نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد هشتم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۳۹۹
شماره صفحه: ۳۴۲-۳۳۳
http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2020.2959.1118

مقاله پژوهشی:

اثر تزریق درون تخم‌مرغی کروسین بر جوجه درآوری، لیپیدهای پلاسما، وضعیت پاداکسنده و خصوصیات ریخت‌شناسی ژژنوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی

حشمت سپهری مقدم*
استادیار دانشگاه پیام نور، ایران.
* نویسنده مسئول: *Email: he.sepehri@pnu.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۲/۱۶

چکیده

در این آزمایش از ۴۰۰ عدد تخم بارور مرغ مادر سویه گوشتی رأس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار (۲۵ تخم در هر تکرار) استفاده شد. تیمارها شامل بدون تزریق، تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر، تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر کروسین ۲۰ درصد و تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر کروسین ۴۰ درصد بودند (تزریق روز یازدهم انکوباسیون). درصد جوجه‌های هچ شده در تیمار تزریق شده با ۴۰ درصد کروسین نسبت به سایر تیمارها و شاهد به لحاظ عددی بالاتر بود. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در جوجه‌های تزریق شده با کروسین اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت ($P\leq0.05$). به طوری‌که بیشترین سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز متعلق به تیمار کروسین ۴۰ درصد بود. کروسین در سطوح مصرفی اثر مهارکننده بر سوخت و ساز چربی نداشت، اگرچه اثر معنی‌داری بر سطوح کلسترول ایجاد کرد، به طوری‌که افزایش غلظت کروسین منجر به کاهش کلسترول نسبت به گروه شاهد شد ($P\leq0.05$). ارتفاع پرز ژژنوم در جوجه‌های تزریق شده با کروسین نسبت به تیمار بدون تزریق و تیمار تزریق شده با آب مقطر بیشتر بود ($P=0.037$). عرض پرز در جوجه‌های تزریق شده با کروسین بالاتر از تیمارهای شاهد بود ($P=0.025$). تزریق کروسین سبب بهبود درصد هچ، کاهش سطح کلسترول در خون شده و میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده را در خون کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، گلوتاتیون پراکسیداز، لیپوپروتئین، مالون دی‌آلدئید، وزن جوجه یک روزه.

مقدمه

افزایش سرعت رشد ناشی از بهبود ژنتیکی، تغذیه و مدیریت کارآمد، منجر به کوتاه شدن طول دوره پرورش جوجه گوشتی شده است، در حالی‌که طول دوره جوجه‌کشی تغییری نکرده است. طی ۲۰ سال گذشته نسبت دوره جنینی به کل دوره از ۲۰ الی ۲۵ درصد به ۳۰ الی ۴۰ درصد افزایش یافته است (*Sepehri & Rezayee., 2018*).

اخیراً تزریق داخل تخم در پرورش طیور به عنوان راهی برای بهبود وضعیت فیزیولوژیکی جنین در حال رشد استفاده می‌شود (*Elnesr, 2019*). تغذیه جوجه بلافاصله بعد از هچ، موجب بهبود عملکرد پرنده در پایان دوره رشد می‌گردد، لذا تغذیه جنین قبل از تفریخ، از طریق وارد نمودن مواد مغذی به داخل تخم، اثر قابل توجهی بر رشد و تکامل پرنده خواهد داشت، یک عامل کلیدی برای رشد جنین وجود منابع غذایی مناسب در طول انکوباسیون است (*Bakhshayesh et al., 2018*).

رشد سریع جنین جوجه گوشتی منجر به تولید متابولیت‌های اکسیژن فعال و رادیکال‌های آزاد ناشی از سوخت و ساز طبیعی پرنده می‌شود. بافت‌های جنین جوجه گوشتی دارای نسبت بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند، بنابراین جنین جوجه باید سامانه پاداکسندگی قوی داشته باشد. سامانه دفاعی پاداکسنده و ایمنی نقش مهمی در سلامت جنین بخصوص در مراحل پایانی دوره انکوباسیون دارند (*El-Senousey, 2018*).

