

## اثرات تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی

مینو میرزاوندی چگنی<sup>۱</sup>، مجید متقی طلب<sup>۲\*</sup>، سید حسین حسینی مقدم<sup>۳</sup> و مصطفی گلشکن<sup>۴</sup>  
 ۱ و ۲. ۳. دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشیار و استادیار، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
 ۴. استادیار شیمی آلی، مجتمع فناوری‌های پیشرفته پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران  
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۴)

### چکیده

به منظور بررسی اثرات تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی، تعداد ۴۸۰ عدد تخم مرغ بارور سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۶ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ تخم مرغ در هر تکرار اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل بدون تزریق یا شاهد منفی (NC)، و تزریق ۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی یا شاهد مثبت (PC)، ۱ میلی لیتر سولفات منگنز (MnS)، ۱ میلی لیتر منگنز- متیونین (MnM)، ۱ میلی لیتر نانو منگنز (NMn) و ۱ میلی لیتر نانو منگنز متیونین (NMnM) بودند. نتایج به دست آمده نشان دادند که تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز سبب بهبود رشد جوجه‌های گوشتی شد. بیشترین و کمترین افزایش وزن در کل دوره پرورش به ترتیب مربوط به تیمار حاوی NMn و گروه PC بود ( $P < 0.05$ ). بهترین ضریب تبدیل غذایی در کل دوره آزمایش مربوط به تیمار NMn و NMnM بود ( $P < 0.05$ ). طول استخوان درشت‌نی در سن ۲۱ روزگی در تیمار حاوی MnS به طور معنی داری بالاتر بود ( $P < 0.05$ ) و وزن تر و خشک استخوان درشت‌نی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی در تیمار حاوی NMn به طور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). استحکام استخوان درشت‌نی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی به ترتیب در تیمارهای حاوی NMn و NMnM به طور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). حجم، چگالی و درصد خاکستر استخوان درشت‌نی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ( $P > 0.05$ ). بر اساس نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که تزریق درون تخم مرغی نانو ذرات منگنز به عنوان یک افزودنی خوراکی اثرات مثبتی بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی دارد.

واژه‌های کلیدی: استخوان درشت‌نی، تزریق درون تخم مرغی، جوجه‌های گوشتی، عملکرد، منگنز- متیونین، نانو منگنز.

## Effects of *in ovo* injection of different manganese sources on performance and tibia characteristics of broilers

Minoo Mirzavandi Chegeni<sup>1</sup>, Majid Mottaghitalab<sup>2\*</sup>, Seyed Hossein Hosseini Moghadam<sup>3</sup> and Mostafa Golshekan<sup>4</sup>  
 1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran

4. Assistant Professor of Organic Chemistry, Institute of Medical Advanced Technologies, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received: Sep. 9, 2018 - Accepted: Feb. 3, 2019)

### ABSTRACT

In order to investigate the effects of *in ovo* injection of different sources of manganese on performance and tibia characteristics of broilers, a total of 480 fertile eggs from ROSS 308 were assigned to 6 treatments, 4 replicates of 20 eggs per replicate in a completely randomized design. The experimental treatments included non-injected (negative control, NC), injection of 1 ml serum physiology (positive control, PC), 1 ml of manganese sulfate (MnS), 1 ml of manganese- methionine (MnM), 1 ml of nano manganese (NMn) and 1 ml of nano manganese methionine (NMnM). The results showed that the *in ovo* injection of different sources of manganese lead to improvement in broilers growth. The highest and lowest body weight gain in entire production period were recorded for NMn and PC group, respectively ( $P < 0.05$ ). NMn and NMnM groups showed the best feed conversion ratio in whole experimental period ( $P < 0.05$ ). The tibia length at 21 day of age was significantly higher in treatment containing MnS and fresh and dry weights of tibia at 21 and 42 days of age were significantly increased with NMn ( $P < 0.05$ ). The tibia breaking strength at 21 and 42 days of age was significantly increased in treatments containing NMnM and NMn ( $P < 0.05$ ). The tibia volume, density and ash percentage were not affected by experimental treatments on 21 and 42 days of age ( $P > 0.05$ ). According to these results, it seems that the *in ovo* injection of manganese nanoparticles as a feed additive has positive effects on performance and tibia characteristics of broilers.

**Keywords:** Broilers, *in ovo* injection, manganese-methionine, nano manganese, performance, Tibia.

\* Corresponding author E-mail: m\_mottaghi@gstp.ir

می توان با تزریق درون تخم مرغی مواد مغذی کاهش داد. تزریق مواد مغذی به داخل مایع آمیون در دوره جوجه کشی تقریباً معادل تغذیه یک جیره خارجی پس از خروج از تخم بوده و مواد مغذی تزریق شده در بافت های روده مورد هضم و جذب قرار می گیرند (Ferket, 2006).

