای هر تخم مرغ در روز هفتم انکوباسیون) بر رشد و توسعه ی جنین و فراسنجه های خونی شامل کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، هماتوکریست و هموگلوبین با استفاده از تخم مرغ های بارور به عنوان یک مدل انسانی بود.

مواد و روش ها

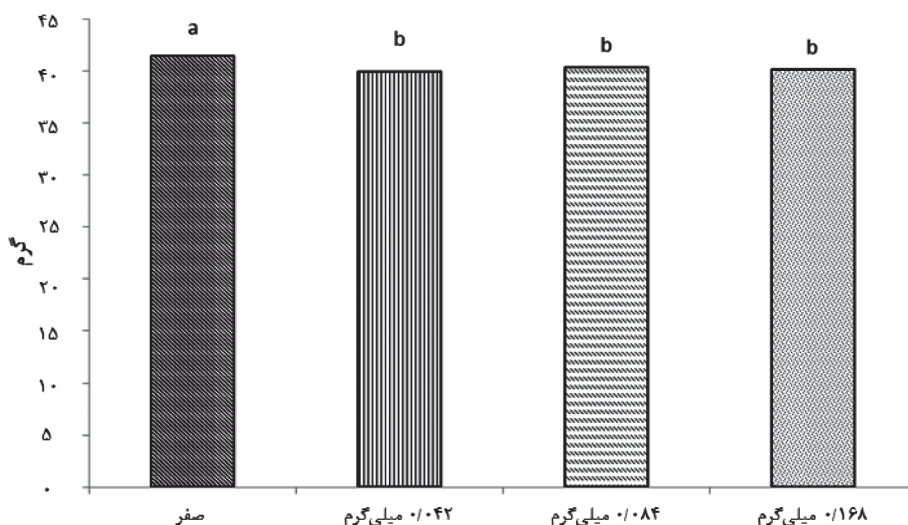
تعداد ۳۰۸ عدد تخم مرغ بارور با میانگین وزنی ۵۵/۹۱ گرم از سویه ی مرغ گوشتی راس (۳۰۸) در انکوباتور تحت شرایط استاندارد (دمای ۳۷/۷ درجه ی سانتی گراد و رطوبت نسبی ۶۵ درصد در انکوباتور و دمای ۳۷/۲ درجه ی سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد در هنگام هچ) قرار گرفتند. حداکثر حد مجاز نیتريت در آب آشامیدنی



نمودار ۱- اثرات سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای هر تخم مرغ بر قابلیت جوجه درآوری



نمودار ۲- اثرات سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای هر تخم مرغ بر میزان مرگ و میر جنین



نمودار ۳- اثرات سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای هر تخم مرغ بر وزن جوجه های تازه هچ شده (خطای استاندارد وزن جوجه های تازه هچ شده = ۰/۱۶ و درصد احتمال = ۰/۰۰۴)

جدول ۱- اثرات سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای هر تخم مرغ بر میزان کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، هماتوکريت و هموگلوبین خون جوجه های تازه هچ شده

| میزان تزریق نیتريت سدیم | کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر) | تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) | پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر) | هماتوکريت(درصد) | هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) |
|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| صفر | ۳۰۸/۴۰ | ۷۷/۰ | ۲/۱۶ ^a | ۳۵/۶۰ | ۱۳/۶۰ |
| ۰/۰۴۲ | ۲۵۹/۲۰ | ۶۲/۶۰ | ۱/۸۰ ^b | ۳۴/۴۰ | ۱۲/۵۴ |
| ۰/۰۸۴ | ۳۴۵/۶۷ | ۹۱/۰۰ | ۲/۱۰ ^a | ۲۹/۴۰ | ۱۳/۰۰ |
| ۰/۱۶۸ | ۲۸۹/۰۰ | ۷۴/۵۰ | ۱/۹۵ ^{ab} | ۳۰/۴۰ | ۱۳/۵۲ |
| خطای استاندارد | ۱۳/۶۶ | ۴/۵۴ | ۰/۰۵ | ۱/۹۶ | ۰/۳۲ |
| احتمال | ۰/۱۹ | ۰/۲۱ | ۰/۰۳ | ۰/۶۵ | ۰/۶۶ |
| نیتريت سدیم در مقابل شاهد | ۰/۷۱ | ۰/۸۵ | ۰/۰۴ | ۰/۳۸ | ۰/۴۶ |