استفاده از مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی برای بهبود عملکرد و پاسخ سامانه ایمنی استفاده شده است (*Bakhshayesh et al .,2018*). زعفران (*Crocus sativus L.*) یک گیاه نر عقیم و چند ساله از خانواده ایریدیاسه (*Iridaceae*) است که در پاییز گل می‌دهد. رنگ زعفران به طور عمده به مقدار و کیفیت کروسین بستگی دارد که فرم استری گلیکوزیله شده کروستین است. گلیکوزید پیکروکروسین (*Picrocrocin*) مسؤل ایجاد طعم تلخ زعفران و سافرانال (*Safranal*) اسانس فرار زعفران و سبب بو و عطر آن است (*Hosein Poor et al., 2016*). کروستین دارای خاصیت پاداکسنده، کاهنده سطح کلسترول خون، اثر مهارکنندگی در سرطان‌زایی و تشکیل تومور (*Hoshyar et al., 2010*)، مهارکننده بازجذب نوراپی نفرین (*Hosein Zade et al., 2004*) می‌باشد و فعالیت ضد توموری آن در تومورهای انسانی از قبیل سرطان روده بزرگ، پانکراس و کیسه صفرا (*Xiao et al., 2018*) به اثبات رسیده است. عصاره هیدروالکلی زعفران، باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید شد، ولی بر لیپوپروتئین‌هائی با چگالی بالا و پایین تأثیری نداشت (*Hoseini Vashan et al., 2018*).

با توجه به متغیر بودن درصد مواد مؤثره موجود در زعفران‌های مختلف استفاده از عصاره تام زعفران علمی به نظر نمی‌رسد و به منظور جلوگیری از آثار جانبی سایر اجزاء بهتر است از اجزای خالص شده استفاده شود (*Hoshyar et al., 2010*).

با توجه به ویژگی‌های متعددی که برای کروسین گزارش شده است و از سویی عدم وجود مطالعه در زمینه تزریق داخل تخم‌مرغ ماده مؤثره کروسین، در این تحقیق، تأثیر کروسین بر الگوی لیپیدی، وضعیت پاداکسندگی و ریخت شناسی ژژنوم جنین جوجه گوشتی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۴۰۰ عدد تخم بارور از مرغ مادر سویه گوشتی رأس × رأس ۳۰۸ انجام شد. نسبت نر به ماده در گله مرغ مادر یک به نه و سن گله ۳۶ هفته بود. تخم‌مرغ‌ها وزن‌کشی و به چهار گروه آزمایشی با چهار تکرار و هر تکرار شامل ۲۵ عدد تخم‌مرغ با توزیع وزنی۰/۳ ± ۴۲/۶۴ گرم تقسیم شدند.

تیمارها شامل کنترل منفی (بدون تزریق: *NC*)، کنترل مثبت با تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر (*PC*)، تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر کروسین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر کروسین با غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر. در این تحقیق از کروسین ساخت شرکت سیگما (۹۸ درصد) کشور آلمان استفاده شد. پس از قرارگیری در ماشین جوجه‌کشی در روز ۱۱ انکوباسیون به روش کندلینگ نطفه‌داری تخم‌مرغ‌ها بررسی و در همین روز تزریق در کیسه زرده با استفاده

1. *CAS Number:42553-65-1*

از سوزن شماره ۲۱ انجام شد (*Bakhshayesh et al., 2018*). انتخاب سطوح تزریق بر اساس پیش آزمایش بوده به نحوی‌که سطح و غلظت تزریق منجر به تلفات نشود. قبل از تزریق، محل تزریق بوسیله اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و پس از تزریق، منفذ بوجود آمده با پارافین مهر و موم گردید. کلیه مراحل برای همه تکرارها و تیمارها یکسان بود. در روز ۲۱، درصد جوجه-درآوری و وزن جوجه‌ها تعیین شد. همچنین برای تعیین تری‌گلیسرید، کلسترول، *HDL* و *LDL* (*Eckfeldt., 2002*) تعداد شش جوجه از هر تکرار و تیمار در سن یک روزگی انتخاب شد و نمونه‌های خون پس از سانتریفیوژ کردن در سرعت ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی و برای اندازه‌گیری شاخص‌های خونی و آنزیم‌های پاداکسنده به آزمایشگاه دامپزشکی ارسال گردید.