در سال های اخیر استفاده از نانو مواد به منظور افزایش قابلیت زیست فراهمی مواد فعال، در صنعت پرورش طیور افزایش یافته است. ذرات مواد در مقیاس نانو در مقایسه با مواد در شکل معمولی به دلیل نسبت بیشتر سطح به حجم و فعالیت فیزیکی و ثبات شیمیایی بالاتر، قادرند ویژگی های فیزیکی و شیمیایی قابل توجهی را ارائه نمایند (Joshua et al., 2016). از آنجایی که غلظت و ترکیب منگنز بر جذب آن در روده کوچک جوجه های گوشتی مؤثر است (Bai et al., 2008)، بنابراین استفاده از نانو ذرات منگنز به علت تغییر در اندازه ذرات می تواند جذب این عنصر را از دستگاه گوارش افزایش دهد.

هدف از این تحقیق، بررسی اثر تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز شامل معدنی، آلی و نانو بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشتنی جوجه های گوشتی بود.

## مواد و روش ها

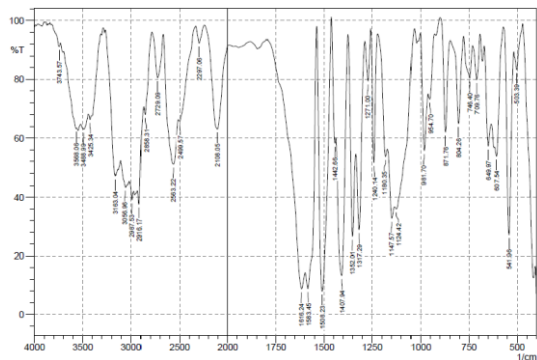
### سنتز مواد

برای سنتز مواد از محلول ۰.۲۵٪ آمونیاک (105432, Merck, Germany)، سولفات منگنز مونوهیدرات خالص (105999, Merck, Germany) و متیونین (816010, Merck, Germany) و هیدروکلریک اسید (7647-01-0, Sigma-Aldrich, USA) 37% استفاده شد. کلیه محصولات با مقایسه داده های طیفی و خواص فیزیکی آنها با طیف های حاصل از نمونه های معتبر، مورد شناسایی قرار گرفتند. از pH متر دیجیتال Jenway-3305 مجهز به یک الکتروود شیشه ای به منظور تنظیم pH ونیز در برخی موارد برای تسریع فرآیند، از دستگاه سانتریفیوژ (Model H-108 N, Kokusan, Korea) استفاده شد. برای سنتز ذرات منگنز- متیونین، ابتدا سولفات منگنز در آب مقطر دو

### مقدمه

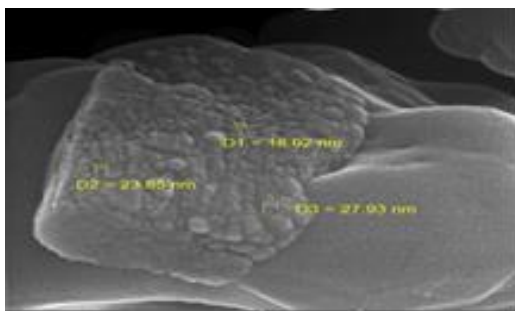
منگنز از جمله مواد معدنی کم نیاز و ضروری در تغذیه حیوانات است که در بسیاری از فرآیندهای زیستی و ترکیب بافت های بدن نقش مهمی را ایفا می کند (Conly et al., 2012). منگنز به عنوان بخش ضروری در موکوپلی ساکاریدهای غضروف استخوان محسوب شده و کمبود آن می تواند به ناهنجاری استخوان درشتنی (Liu et al., 1994; Ji et al., 2006) منجر شود. از طرفی به دلیل افزایش ظرفیت رشد و میزان سوخت و ساز بالای سویه های گوشتی امروزی (Tona et al., 2004)، افزایش شیوع مشکلات اسکلتی، موجب نگرانی هایی شده است (Shim et al., 2012). میزان جذب منگنز از دستگاه گوارش پرندگان، پایین است (Collins & Moran, 1999). به همین دلیل، اطمینان از قابلیت زیست فراهمی منگنز، ضروری بوده و عدم تامین کافی این عنصر موجب فشار اضافی بر ساختار استخوان می شود. سریع ترین مرحله توسعه اسکلت جوجه در طول روزهای اول بعد از هچ و در ۲ هفته اول دوره پرورش و زمانی که استخوان به طور کامل شکل نگرفته رخ می دهد از آنجایی که غلظت منگنز (و نیز تعدادی از مواد معدنی کم نیاز دیگر) در روز هفدهم جوجه کشی در تخم مرغ کاهش می یابد، بنابراین امکان دسترسی به این مواد در این مرحله توسط جنین محدود بوده (Yair & Uni, 2011)، و با توجه به نقش آنها در رشد اسکلت استخوانی جوجه های گوشتی، اختلال در رشد استخوان ها محتمل می باشد. مصرف مواد معدنی کم نیاز در چند روز اول دوره رشد ممکن است برای پاسخگویی به نیاز استخوان سازی غضروف کافی نباشد. علاوه بر این، ظرفیت جذب کم مواد معدنی از روده در طول این مدت ممکن است این نارسایی را تشدید کند (Kidd, 2003; Angel, 2007; Dibner et al., 2007). به نظر می رسد که به دلیل متابولیسم بالای جنین جوجه های امروزی، ذخایر مواد مغذی درون تخم مرغ ناکافی است. برای غلبه بر مشکلات ناشی از کمبود مواد معدنی، به طور تجربی راهبردهای مختلفی پیشنهاد شده که تزریق درون تخم مرغی از جمله آنها است. مصرف کم مواد مغذی در طول جوجه کشی را

FT-IR مدل (470, Japan) در دامنه  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  (شکل ۳) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل (Philips, TEM, CM10 HT 100KV) (شکل ۴) استفاده شد.