تاکنون تحقیق مشابهی در این زمینه گزارش نشده است. ولی اثرات مضر نیتريت در بعضی از حیوانات مشخص شده است. برای مثال، مصرف ۲/۵ تا ۵۰ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن در آب آشامیدنی موش در زمان آبستنی باعث تولید مت هموگلوبین در خون و متعاقباً در جنین آن شده است (گرومر و همکاران، ۱۹۷۳). تزریق ۵۰۰ میلی گرم نیتريت سدیم به ازای کیلوگرم وزن بدن در روز ۱۱ یا ۱۲ آبستنی در همستر موجب تغییرات کروموزومی در جنین های این حیوانات گردیده است (Inui, ۱۹۷۹). پیچ و همکاران (۱۹۹۰) نسبت های نیتريت کم (۴۰۰ قسمت در میلیون) و زیاد (۴۰۰۰ قسمت در میلیون) را در علوفه ی خشک به مدت ۵ و ۸ هفته به گاوهای آبستن و غیر آبستن تغذیه کردند و کاهش سطح پروژسترون سرم را در گاوهای تغذیه شده با سطوح بالای نیتريت گزارش نمودند. Neda و همکاران (۱۹۸۵) نشان دادند که مصرف نیتريت سدیم در آب آشامیدنی و یا در خوراک خوک های ماده، سطوح نیتريت سرم و اوهره را افزایش داده است ولی منجر به کاهش میزان هموگلوبین و هماتوکریت گردید. Minciuna و همکاران (۱۹۸۵) نیز گزارش کردند که مصرف ۱ تا ۳۰ میلی گرم بر لیتر نیتريت سدیم در آب آشامیدنی تلیسه های آبستن منجر به افزایش هموگلوبین خون شد ولی نقشی در ایجاد بیماری بالینی، مشکلات تولید مثلی و یا زایمان نداشت (۱۸). Das و همکاران (۲۰۰۴) اثرات سمی نیتريت را بر کپور هندی مشاهده کردند و LC ۵۰ نیتريت را در ماهی کپور هندی ۱۰/۴ میلی گرم در لیتر به مدت ۹۶ ساعت گزارش کردند. در این تحقیق تغییری در غلظت هموگلوبین یا هماتوکریت خون جوجه های تازه هیچ مشاهده نشد. البته باید به تفاوت های مربوط به نوع حیوان، میزان مصرف نیتريت و سطح سمی این ماده برای دو حیوان توجه شود.

نتیجه گیری

نتایج تحقیق اخیر نشان داد که تزریق داخل تخم مرغی نیتريت سدیم تأثیری بر جوجه درآوری، میزان مرگ و میر جنین و سطوح کلسترول کل، تری گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین خون جوجه های تازه هیچ ندارد ولی پروتئین خون جوجه ها را کاهش می دهد و منجر به کاهش وزن این جوجه ها می گردد. این کاهش پروتئین خون به دلیل مصرف آن طی گلوکونوزن برای تولید گلوکز و انرژی در شرایط هایپوکسیای ایجاد شده است.

منابع مورد استفاده

- 1- Abidi, R. (1990) *Endosulfan induced changes in the total serum proteins of Channapunctatus (Bloch)*. Boletim de Fisiologia Animal, Sao Paulo. 14: 41–48.
- 2- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (1996) Spontaneous abortions possibly related to ingestion of nitrate-contaminated well water—LaGrange County, Indiana. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 45(26): 569–572.
- 3- Daneshyar, M., Geuns jan, M.C., Buyse, J.G., Kermanshahi. H. (2010) Evaluation of steviol injection on chicken embryos:

مربوط به فراسنجه های خونی و وزن جوجه های تازه هیچ شده طبق دستور GLM نرم افزار SAS بر پایه ی طرح کاملاً تصادفی مورد آنالیز قرار گرفتند SAS (۲۰۰۳). مقایسه ی میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. آزمون کای اسکوار برای مقایسه ی آماری جوجه درآوری و تلفات جنین استفاده شد.