به منظور تعیین خصوصیات ریخت‌شناسی از قبیل طول پرز، عرض پرز، طول کریپت و عرض آن، قطعات ژژنوم در روز هچ، از شش پرنده در هر تکرار و تیمار جدا شد و با محلول کلرید سدیم (*$wt.vol^{-1}$*) ۰/۹ درصد شسته شده و بعد از آبکشی، در بافر فرمالدئید چهار درصد ثابت شدند. از ژژنوم به دلیل اینکه اهمیت بالایی در جذب مواد غذایی دارد، نمونه‌گیری شد. سپس نمونه‌های بافتی توسط دستگاه خودکار فرآوری بافت، در طی ۱۸ ساعت آبگیری، شفاف‌سازی و پارافین‌دهی شد. بعد از خارج کردن نمونه‌های بافتی، قالب‌گیری بوسیله قالب‌های لوکهارت و در پارافین مرک انجام گرفت و از بلوک‌های پارافین منجمد شده حاوی بافت، توسط دستگاه میکروتوم (*LEICA RM* ۲۱۴۵)، برش-هایی به ضخامت شش میکرومتر تهیه شد. سپس برش-های ایجاد شده را روی لام قرار داده و به منظور اینکه پارافین به لام نچسبد آب و الکل بر آن ریخته و سپس لام در حمام بن ماری با دمای ۴۹ درجهٔ سانتی‌گراد (دمای ذوب پارافین) قرار گرفت تا ورقه مربوطه صاف شود و چین و چروک‌ها از بین برود. برای تهیه چسب روی لام، از سفیده تخم‌مرغ و گلیسیرین به میزان مساوی استفاده شد. سپس چسب را روی لام ریخته و به این ترتیب باز شدن چین و چروک‌ها آزمون شد، در صورتی که چین و چروک‌ها باز نشده بودند، لام‌ها دوباره در آب قرار می‌گرفتند. سپس لام‌ها به مدت ۳-۲ ۳ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه گذاشته تا خشک شود. نمونه‌های خشک شده در گزیلل یک و دو، هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند تا پارافین آنها جذب شده و مجدداً نمونه‌ها در دمای محیط خشک شدند. سپس نمونه‌ها در ظروف حاوی الکل مطلق بترتیب با درصدهای ۸ /۹۹ ، ۹۶ ، ۸۰ و ۷۰ درصد به مدت ۳-۲ دقیقه گذاشته تا آبدهی انجام شود و سپس در آب مقطر شستشو شدند. آماده شدن نمونه‌ها در رنگ‌آمیزی‌های مختلف تا این مرحله مشترک است که تحت عنوان دپارافینه شدن و آبدهی با آب مقطر می‌باشد. سپس رنگ‌آمیزی اختصاص هماتوکسیلین‌ائوزین انجام شد. شاخص‌هایی شامل ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال پرز به کریپت)، عمق کریپت (از محل اتصال کریپت به پرز تا پایه کریپت)، ارتفاع پرز/عمق پرز، عرض ابتدایی پرز، عرض میانی پرز، عرض انتهایی پرز اندازه‌گیری شدند **(***Sepehri et al., 2011***).**

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده با استفاده از رویه *GLM* نرم‌افزار*SAS* در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف کروسین بر صفات هچ در جدول ۱، بر آنزیم‌های پاداکسنده در جدول ۲، بر الگوی لیپیدی در جدول ۳ و بر خصوصیات ریخت‌شناسی در جدول ۴ نمایش داده شده است.

صفات هچ

اثر سطوح مختلف کروسین تزریق شده بر خاصیت جوجه درآوری، وزن تخم‌مرغ و وزن جوجه در جدول ۱ نمایش داده شده است. همانطور که از اعداد مندرج در جدول استنباط می‌شود، کروسین اثر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری شده نداشت. اگرچه درصد جوجه‌های هچ شده در تیمار تزریق شده با ۴۰ درصد کروسین (۸۷/۹۳ گرم) نسبت به سایر تیمارها و شاهد به لحاظ عددی بیشترین مقدار بود. وزن جوجه یکروزه نیز از همین روند تبعیت کرد. وزن جوجه هچ شده در تیمار تزریق شده با ۴۰ درصد کروسین نسبت به سایر تیمارها بیشترین بود (۴۶/۷۷ گرم). کاهش درصد جوجه‌درآوری

و وزن جوجه در تیمار تزریق شده با آب مقطر کمترین مقدار بود که می‌تواند ناشی از تنش تزریق باشد.