شکل ۱. تصویر FT-IR ذرات منگنز متیونین

Figure 1. Manganese methionine FT-I



شکل ۲. تصویر SEM نانوذرات منگن

Figure 2. Nanomanganese SEM

### تزریق درون تخم مرغی

تزریق درون تخم مرغی در موسسه جوجه کشی انجام شد. تعداد ۴۸۰ عدد تخم مرغ بارور از گله مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۶۱ هفتگی با میانگین وزن  $63/5 \pm 1/25$  گرم در شرکت رامسر طیور انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی به شش تیمار (هر تیمار دارای ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ عدد تخم مرغ بارور)، اختصاص داده شدند. دما و رطوبت نسبی دستگاه ستر به ترتیب  $37/4$  درجه سانتی گراد و  $70-75$  درصد و دما و رطوبت نسبی دستگاه هچر به ترتیب در حد  $37/2$  درجه سانتی گراد و  $75-82$  درصد، تنظیم شدند. در روز ۱۷ جوجه کشی، تخم مرغ های هر تیمار، بررسی نوری (Candling) شده و پس از اطمینان از زنده بودن جنین، تزریق

بار تقطیر حاوی HCl با  $\text{pH} = 4-5$  و در دمای محیط ( $25$  درجه سانتی گراد) حل تا ذرات منگنز از گروه های عاملی جدا و به یون  $\text{Mn}^{2+}$  تبدیل شوند. سپس در شرایط همزدن شدید، محلول  $0/1$  مولار متیونین به آن اضافه گردید تا کیلات منگنز- متیونین تشکیل شود. سپس محلول به روش انجماد، خشک و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. جهت بررسی ویژگی های کامپوزیت های سنتز شده و محصول واکنش از دستگاه اسپکتروفتومتر مادون قرمز FT-IR مدل (470, Japan) در دامنه  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  استفاده شد (شکل ۱).

برای تهیه نانوذرات منگنز، ابتدا سولفات منگنز در آب مقطر دو بار تقطیر، حل و با استفاده از دستگاه هیتر همزن دار دمای محلول به  $90$  درجه سانتی گراد رسید و تحت شرایط هم زدن، آمونیاک به آن اضافه شد تا  $\text{pH}$  محلول به  $10-11$  برسد. در انتهای این فرایند، نانو ذرات  $\text{nanom}^2\text{uric}$  سنتز شد. با استفاده از کاغذ صافی، رسوب نانو ذرات منگنز جدا و چندین بار توسط آب مقطر دو بار تقطیر شسته و در دمای  $70$  درجه سانتی گراد در آن خشک شد. در نهایت، ذرات منگنز که اندازه آن ها کمتر از  $100$  نانومتر بود برای تزریق درون تخم مرغی استفاده شدند. جهت بررسی ویژگی نانو ذرات منگنز سنتز شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل (JSM-5510, Japan) استفاده شد (شکل ۲).

برای سنتز نانو ذرات منگنز متیونین، محلول متیونین ساخته و به آرامی در  $\text{pH} = 7/5-8$  به محلول نانو ذرات منگنز که قبلاً آماده شده بود، اضافه گردید. از آنجایی که ذرات منگنز دارای بار الکتریکی منفی هستند، با ذرات متیونین پیوند شیمیایی برقرار می کنند. پس از سنتز، نانو ذرات منگنز متیونین چندین بار توسط آب مقطر دو بار تقطیر شسته و به روش خشک کردن تحت انجماد و خلا توسط دستگاه فریزر درایر (Freeze Dryer) خشک شدند. پس از آنالیز اندازه ذرات سنتز شده، ذراتی که اندازه آن ها کمتر از  $100$  نانومتر بود برای انجام آزمایش، استفاده شدند. جهت بررسی ویژگی نانو کامپوزیت های سنتز شده، از دستگاه های اسپکتروفتومتر مادون قرمز

آب به صورت آزاد در اختیار پرندها قرار گرفت. خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی به صورت هفتگی و دوره‌ای ثبت شدند. مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه به صورت روز مرغ و با استفاده از رابطه زیر، محاسبه شدند.

$$\text{روز مرغ} = (\text{تعداد روزهای دوره} \times \text{تعداد جوجه در پایان دوره}) + (\text{تعداد تلفات} \times \text{تعداد روزهای زنده‌مانی})$$

$$\text{خوراک مصرفی روزانه} = (\text{وزن خوراک باقی مانده در انتهای دوره (گرم)} - \text{وزن خوراک در ابتدای دوره (گرم)}) / \text{روز مرغ}$$