نتایج و بحث

اثرات تزریق نیتريت سدیم بر قابلیت جوجه درآوری و مرگ و میر جنین به ترتیب در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده اند. هیچ کدام از سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم به ازای هر تخم مرغ نیتريت سدیم تأثیری بر قابلیت جوجه درآوری یا تلفات جنین ها نداشت ($P > 0/05$). وزن جوجه ها در زمان هیچ تحت تأثیر تزریق نیتريت سدیم قرار گرفت و تزریق همه ی سطوح نیتريت سدیم منجر به کاهش وزن جوجه های هیچ شده گردید ($P < 0/05$) (نمودار ۳).

اثرات تزریق نیتريت سدیم بر فراسنجه های خونی جوجه های تازه هیچ شده در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان کلسترول کل، تری گلیسرید، هماتوکریت و هموگلوبین خون جوجه ها در زمان هیچ تحت تأثیر تزریق نیتريت سدیم قرار نگرفت ($P > 0/05$). اما پروتئین کل خون جوجه های حاصل از تخم مرغ های تزریق شده با سطح ۰/۰۴۲ میلی گرم نیتريت سدیم به طور معنی داری پایین تر از مقدار مربوط به جوجه های حاصل از تخم مرغ های شاهد بود ($P < 0/05$). تفاوت معنی داری بین پروتئین کل خون جوجه های سایر تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). در مقایسات مستقل نیز تزریق داخل تخم مرغی نیتريت به طور معنی داری میزان پروتئین تام خون را در مقایسه با شاهد کاهش داد ($P < 0/05$).

در مطالعه ی اخیر، تزریق داخل تخم مرغی سطوح ۰، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶۸ میلی گرم نیتريت سدیم باعث کاهش وزن و مقدار پروتئین کل خون جوجه های تازه هیچ شده گردید. به طور مشابهی، مصرف غلظت های بالای نیتريت (۴ تا ۱۰/۴ میلی گرم) در ماهی آزاد منجر به افزایش پروتئین خون گردیده است و این افزایش به آسیب ناشی از مصرف نیتريت نسبت داده شد که باعث کاهش دفع پروتئین خون گردیده است (Abidi, ۱۹۹۰). Das و همکاران (۲۰۰۴) نیز به طور مشابهی اثرات نیتريت را بر کپور هندی بررسی کردند و کاهش میزان پروتئین خون را در این نوع ماهی گزارش کردند. البته این محققین کاهش پروتئین خون را به بروز شرایط هایپوکسیای ناشی از مصرف نیتريت نسبت دادند. هایپوکسیا باعث کمبود اکسیژن در خون می گردد و در نتیجه افزایش مصرف گلوکز و نیاز به تولید گلوکز بیشتر می گردد. این افزایش نیاز به گلوکز منجر به افزایش کاتابولیسم پروتئین بافتی برای تبدیل به گلوکز به منظور تولید انرژی گردیده است و در نهایت میزان پروتئین خون را هم کاهش داده است. بنابراین، به نظر می رسد که کاهش پروتئین خون جوجه های حاصل از تخم مرغ های تزریق شده با نیتريت در تحقیق اخیر ناشی از تبدیل پروتئین های بافتی و خون به گلوکز برای تأمین انرژی مورد نیاز در شرایط هایپوکسیای ایجاد شده باشد که حتی منجر به کاهش وزن این جوجه ها نیز گردیده است.

Effects on post-hatch development, proportional organ weights, plasma Thyroid hormones and metabolites. *Japan Poultry Science*. 47: 71-76.

4- Das, P.C. (2002) *Assessment of stress factors in intensive aquaculture*. PhD thesis. OUAT Bhubaneswar.

5- Dorsch, M.M., Scragg, R.K.R., McMichael, A.J., Baghurst, P.A., Dyer, K.F. (1984) Congenital malformations and maternal drinking water supply in rural South Australia: a case-control study. *American Journal of Epidemiology*. 119: 473-486.

6- Fan, A.M., Willhite, C.C., Book, S.A. (1987) Evaluation of the nitrate drinking water standard with reference to infant methemoglobinemia and potential reproductive toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 7: 135-148.

7- Fan, A.M. and Steinberg, V.E. (1996) Health implications of nitrate and nitrite in drinking water: an update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 23: 35-43.

8- Globus, M. and Samuel, D. (1978). Effect of maternally administered sodium nitrite on hepatic erythropoiesis in fetal CD-1 mice. *Teratology*. 18: 367-378.