مصرف کروسین منجر به افزایش گرلین شد، گرلین نوعی پپتید تنظیم‌گر است که سبب تحریک ترشح هورمون رشد و تنظیم مصرف خوراک می‌شود (*Mashmool et al., 2017*). افزایش وزن جوجه در روز هچ در تیماری که ۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۴۰ درصد دریافت کرده بود ممکن است مربوط به افزایش گرلین و متعاقب آن افزایش تعداد سلول‌های سوماتوتروپ، حجم ترشح هورمون رشد و نیز ساخت مجدد هورمون رشد در سوماتوتروپ‌ها باشد (*Ghale Kandi, 2013*). کروسین هم سطح هورمون گرلین مترشحه از سلول‌های گرلینرژیک موجود در دیواره دستگاه گوارش و هم عمل آن را به عنوان یک نوروپپتید در سامانه عصبی مرکزی موش صحرایی را افزایش داد (*Mashmool et al., 2017*).

زعفران و ترکیب مهم آن کروسین، عامل جذب مجدد آب از حفره سلولی و در نتیجه کاهش وزن جنین در سطوح بالای مصرفی می‌باشد. میانگین وزن روز اول تولد نوزادان در گروه تغذیه شده با ۰/۵ درصد عصاره زعفران، نسبت به گروه شاهد بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری داشت، لذا اثر کروسین وابسته به دوز است (*Dashti et al., 2012*).

جدول ۱. اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف کروسین بر جوجه درآوری و وزن جوجه‌های گوشتی در یک روزگی

Table 1. Effect of *in ovo* injection of crocin on hatchability and body weight of 1 day hatched broiler chickens

وزن جوجه Body weight (*g*)	جوجه درآوری Hatchability (%)	تیمارها Treatments
44.35	*81.25**	بدون تزریق *Non-injected control*
44.19	*81.12*	تزریق ۰/۱ میلی‌گرم آب مقطر *water injected control*
46.23	*86.77*	۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۲۰ درصد *20 % crocin injected group*
46.77	*87.93*	۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۴۰ درصد *40 % crocin injected group*
2.011	*4.023*	*SEM*
0.16	*0.15*	*Pvalue*

* در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P\leq0.05$).

**Means in a column without a common superscript are significantly different ($P\leq0.05$).*

تزریق داخل تخم‌مرغ، یکی از بهترین راهکارها جهت افزایش ظرفیت پاداکسنده در دوران قبل از هچ می‌باشد، این‌کار از طریق بهبود شرایط فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جنین و همچنین افزایش توان مقاومت در مقابل مواد حاصل از اکسنده‌ها می‌شود (*El-Senousey, 2018*).

اثر سطوح مختلف کروسین بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده

نتایج حاصل از اثر کروسین بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در جدول ۲ نمایش داده شده است.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در جوجه‌های تزریق شده با کروسین در مقایسه با تیمارهای کنترل افزایش داد ($P\leq0.05$)؛ به طوری‌که بیشترین سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز متعلق به تیمار کروسین ۴۰ درصد بود.

مالون دی‌آلدئید اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ایجاد نکرد و کمترین سطح آن متعلق به جوجه‌های تزریق شده با کروسین ۴۰ درصد بود. کاهش در سطح *MDA* در گروه‌های دریافت‌کننده کروسین در مقایسه با گروه تزریق نشده یا گروهی که با آب مقطر تزریق شد،

نشانگر کاهش مواد حاصل از اکسندگی لیپید است که خود به علت کاهش تنش اکسنده می‌باشد (*El-Senousey et al., 2017*). در بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره پرانرژی، کروسین غلظت مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد و همچنین زخم‌های ایجاد شده بر آئورت در جیره‌های پر انرژی مکمل شده با کروسین بهبود یافت (*He et al., 2005*). تزریق کروسین ۴۰ درصد کل ظرفیت پاداکسنده را نسبت به تیمار کروسین ۲۰ درصد به لحاظ عددی کاهش داد، ولی اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد.

جدول۲. اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف کروسین بر وضعیت پاداکسندگی خون در جوجه‌های گوشتی یک روزه

Table 2. Effect of *in ovo* injection of crocin on blood antioxidant status of 1 day hatched broiler chickens

تیمارها **Treatments**	گلوتاتیون پراکسیداز **Glutathione peroxidase** ($U.ml^{-1}$)	مالون دی‌آلدئید **Malondialdehyde** ($nmol.ml^{-1}$)	کل ظرفیت پاداکسنده **Total antioxidant capacity** ($U.ml^{-1}$)
بدون تزریق *Non-injected control*	241.1^{b*}	2	2^{b}
تزریق ۰/۱ میلی‌گرم آب مقطر *water injected control*	243.7^{b}	2.1	2.1^{b}
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۲۰ درصد *20 % crocin injected group*	248.9^{a}	1.9	3.02^{a}
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۴۰ درصد *40 % crocin injected group*	249.3^{a}	1.7	3.5^{a}
SEM	6.69	0832	0.748
Pvalue	0.05	0.1	0.031

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P\leq0.05$).