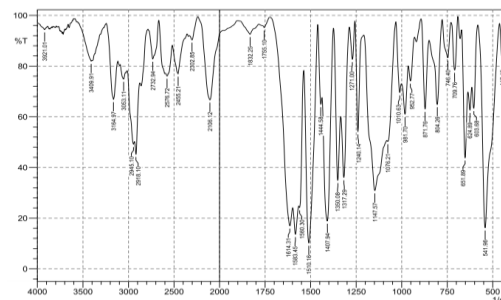
افزایش وزن روزانه = (وزن جوجه‌ها در انتهای دوره (گرم) - وزن جوجه‌ها در ابتدای دوره + افزایش وزن تلفات (گرم)) / روز مرغ  
برای تعیین خصوصیات استخوان درشتنی، در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، از هر تکرار دو قطعه پرنده که به میانگین وزن آن تکرار، نزدیک بودند انتخاب و پس از کشتار و تفکیک لاشه، استخوان درشتنی پای چپ جدا و پس از جدا کردن تمامی بافت‌ها، وزن تر، وزن خشک، وزن نسبی، طول، حجم، چگالی و درصد خاکستر نمونه‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

طول استخوان درشتنی با استفاده از کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ و در فاصله بین دو انتهای استخوان تعیین شد. حجم استخوان با قرار دادن استخوان درشتنی در استوانه مدرجی که حاوی مقدار مشخصی آب بود، تعیین شد. حجم استخوان با این فرض که وزن مخصوص آب در دمای اتاق، یک گرم بر سانتی‌متر مکعب است تعیین شد (Kim et al., 2004). چگالی استخوان درشت نی با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید (Zhang & Coon, 1997).

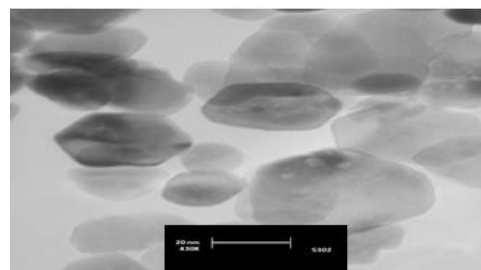
$$\text{چگالی (گرم بر سانتی‌متر مکعب)} = \text{وزن استخوان درشت نی (گرم)} / \text{حجم استخوان درشت نی (سانتی‌متر مکعب)}$$

برای تعیین وزن خشک، استخوان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت، قرار گرفته و سپس توزین شدند.

درون تخم مرغی مطابق با روش که پیش از این توضیح داده شد (Razani et al., 2017) انجام گرفت.



شکل ۳. تصویر FT-IR نانو ذرات منگنزمیتوینین  
Figure 3. Nano manganese methionine FT-IR



شکل ۴. تصویر TEM نانو ذرات منگنزمیتوینین  
Figure 4. Nano manganese methionine TEM

تیمارهای آزمایشی شامل بدون تزریق یا شاهد منفی (NC)، تزریق ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی یا شاهد مثبت (PC)، تزریق ۱ میلی‌لیتر محلول سولفات منگنز (MnS)، تزریق ۱ میلی‌لیتر محلول منگنز- متیوینین (MnM)، تزریق ۱ میلی‌لیتر محلول نانو منگنز (NMn) و تزریق ۱ میلی‌لیتر محلول نانو منگنز متیوینین (NMnM) بودند. تمامی محلول‌های حاوی منگنز به صورتی آماده شدند که ۱۰٪ نیاز منگنز توصیه شده (۱۲ mg منگنز) توسط راهنمای احتیاجات مواد مغذی سویه راس ۳۰۸ (Aviagen, 2014)، را تأمین کنند.

#### پرورش در مزرعه

پس از اتمام دوره جوجه‌کشی و تفریح، جوجه‌ها به مزرعه تحقیقاتی پرورش طیور، منتقل و تا سن ۴۲ روزگی پرورش داده شدند. جیره‌های مورد استفاده در طول دوره پرورش مطابق جدول استاندارد احتیاجات مواد مغذی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ (Aviagen, 2014)، تنظیم شدند. در طول دوره پرورش، خوراک (آردی) و

NMn و NMnM بود ( $P < 0.05$ ). نتایج مطالعات مختلف نشان داده‌اند که با تزریق درون تخم‌مرغی نانو مواد معدنی، این ترکیبات با اطمینان بیشتری به بافت‌ها و سلول‌های هدف رسیده و جذب این مواد توسط بافت‌های جنینی، افزایش یافت به طوری که اثرات مثبت آن بر بهبود عملکرد و کاهش ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در طی دوران پرورش نیز مشاهده شد (Joshua et al., 2016; Sawosz et al., 2012; Mroczek-Sosnowska et al., 2016).

هیچ یک از تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر اجزای لاشه در سن ۴۲ روزگی نداشتند ( $P > 0.05$ ). در عین حال، بیشترین درصد لاشه و وزن عضله سینه قابل طبخ مربوط به تیمار حاوی NMn بود و کمترین درصد چربی محوطه بطنی در تیمار حاوی MnM مشاهده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش، با نتایج برخی از محققان (Wang et al., 2011; Zhou & Wang et al., 2017; Razani et al., 2011) که با استفاده از نانو ذرات، اثر مثبتی بر عملکرد و ضریب تبدیل غذایی گزارش کردند، مطابقت دارد.