9- Gruener, N., Shuval, H.I., Behroozi, K., Cohen, S., Shechter, H. (1973) Methemoglobinemia induced by transplacental passage of nitrites in rats. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 9: 44-48.

10- Gupta, S.K., Gupta, R.C., Gupta, A.B., Seth, A.K., Bassin, J.K., Gupta, A. (2000). Recurrent acute respiratory infections in areas with high nitrate concentrations in drinking water. *Environmental Health Perspectives*. 108: 363-366.

11- Hamburger, V. and Hamilton, H.L. (1951). A series of normal stages in the ability development of the chick embryo. *Journal of Morphology*. 88: 49-92.

12- Hill, M.J. (1999) Nitrate toxicity: myth or reality? *British Journal of Nutrition*. 81: 343-344.

13- Inui, N., Nishi, Y., Taketomi, M., Mori, M. (1979) Trans placental action of sodium nitrite on embryonic cells of Syrian golden hamster. *Mutation Research*. 66: 149-158.

14- Kociba, R.J., and Sleight, S.D. (1970) Nitrite toxicosis in the ascorbic acid-deficient guinea pig. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 16: 424-9.

15- Kostraba, J.N., Gay, E.C., Rewers, M., Hamman, R.F. (1992) Nitrate levels in community drinking waters and risk of IDDM. Anecological analysis. *Diabetes Care*. 15 (11):1505-1508.

16- Kozliuk, A.S., Kushnir, G.V., Anisimova, L.A., Shroit, I.G., Opopol, N.I. (1989) Immunological status of children living in

a region with an increased level of nitrates in the drinking water. *Gigiena I Sanitariia*. 54: 19-22.

17- Malberg, J.W., Savage, E.P., Osteryoung, J. (1978) Nitrates in drinking water and the early onset of hypertension. *Environmental Pollution*. 15: 155-160.

18- Minciuna, V., Neda, C., Popescu, V., Gruia, V., Medrea, N., Antonescu, D. (1985) *Effects of long-term administration of sodium nitrite in the drinking water*. Pasteur Institute for Veterinary Research and Biological Products. 17:121-30.

19- Morton, W.E. (1971) Hypertension and drinking water constituents in Colorado. *American Journal of Public Health*. 61: 1371-1378.

20- National Academy of Sciences (NAS). (1981) *Metabolism and pharmacokinetics of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds*. Washington, D.C.: National Academy Press. p. Chapter 8.

21- Neda, C., Gruia, V., Macovei, N., Contora, N., Chis, I., Dumitrescu, I. (1985) *Influence of sodium nitrite on some hematological and biochemical invariants in pregnant sows and piglets*. Pasteur Institute for Veterinary Research and Biological Products.

22- Page, R.D., Gilson, W.D., Guthrie, D., Mertens, D.R., Hatch, R.C. (1990) Serum progesterone and milk production and composition in dairy cows fed two concentrations of nitrate. *Veterinary & Human Toxicology*. 32: 27-31.

23- SAS Institute. (2003) SAS Users Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.

24- Sund, J.M. (1957) Weeds containing nitrates cause abortion in cattle. *Agron*. 49: 278-279

25- Super, M., Heese, H., MacKenzie, D., Dempster, W.S., duPless, J., Ferreira, J.J. (1981) An epidemiologic study of well water nitrates in a group of south west African Namibian infants. *Water Research*. 15: 1265- 1270.

26- Shuval, H., and Gruener, N. (1972) Epidemiological and toxicological aspects of nitrates and nitrites in the environment. *American Journal of Public Health*. 62 (8): 1045-52.

27- Tona, K., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V.M.B., Buyse, J. (2003) Effects of storage time on spread of hatch, chick quality and chick juvenile growth. *Poultry Science*. 82: 736-741.

28- U.S. EPA. (1977) *National Interim Primary Drinking Water Regulations*. EPA 570/9-76-003. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.

29- Willier, B.H. (1954) Phases in embryonic development. *American Journal of Veterinary Research*. 43 (supplement 1):

307-317.

30- World Health Organization (WHO) (1985) Health Hazards from Nitrates in Drinking Water. Report on a WHO Meeting. Copenhagen, 5–9 March 1984. Geneva.

31- World Health Organization (WHO). (1996) Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food: Nitrite. WHO Food Additives Series. 35: 269-323.

■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■

Archive of SID