**Means in a column without a common superscript are significantly different ($P\leq0.05$).*

بافت‌های جنین جوجه حاوی درصد بالایی لیپید با اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع می‌باشد، لذا وجود دفاع پاداکسندگی به منظور ممانعت از آسیب سیستم‌ها و ارگان‌های اصلی بدن ضروری است (*Surai et al., 2016*). سامانه دفاع پاداکسندگی نقش مهمی در سلامت جوجه به‌خصوص در مراحل پایانی دوره انکوباسیون دارد و یکی از بهترین راهکارها جهت افزایش توان اکسندگی در جنین، قبل و بعد آن، تغذیه داخل جنینی است. همچنین تغذیه داخل جنینی به عنوان روش جدیدی در ارتباط با مرغ‌های مادری که در انتقال مواد مغذی به جنین مشکل داشتند نیز مطرح است. امروز بحث واکسیناسیون و تغذیه به صورت تزریق داخل تخم نیز مطرح است، چون تنها راهی است که باعث تحویل مواد مغذی به طور مستقیم به جنین با هزینه کم می‌شود (*El-Senousey et al., 2017*).

افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و عدم توانایی سلول در دفاع پاداکسنده، منجر به تولید انواع رادیکال‌های آزاد شامل آنیون سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و مشتقات غیر رادیکالی از اکسیژن مانند هیدروژن پراکسید می‌شود. این رادیکال‌های آزاد به شدت ناپایدار بوده و با مولکول‌های زیستی واکنش داده و منجر به ایجاد و توسعه انواع آسیب‌های سلولی از جمله تولید مواد حاصل از اکسندگی غشاء پلاسمایی، اکسندگی اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک، اختلالات تولید مثلی، تأثیر منفی بر مراحل اولیه رشد جنین می‌شود (*Khan Mohammadi et al., 2014*). تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد باعث قطعه قطعه شدن *DNA* شده و این تخریب از طریق تغییر در بازهای آلی، شکستن پیوندهای عرضی بین دو رشتهٔ *DNA* و یا شکستگی در یک رشتهٔ *DNA*، حذف و یا آرایش مجدد کروموزومی رخ می‌دهد (*Razavi et al., 2014*).

آنزیم‌های ضد پاداکسنده نقش مهمی در افزایش توان بدن در مقابل تولید انواع رادیکال‌های حاصل از اکسنده دارند. تأثیر کروسین در سلامت به اثبات رسیده است (*Mohamadpour et al., 2012*). ترکیبات فنولیک از قبیل کروسین خصوصیات پاداکسانده داشته و در گزارشات متعدد، این ویژگی به اثبات رسیده است.

کروسین از طریق مهار تنش پاداکسنده منجر به کاهش اکسندگی لیپیدها می‌شود (*Yaribeygi et al., 2017*). در بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره پرانرژی، کروسین غلظت مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد (*He et al., 2005*) که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد.

اثر سطوح مختلف کروسین بر لیپیدهای خون

یافته‌های این آزمایش نشان داد غلظت تری گلیسرید، *LDL* و *HDL* در بین تیمارهای تزریق شده با کروسین و تیمارهای کنترل مثبت و منفی تغییری نشان نداد و کروسین در سطوح مصرفی اثر مهارکننده بر متابولیسم چربی نداشت و متعاقب آن سطوح *LDL*، *HDL* و تری گلیسرید در تیمارهای مختلف تغییر معنی‌داری نداشت.

کروسین اثر معنی‌داری بر سطوح کلسترول ایجاد کرد، به طوری‌که افزایش غلظت کروسین منجر به کاهش کلسترول شد (*P≤0.05*)، کمترین کلسترول در خون جوجه‌های تزریق شده با کروسین ۴۰ درصد مشاهده شد (۱۱۰/۰۲ *mg/dl*).