### خصوصیات استخوان

نتایج مربوط به اثر تزریق درون تخم‌مرغی منابع مختلف منگنز بر خصوصیات استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴، ارائه شده است. همان گونه که مشاهده می‌شود، وزن تر و خشک استخوان درشتنی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی توسط تیمار حاوی NMn به صورت معنی‌داری بهبود یافت ( $P < 0.05$ ). اگرچه وزن تر نسبی استخوان درشتنی در سن ۲۱ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت با این وجود در سن ۴۲ روزگی، بالاترین وزن تر نسبی استخوان درشتنی متعلق به تیمار حاوی NMn بود ( $P < 0.05$ ). وزن خشک نسبی استخوان درشتنی بین نمونه‌ها در هیچ کدام از سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). بالاترین طول استخوان درشتنی در سن ۲۱ روزگی مربوط به تیمار حاوی MnS بود که فقط با تیمارهای NC و PC، اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). حجم و درصد

استحکام استخوان‌های خشک با استفاده از دستگاه Lutron (مدل FG5020 ساخت کشور هنگ کنگ) اندازه‌گیری شد. سرعت حرکت زیانه دستگاه، ۵ میلی‌متر در دقیقه بود. به همین منظور، استخوان روی دو پایه نگهدارنده دستگاه قرار گرفت و پس از اعمال نیرو، نقطه شکست استخوان ثبت و به عنوان معیار شکست استخوان در نظر گرفته شد. برای تعیین درصد خاکستر، استخوان درشتنی پس از چربی زدایی، خشک شده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل بوتله چینی در کوره در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شد و درصد خاکستر محاسبه گردید (Zhang & Coon, 1997). تجزیه آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS ویرایش ۹/۱ (SAS Institute, 2004) انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون توکی در سطح خطای ۵٪ انجام شد.

### نتایج و بحث

#### عملکرد رشد

نتایج مربوط به عملکرد و تفکیک لاشه به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار مصرف خوراک در دوره آغازین پرورش، معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین خوراک مصرفی در این دوره مربوط به تیمار MnM و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی NMn بود. در این دوره، بیشترین افزایش وزن در تیمار حاوی MnM به دست آمد ( $P < 0.05$ ) و بهترین ضریب تبدیل غذایی نیز در تیمارهای حاوی NMn و MnM مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ).

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های تفریخ شده، در کل دوره پرورش نیز معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بالاترین میزان خوراک مصرفی در کل دوره آزمایش مربوط به تیمار NC و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی MnS بود ( $P < 0.05$ ). بالاترین و کمترین مقدار افزایش وزن در کل دوره پرورش به ترتیب در تیمار حاوی NMn و گروه PC مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) در حالی که بهترین ضریب تبدیل غذایی در کل دوره آزمایش مربوط به تیمارهای حاوی

چنین یافته‌هایی نشان می‌دهند که تزریق مواد معدنی به تخم‌مرغ‌های بارور، پتانسیل بهبود وضعیت استخوان را دارد. با این حال، در آزمایش حاضر میزان خاکستر استخوان درشتنی در هیچ کدام از سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی تحت تأثیر تزریق درون تخم‌مرغی منابع مختلف منگنز قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). بخشی از تفاوت‌های موجود بین نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر با سایر پژوهش‌های مشابه ممکن است به دلیل تفاوت در نوع و منبع عناصر معدنی مورد استفاده، اختلاف از نظر عملکرد این عناصر، تفاوت در سطوح مورد استفاده و اختلاف بین حیوانات مورد استفاده در مطالعات مختلف باشد (Shyam Sunder *et al.*, 2013). در پژوهش حاضر، اختلاف از نظر میزان مقاومت استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی، معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) و تیمار حاوی NMn، بالاترین مقاومت در مقابل شکسته شدن را از خود نشان داد. اختلاف از نظر مقدار مقاومت استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ روزگی نیز از نظر عددی معنی‌دار بود و تیمار حاوی NMnM با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ).

خاکستر استخوان درشتنی در گروه تغذیه شده با NMn اگر چه در هر دو سن ۲۱ و ۴۲ روزگی، از نظر عددی بیشتر بود اما اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها نداشت ( $P > 0.05$ ). چگالی نمونه‌های استخوان درشتنی نیز در هیچ کدام از سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). بر مبنای نتایج یک مطالعه (Yair & Uni, 2011)، تزریق مواد معدنی کم نیاز (منگنز، آهن، مس و روی) به درون مایع آمینوتیک، قابلیت افزایش مقدار و مصرف مواد معدنی زرده در طول دوره جوجه‌کشی را داشته و سبب بهبود معدنی شدن و استحکام استخوان‌ها در جنین مرغ و جوجه پس از خروج از تخم مرغ می‌شود. گزارش شده که تزریق درون تخم‌مرغی منگنز، اثرات مثبتی بر غلظت منگنز و خصوصیات استخوان جوجه‌های گوشتی داشته است (Yair *et al.*, 2013). نتایج تحقیق دیگری (Oliveira *et al.*, 2015) نشان داد که تزریق درون تخم‌مرغی مواد معدنی کم نیاز سبب افزایش درصد خاکستر و همچنین غلظت منگنز در خاکستر استخوان درشتنی پرندگان شد.

جدول ۱. اثر تزریق درون تخم‌مرغی منابع مختلف منگنز بر خوراک مصرفی (FI)، افزایش وزن بدن (BWG) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) جوجه‌های گوشتی

Table 1. Effect of *in ovo* injection of different manganese sources on Feed Intake (FI), Body Weight Gain (BWG) and Feed Conversion Ratio (FCR) of broilers

Treatments	Starter (0-11 d)			Grower (11-24 d)			Finisher (24-42 d)			Whole Period (0-42 d)		
	FI (g/d)	BWG (g/d)	FCR	FI (g/d)	BWG (g/d)	FCR	FI (g/d)	BWG (g/d)	FCR	FI (g/d)	BWG (g/d)	FCR
NC	28.81 <sup>a</sup>	22.23 <sup>b</sup>	1.29 <sup>a</sup>	82.93 <sup>a</sup>	62.14 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	201.99 <sup>a</sup>	97.18 <sup>ab</sup>	2.08 <sup>a</sup>	119.87 <sup>a</sup>	67.86 <sup>ab</sup>	1.76 <sup>ab</sup>
PC	26.81 <sup>b</sup>	22.15 <sup>b</sup>	1.21 <sup>ab</sup>	80.28 <sup>ab</sup>	53.89 <sup>b</sup>	1.50 <sup>a</sup>	198.04 <sup>ab</sup>	96.65 <sup>ab</sup>	2.05 <sup>ab</sup>	116.74 <sup>ab</sup>	65.04 <sup>b</sup>	1.79 <sup>a</sup>
MnS	27.52 <sup>ab</sup>	22.26 <sup>b</sup>	1.23 <sup>ab</sup>	77.18 <sup>b</sup>	55.39 <sup>ab</sup>	1.39 <sup>ab</sup>	192.78 <sup>b</sup>	95.65 <sup>b</sup>	2.01 <sup>ab</sup>	113.71 <sup>b</sup>	65.13 <sup>b</sup>	1.74 <sup>ab</sup>
MnM	28.88 <sup>a</sup>	24.57 <sup>a</sup>	1.17 <sup>b</sup>	81.05 <sup>ab</sup>	60.97 <sup>ab</sup>	1.33 <sup>b</sup>	199.94 <sup>ab</sup>	96.64 <sup>ab</sup>	2.07 <sup>a</sup>	118.34 <sup>a</sup>	67.87 <sup>ab</sup>	1.74 <sup>ab</sup>
NMn	26.71 <sup>a</sup>	22.71 <sup>ab</sup>	1.17 <sup>b</sup>	82.60 <sup>ab</sup>	61.97 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	200.82 <sup>ab</sup>	107.13 <sup>a</sup>	1.87 <sup>b</sup>	118.63 <sup>a</sup>	72.24 <sup>a</sup>	1.64 <sup>c</sup>
NMnM	28.77 <sup>a</sup>	23 <sup>ab</sup>	1.25 <sup>ab</sup>	82.89 <sup>a</sup>	61.96 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	196.37 <sup>ab</sup>	99.95 <sup>ab</sup>	1.96 <sup>ab</sup>	117.35 <sup>ab</sup>	69.21 <sup>ab</sup>	1.69 <sup>bc</sup>
SEM	0.23	0.25	0.01	0.61	0.91	0.01	0.95	1.21	0.02	0.51	0.64	0.01
P-value	0.0003	0.030	0.0332	0.028	0.003	0.004	0.042	0.041	0.0186	0.0025	0.002	0.0015

a-c در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

a-c: Means within a column with different superscripts are statistically of significant difference ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. اثر تزریق درون تخم‌مرغی منابع مختلف منگنز بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of *in ovo* injection of different manganese sources on carcass characteristics of broilers

Treatments	Dressing (%)	Breast muscle (%)	Thigh muscle (%)	Wing (%)	Liver (%)	Heart (%)	Gizzard (%)	Abdominal fat (%)
NC	62.76	37.74	32.32	9.12	2.22	0.64	1.64	1.61
PC	62.17	37.40	32.11	9.05	2.14	0.58	1.67	1.38
MnS	62.11	37.80	32.07	9.44	2.21	0.66	1.76	1.32
MnM	63.22	37.23	32.14	8.74	2.28	0.62	1.72	1.09
NMn	63.80	39.14	30.91	8.87	2.30	0.61	1.66	1.47
NMnM	63.35	37.38	33/00	8.89	2.20	0.58	1.70	1.52
SEM	0.24	0.09	0.26	0.12	0.04	0.01	0.02	0.06
P-value	0.248	0.658	0.634	0.831	0.934	0.886	0.202	0.141