کروسین از فعالیت لیپاز پانکراس در روده ممانعت می‌کند و غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین‌هایی با دانسیته پایین (*LDL*)، لیپوپروتئین‌هایی با دانسیته خیلی پایین (*VLDL*) را در موش‌های تغذیه شده با ۲۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش می‌دهد، لذا مصرف کروسین به عنوان یک داروی کاهش‌دهنده چربی خون مؤثر خواهد بود (*Mohammadpour et al., 2012*) که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی دارد.

جدول۳. اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف کروسین بر غلظت لیپیدهای خون در جوجه‌های گوشتی یک روزه

Table 3. Effect of *in ovo* injection of crocin on lipid profile of 1 day hatched broiler chickens

تیمارها **Treatments**	اچ‌دی‌ال **HDL** (*mg.dl^{-1}*)	ال‌دی‌ال **LDL** (*mg.dl^{-1}*)	تری‌گلیسرید **Triglycerides** (*mg.dl^{-1}*)	کلسترول **Cholesterol** (*mg.dl^{-1}*)
بدون تزریق *Non-injected control*	*94.13**	*41.28*	*112.5*	*148.37^{a}*
تزریق ۰/۱ میلی‌گرم آب مقطر *water injected control*	*95.17*	*41.76*	*111.26*	*143.94^{ab}*
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۲۰ درصد *20 % crocin injected group*	*97.63*	*39.11*	*110.32*	*142.14^{ab}*
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۴۰ درصد *40 % crocin injected group*	*98.24*	*37.38*	*109.72*	*140.02^{b}*
SEM	*3.24*	*2.69*	*3.86*	*3.431*
Pvalue	*0.48*	*0.53*	*0.61*	*0.05*

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌داری با هم دارند (*P≤0.05*).

**Means in a column without a common superscript are significantly different (P≤0.05).*

در آزمایشی سطح کروسین ۴۰ درصد باعث کاهش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در بلدرچین شد (*He et al., 2005*) که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد و این کاهش وابسته به مقدار تزریق کروسین است.

کروسین دفع چربی و کلسترول را در موش افزایش داد، اما اثری بر حذف اسیدهای صفراوی نداشت. کروسین بطور مستقیم نمی‌تواند جذب کلسترول از ژژنوم موش را متوقف سازد، کروسین به صورت انتخابی بر فعالیت لیپاز پانکراس به عنوان یک ممانعت کننده رقابتی مؤثر است و وجود لیپید بالای کیسه زرده ممانعت از فعالیت کروسین در جهت کاهش فعالیت آنزیم لیپاز می‌نماید. رقابت کروسین با لیپید کیسه زرده وابسته به دوز بوده و با افزایش کروسین اثرات کاهش دهنده لیپید داشته و این اثر را از طریق ممانعت از فعالیت لیپاز پانکراس انجام می‌دهد (*Sheng, 2006*).

اثر سطوح مختلف کروسین بر خصوصیات ریخت‌شناسی

نتایج حاصل از اثر کروسین بر خصوصیات ریخت‌شناسی ژژنوم در جدول ۴ نمایش داده شده است. همانطور که مشخص شده است، طول پرز ژژنوم در جوجه‌هایی که کروسین ۴۰ درصد دریافت کردند نسبت به جوجه‌هایی که کروسین ۲۰ درصد دریافت کرده بودند بیشتر بود ولی اختلاف معنی‌داری نداشت. طول پرز در جوجه‌های تزریق شده با کروسین نسبت به تیمار بدون تزریق و تیمار تزریق شده با آب مقطر بیشتر بود ($P=0.037$). عرض پرز در جوجه‌های تزریق شده با کروسین اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد داشت ($P=0.025$). در تیمارهای مختلف عرض کریپت تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. بیشترین مقدار عددی طول کریپت متعلق به تیمارهایی بود که با کروسین تزریق شده بودند و اختلاف معنی‌داری در طول کریپت بین این تیمارها با تیمار تزریق شده با آب مقطر و تیمار بدون تزریق مشاهده شد ($P=0.041$).