جدول ۳. اثر تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز بر خصوصیات استخوان درشتنی در سن ۲۱ روزگی

Table 3. Effect of *in ovo* injection of different manganese sources on tibial characteristics at 21 day of age

Treatments	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Fresh weight (%)	Dry weight (%)	Length (cm)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Ash (%)	Breaking strength (Kg)
NC	6.21 <sup>b</sup>	2.25 <sup>b</sup>	0.75	0.27	5.95 <sup>c</sup>	5.27	1.17	36.87	8.45 <sup>c</sup>
PC	6.54 <sup>ab</sup>	2.30 <sup>b</sup>	0.79	0.27	6.04 <sup>bc</sup>	5.57	1.18	37.01	8.30 <sup>c</sup>
MnS	7.15 <sup>ab</sup>	2.48 <sup>ab</sup>	0.84	0.29	6.60 <sup>a</sup>	5.74	1.27	38.66	8.57 <sup>b</sup>
MnM	6.42 <sup>ab</sup>	2.42 <sup>ab</sup>	0.75	0.28	6.10 <sup>abc</sup>	5.43	1.20	36.52	8.34 <sup>c</sup>
NMn	7.39 <sup>a</sup>	2.83 <sup>a</sup>	0.84	0.32	6.58 <sup>ab</sup>	5.84	1.26	42.43	8.81 <sup>ab</sup>
NMnM	6.42 <sup>ab</sup>	2.56 <sup>ab</sup>	0.76	0.30	6.32 <sup>abc</sup>	5.35	1.20	40.14	8.93 <sup>a</sup>
SEM	0.123	0.052	0.013	0.005	0.06	0.120	0.015	0.686	0.037
P-value	0.024	0.014	0.087	0.103	0.002	0.73	0.306	0.081	0.0001

a-c: در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<0.05).

a-c: Means within a column with different superscripts are statistically of significant difference (P<0.05).

جدول ۴. اثر تزریق درون تخم مرغی منابع مختلف منگنز بر خصوصیات استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی

Table 4. Effect of *in ovo* injection of different manganese sources on tibial characteristics at 42 day of age

Treatments	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Fresh weight (%)	Dry weight (%)	Length (cm)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Ash (%)	Breaking strength (Kg)
NC	12.23 <sup>ab</sup>	8.07 <sup>ab</sup>	0.43 <sup>ab</sup>	0.27	9.98	9.67	1.27	43.84	18.28 <sup>ab</sup>
PC	11.38 <sup>b</sup>	7.65 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.27	10.15	8.88	1.28	46.28	18.04 <sup>b</sup>
MnS	12.84 <sup>ab</sup>	7.97 <sup>ab</sup>	0.46 <sup>ab</sup>	0.28	10.19	9.94	1.29	44.62	18.09 <sup>b</sup>
MnM	13.58 <sup>ab</sup>	8.46 <sup>ab</sup>	0.44 <sup>ab</sup>	0.27	10.07	10.36	1.31	46.90	18.66 <sup>a</sup>
NMn	14.89 <sup>a</sup>	9.05 <sup>a</sup>	0.49 <sup>a</sup>	0.30	10.27	10.90	1.38	46.94	18.69 <sup>a</sup>
NMnM	13.59 <sup>ab</sup>	8.44 <sup>ab</sup>	0.46 <sup>ab</sup>	0.27	10.22	10.49	1.30	46.36	18.51 <sup>ab</sup>
SEM	0.327	0.122	0.007	0.004	0.031	0.268	0.013	0.724	0.054
P-value	0.030	0.012	0.005	0.142	0.079	0.329	0.241	0.774	0.0009

a-c: در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<0.05).

a-c: Means within a column with different superscripts are statistically of significant difference (P<0.05).

وجود دارد که این امر نیازمند مطالعه و تحقیق بیشتری است.

#### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق درون تخم مرغی منگنز می‌تواند سبب رفع کمبود این عنصر در جنین شده و اثرات مثبتی بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی تفریح شده، داشته باشد. در شرایط این مطالعه، ترکیبات NMn و NMnM، قابلیت جذب و زیست فراهمی بیشتری داشتند.

محققان گزارش کرده‌اند که افزودن ترکیبات نانو منگنز به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، سبب افزایش قابلیت زیست فراهمی این عنصر و به دنبال آن افزایش مقاومت استخوان می‌شود (Lotfi *et al.*, 2015) که با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، مطابقت دارد. بر اساس مطالعات صورت گرفته، قابلیت زیست فراهمی ترکیبات نانو عناصر در مقایسه با نوع میکرووی همان عناصر، افزایش می‌یابد (Wang *et al.*, 2011; Zhou & Wang, 2011). به همین دلیل در صورت استفاده از مقادیر بالای این عناصر، احتمال بروز سمیت آنها

#### REFERENCES

1. Angel, R. (2007). Metabolic disorders: limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 138-149.
2. Aviagen. (2014). Ross 308 Broiler Nutrition specification. Aviagen Incorporated Publishing, Huntsville, AL, USA.
3. Bai, S. P., Lu, L., Luo, X. G. & Liu, B. (2008). Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry Science*, 87, 2596-2604.
4. Collins, N. E. & Moran, E. T. (1999). Influence of supplemental manganese and zinc on live performance and carcass quality of diverse broiler strains. *Journal of Applied Poultry Research*, 8, 228-235.
5. Conly, A. K., Pureslami, R., Koutsos, E. A., Batal, A. B., Jung, B., Beckstead, R. & Peterson, D. G. (2012). Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, 91, 1633-1640.