جدول ۴. اثر تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف کروسین بر خصوصیات ریخت‌شناسی ژژنوم در جوجه‌های گوشتی یک روزه

Table 4. Effect of *in ovo* injection of crocin on the jejunum histology of 1 day hatched broiler chickens

تیمارها Treatments	طول پرز Villus length (*µm*)	عرض پرز Villus width (*µm*)	طول کریپت Crypt length (*µm*)	عرض کریپت Crypt width (*µm*)
بدون تزریق *Non-injected control*	307.6^{b*}	54^{b}	42.9^{b}	27.2
تزریق ۰/۱ میلی‌گرم آب مقطر *water injected contro*	310.9^{b}	53.8^{b}	41.6^{b}	27
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۲۰ درصد *20 % crocin injected group*	331.8^{a}	61.5^{a}	46.3^{a}	28.3
۰/۱ میلی‌گرم کروسین ۴۰ درصد *40 % crocin injected group*	334.2^{a}	63.2^{a}	51.7^{a}	29.9
SEM	9.4	2.91	0.9	0.94
Pvalue	0.037	0.025	0.041	0.143

*در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند، اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P\leq0.05$).

**Means in a column without a common superscript are significantly different ($P\leq0.05$).*

پراکسید ناشی از متابولیسم چربی کیسه زرده، بر سلول‌های اپیتلیال روده اثر می‌گذارد. عدم وجود پاداکسنده سبب تخریب اپیتلیوم روده شده و بر وزن نهایی جوجه تأثیر می‌گذارد (*Leon & Helwing, 2010*). عواملی نظیر، وضعیت پاداکسنده جنین، دما، رطوبت، دی‌اکسیدکربن، بیماری و زمان هچ بر وضعیت پاداکسندگی جنین اثر می‌گذارد. تزریق کروسین به عنوان یک ماده پاداکسنده باعث بهبود اثرات ناشی از مواد ناشی از اکسندگی چربی می‌شود و ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت با تزریق کروسین در جوجه‌ها افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق، کروسین تزریقی به جنین جوجه گوشتی بر وزن جوجه هچ شده، فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده، غلظت کلسترول خون و ویژگی ریخت‌شناسی ژژنوم اثرگذار است و این تأثیر وابسته به دوز مصرفی بوده به‌طوری‌که مصرف کروسین ۴۰ درصد بهترین نتیجه را ایجاد کرد.

منابع

Bakhshayesh, S., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Mirzaei, F., Abdi, H., and Vahedi, V., 2018. The effects of in vivo injection oil-extracted propolis growth performance and immune status of broilers. Res Anim Prod. 9, 1-7. [in Persian with English Summary].

Dashti, R., Nahangi, H., Oveisi, M., and Anvari, M., 2011. The effect of saffron decoction consumption on pregnant mice and their offspring. J. Shahid Sadoughi Univ. Med. Sci. 19, 831-837. [in Persian with English Summary].

El-Senousey, H.K., Chen, B., Wang, J.Y., Atta, A.M., Mohamed, F.R., and Nie, H., 2018. In ovo injection of ascorbic acid modulates antioxidant defence system and immune gene expression in newly hatched local chinese yellow broiler chicks. Poul Sci. 97, 425-429.

Elwan, H., Elnesr, S., Xu, Q., Xie, Chao., Dong, X., and Zou, X., 2019. Effectof in ovo methionine-cysteine injection on embryonic development, antioxidant status, IGF-I and TLR4 gene expression, and jejunum histomorphometry in newly hatched broiler chicks exposed to heat stress during invubation. Anim J. 9, 13-26.

He, S., Qian, Z., and Tang, F., 2005. Effect of crocin on experimental atherosclerosis in quails and its mechanisms. Life Sci. 77, 907-921.

Hooshyar, R., Bathayee, Z., and Etemadi, B., 2010. The comparison of quantity characteristics of crocin and picrocrocin by HPLC in Iran. Med. Sci. J. 13, 63-71. [in Persian with English Summary].

Hoseini Vashan, J., Mohammadian, H., and Afzali, N., 2018. Investigation the effect of Hydroethanolic saffron petals extracts on performance, carcass characteristics and blood biochemical parameters of Japanese quail. J. Saffron, Res. 5(2), 181-189. [in Persian with English Summary].

Hosei Zadeh, H., Karimi, G., and Neya Poor, M., 2004. The effect of saffron, crocin and safranal on anti sensitive in rat. Med Plan J. 13, 11-21. [in Persian with English Summary].