6. Dibner, J. J., Richards, J. D., Kitchell, M. L. & Quiroz, M. A. (2007). Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 126-137.
7. Ferket, P. R. (2006). Incubation and *in ovo* nutrition affects neonatal development. In: *33<sup>rd</sup> Annual Carolina Poultry Nutrition Conference*, 26 Sept., Sheraton Imperial Hotel, RTP, NC, pp. 18-28.
8. Ji, F., Luo, X. G., Lu, L., Liu, B. & Yu. S. Y. (2006). Effects of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. *Poultry Science*, 85, 1947-1952.
9. Joshua, P. P., Valli, C. & Balakrishnan, V. (2016). Effect of *in ovo* supplementation of nano forms of zinc, copper, and selenium on post-hatch performance of broiler chicken. *Veterinary World*, 9, 287-294.
10. Kidd, M. T. (2003). A treatise on chicken dam nutrition that impacts progeny. *World's Poultry Science Journal*, 59, 475-494.
11. Kim, W. K., Donalson, L. M., Herrera, P., Woodward, C. L., Kubena, L. F., Nisbet, D. J. & Ricke, S. C. (2004). Effect of different bone preparation method (fresh, dry, and fat-free dry) on bone parameters and the correlation between bone breaking strength and the other bone parameters. *Poultry Science*, 83, 1663-1666.
12. Liu, A. C. H., Heinrichs, B. S. & Leach, Jr., R. M. (1994). Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poultry Science*, 73, 663-669.
13. Lotfi, L., Zaghari, M., Zeinoddini, S., Davoodi, D. & Shivazad, M. (2015). Effect of using different sources of nano-manganese in the diet on performance and bioavailability of manganese in broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 46, 55-63. (in Farsi)
14. Mroczek-Sosnowska, N., Lukaszewicz, M., Wnuk, A., Sawosz, E., Niemiec, J., Skot, A. & Chwalibog, A. (2016). *In ovo* administration of copper nanoparticles and copper sulfate positively influences chicken performance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 3058-3062.
15. Oliveira, T. F. Bertechini, A. G., Bricka, R. M., Kim, E. J., Gerard, P. D. & Peebles, E. D. (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.
16. Razani, K., Mottaghitalab, M. & Hosseini Moghaddam, S. H. (2017). The effect of intra amniotic injection of zinc-methionine and nano zinc-methionine on metallothionein gene expression in the broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 47, 621-627. (in Farsi)
17. SAS. (2004). Version 9.1. *SAS/STAT user's guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
18. Sawosz, F., Pineda, L., Hotowy, A., Hyttel, P., Sawosz, E., Szmidi, M., Niemiec, T. & Chwalibog, A. (2012). Nano-nutrition of chicken embryos. Effect of silver nanoparticles and glutamine on molecular responses and morphology of pectoral muscle. *Baltic Journal of Comparative & Clinical Systems Biology*, 2, 29-45.
19. Shim, M. Y., Karnuah, A. B., Anthony, N. B., Pesti, G. M. & Aggrey, S. E. (2012). The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 91, 62-65.
20. Shyam Sunder, G., Vijay Kumar, Ch., Panda, A. K., Raju, M. V. L. N. & Rama Rao, S.V. (2013). Effect of supplemental organic Zn and Mn on broiler performance, bone measures tissue mineral uptake and immune response at 35 days of age. *Current Research in Poultry Science*, 3, 1-11.
21. Tona, K., Onagbesan, O. M., Jegu, Y., Kamers, B., Decuyper, E. & Bruggeman, V. (2004). Comparison of embryo physiological parameters during incubation, chick quality, and growth performance of three lines of broiler breeders differing in genetic composition and growth rate. *Poultry Science*, 83, 507-513.
22. Wang, C., Wang, M. Q., Ye, S. S., Tao, W. J. & Du, Y. J. (2011). Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. *Poultry Science*, 90, 2223-2228.
23. Yair, R., Shahar, R. & Uni, Z. (2013). Prenatal nutritional manipulation by *in ovo* enrichment influences bone structure, composition and mechanical properties. *Animal Science*, 91, 2784-2793.
24. Yair, R. & Uni, Z. (2011). Content and uptake of minerals in the yolk of broiler embryos during incubation and effect of nutrient enrichment. *Poultry Science*, 90, 1523-1531.
25. Zhang, B. & Coon, C. N. (1997). The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poultry Science*, 76, 1698-1701.
26. Zhou, X. & Wang, Y. (2011). Influence of dietary nano elemental selenium on growth performance, tissue selenium distribution, meat quality, and glutathione peroxidase activity in Guangxi yellow chicken. *Poultry Science*, 90, 680-686.