Hosein Poor, N., Nemat Zadeh, G., Guleyano, G., and Ranjbar, G., 2016. Identification of apo-carotenoids crocin and crocetine isomers in saffron crude extract by HPLC coupled to atmospheric pressure chemical ionization and high resolution orbitrap mass spectrometry. Saffron Agron. & Tech. 4, 291-299. [in Persian with English Summary].

Khan Mohammadi, F., Shahrooz, R., Ahmadi, A., and Razi, F., 2013. Evaluation of protective effects of crocin onembyo developing process in in vitro fertilization in cyclophosphamide treated mice. YUMSI. 19, 123-134. [in Persian with English Summary].

Leon, L.R., and Helwing, B.G., 2010. Role of the systemic inflammatory response. J. Appl. Physiol. 109, 1980-1988

Mashmool, M., Azlan, A., Mohtarrudin, N., Nisak, B., Yusof, M., and Khaza, H., 2017. Saffron extract and crocin reduced biomarker associated with obesity in rats fed a high-fat diet. Mal. J. Nutr. 23, 117-127. [in Persian with English Summary].

Mohamadpour, A., Ayati, Z., Parizadeh, M., Rajbai, O., and Hosseinzadeh, H., 2012. Safety evaluation of crocin (a constituent of saffron) tablets in healthy volunteers. Iran. J. Basic Med Sci. 16, 39-46. [in Persian].

Razavi, S., Vaez, A., and Mardani, M., 2014. Optimizing acridine orange staining for assessment of protective effects of saffron and vitamin E on rat sperm DNA structure. 293, 1061-1072. [in Persian].

SAS., 2013. Stat Users guide. Version 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

Sepehri Moghadam, H., and Rezayee, F., 2018. Poultry Production. Payam Noor University Publication, Iran. 179 p. [in Persian].

Sepehri Moghadam, H., Nasiri Moghadam, H., Kermanshahi, H., Heravi, A., and Raji, A., 2011. The effect of threonine on mucin2 gene expression, intestinal histology and performance of broiler chickens. Ital J o Anim Sci. 10(2), 64-71.

Shen, L., Qian, Z., Zheng, S., and Xi. L., 2006. Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lopase. Eur. J. Pharmacol. 14, 116-122.

Surai, P. F., Fisinin, V.I., and Karadas, F., 2016. Antioxidant systems in chick embry development. Part 1. Vitamin E, carotenoids and selenium. Anim. Nutr. 2, 1-11.

Eckfeldt, J., 2002. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company. p. 809-861.

Xiao-ming, S., Xiu-dong, L., Lin, L., Li-yang, Z., Qiu-gang, M., Lin, X., and Xu-gang, L., 2018.

Yaribeygi, H., and Mohammadi, M., 2017. Effect of crocin on kidney performance in chronic uncontrolled hyperglycemia-induced nephropathy in rat. ZUMS. J. 25, 36-49. [in Persian with English Summary].

Journal of Saffron Research (semi-annual)

Vol.8, No.2, Fall & Winter, 2020-2021

p. 333-342

http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2020.2959.1118

University of Birjand

Original Article:

The Effect of *in Ovo* Injection of Crocin on Hatchability, Plasma Lipid, Antioxidant Immune System and Histological Characteristics of Jejunum of Small Intestine of Broiler Chickens

Heshmat Sepehri Moghadam

Assistant Professor, Agriculture Department, Payam-e-Noor University, I. R. Iran. P. O. Box 19395-

** Corresponding author Email: he.sepehri@pnu.ac.ir*

Received 22 November 2019; Accepted 05 May 2020

Abstract

In this study, 400 fertile eggs of Ross 308 were used based on a completely randomized design with four treatments and four replicates (25 eggs in each replicate). Treatments were non-injected (control group), injected with 0.1 ml deionized water, injected with 0.1 ml crocin %20 and injected with 0.1 ml crocin %40 (in 11 days incubation). *In ovo* injection of crocin %40 increased hatchability percent and body weight of hatched chicks. There was significant difference between plasma glutathione peroxidase enzyme in broilers injected by crocin and control group, and total antioxidant capacity significantly improved at 1 day old. There was no effect of crocin on lipid metabolism, however cholesterol significantly decreased (P≤0.05). *In ovo* injection of crocin increased villi height and width and decreased crypt dept in jejunum (P=0.037). The results showed crocin is effective in improving hatchability, cholestrol, oxidative enzymes and histological of jejunum.

Keywords: Glutathione peroxidase, Histology, Lipoprotein, Malodialdehyde, Weight of one old broiler.