



Effect of In Ovo Injection by Crude and Nano-Steroidal Extract of The *Bacopa Monnieri* L. in Embryonic development and some productive traits of broiler chicks

Muhammad Ayed Abdullah Kazem Al-Shammari

Wasit Agriculture Directorate - Ministry of Agriculture– Iraq.

Abstract:

This study was carried out to understand the effect of hatching egg injection (In Ovo injection) with the Crude and Nano-Steroidal Extract laboratory prepared of the wild *Bacopa Monnieri* L. in some measurements and embryonic tests about 3 days of embryonic growth, as well as, the Some productive characteristics for the hatched chickens Until marketing, Steroidal compounds were extracted from the plant with HPLC testing to identify some of these compounds and their concentration. A 705 hatching eggs from the broiler chicken mothers of the Ross 308 at 0 days was used in this study, while the eggs were divided into five treatments of a141 eggs /treatment by (47 egg/replicate) and the experimental treatments were as follows: The First treatment (T1) was negative control treatment without injection, while the second treatment (T2) positive control injects 0.2 ml of N.S (Normal Saline 0.9%)/egg. The third treatment (T3) injects 0.2 ml of N.S containing of 100 µg of Nano Chitosan Cs TPP/egg, while the fourth treatment (T4) injects 0.2 ml of N.S containing 100 µg of steroidal extract /egg. Finally, the fifth treatment (T5) injects 0.2 ml of N.S containing 100 µg of the Nano-Steroidal Extract on Nano Chitosan (Cs TPP)/egg. The results of the experiment showed a significant increase ($p \leq 0.05$) in the length of embryo in (T4 and T5) treatments compared to T2 but the two treatments (T1 and T3) didn't record any significant differences with the other treatments. diameter transparent area recorder Significant increase ($P < 0.01$) for (T1 and T5) compared (T2 and T3) as for T4 didn't recorder significant difference with the all treatment. (T3, T4 and T5) treatment recorder a high Significant increase ($P < 0.01$) in the diameter of vascular area compared (T1), while treatment (T2) didn't record any significance with the rest of the treatment. no observed significant difference in measuring (somites) between all treatments. (after hatching) showed a significant increase ($P < 0.01$) body weight average of the chicken for the T5 treatment and in the total weight live gain of the chicken for the T4 and T5 treatments and the significant improvement ($P < 0.01$) in the total feed conversion ratio for the T3, T4 and T5 treatments compared control treatment.

we conclude for this experimental that in ovo injection by Nano-Steroid Extract of wild *bacopa monnieri* L with Nano Chitosan containing of (100 µg /egg) before incubation eggs, led to a significant increase in the length embryo , diameter vascular area at three days of embryonic development, as well as significant improve in some of the productive characteristics to hatched chicks during rearing period until the age of marketing.

Keywords: Ovo Injection, Nano-Steroidal, *Bacopa Monnieri* L. , broiler chicks

محمد عايد عبدالله كاظم الشمري

محافظة واسط / مديرية زراعة واسط - وزارة الزراعة/ العراق

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة تأثير حقن بيض التفقيس بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي المحضر مختبرياً لنبات البري *Bacopa monnieri* L. في بعض القياسات الجنينية بعمر 3 يوم من حضانة البيض فضلاً عن بعض الصفات الانتاجية للأفراخ الفاقسة لحين مرحلة التسويق . تم استخلاص المركبات الستيريدي من النبات مع إجراء فحص HPLC لمعرفة بعض أنواع هذه المركبات وتركيزها . استخدم 705 بيضة تفقيس من امهات فروج اللحم Ross 308 بعمر صفر يوم وزعت عشوائياً على خمسة معاملات (141 بيضة/معاملة) بواقع ثلاث مكررات (47 بيضة/مكرر) وكانت المعاملات كما يلي : معاملة T1 سائلة (بدون حقن) وثانية T2 موجبة (حقن 0.2 مل من محلول الملح الفسيولوجي N.S) ، المعاملة T3 حقن (0.2 مل N.S تحتوي 100 مايكروغرام من Cs NPs) / بيضة ، المعاملة T4 حقن (0.2 مل N.S تحتوي 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي الخام) / بيضة ، اما المعاملة T5 حقن (0.2 مل N.S تحتوي 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي مع الكيتوسان النانوي) / بيضة . أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية ($P < 0.05$) في طول الجنين لمعاملات (T4 و T5) مقارنة بالمعاملة (T2) ولم تسجل المعاملتان (T1 و T3) اي فروق معنوي مع المعاملات الاخرى، أما قطر المنطقة الشفافة فقد سجلت ارتفاعاً عالي المعنوية ($P \leq 0.01$) لصالح (T5 و T1) مقارنة بـ (T2 و T3) ولم تسجل (T4) اي فرق معنوي مع باقي المعاملات ، كما سجلت (T3 ، T4 و T5) ارتفاعاً عالي المعنوية ($P < 0.01$) في قياس قطر منطقة الأوعية الدموية بالمقارنة بـ (T1) في حين لم تسجل (T2) أي فرق معنوي مع المعاملات الأخرى . ولم يلاحظ وجود فرق معنوي بين المعاملات كافة في قياس عدد أزواج البديئات (Somites) . وفيما يخص الصفات الانتاجية المتمثلة بمعدل وزن الجسم الحي والزيادة الوزنية ومعامل التحويل الغذائي بعد الفقس لوحظ ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل وزن الجسم الحي النهائي للمعاملة T5 وفي الزيادة الوزنية الكلية للفروج للمعاملتين T4 و T5 مقارنة بمعاملي السيطرة وتحسناً معنوياً ($P < 0.01$) في معامل التحويل الغذائي الكلي للمعاملات T3 و T4 و T5 مقارنة بمعاملي السيطرة .

نستنتج من هذه التجربة أن حقن بيض التفقيس لأمهات فروج اللحم بالمستخلص الستيريدي المحمل مع الكيتوسان النانوي وبتركيز (100 مايكروغرام/بيضة) قبل الحضانة قد أدى إلى ارتفاع معنوي في طول الجنين وقطر المنطقة الشفافة وقطر منطقة الأوعية الدموية للأجنة بعمر 3 ايام من النمو الجنيني فضلاً عن تحسن معنوي في بعض الصفات الانتاجية للأفراخ الفاقسة خلال فترة التربية لحين التسويق

المقدمة

ان الاهتمام بدعم سلالات فروج اللحم ومنذ المراحل الأولى من النمو والتطور الجنيني لها بكافة العناصر الغذائية والمواد التي تساهم بشكل فعال في الحصول على أفراخ تمتاز بوزن وحيوية عاليين بالإضافة الى تحسن نسبة الفقس أمر مهم جداً وهذا ما هدفت إليه تقانة حقن بيض التفقيس (In ovo injection) التي تعد من أهم التقانات التي تساهم في إنتاج أفراخ سليمة ذات حيوية عالية وصحة جيدة وأداء إنتاجي متميز (ناجي وآخرون ، 2007) وقد ركز الباحثون في هذا المجال على كثير من المواد المغذية والمنشطة عن طريق حقنها في بيض التفقيس بأعمار مبكرة ومتأخرة من النمو الجنيني ، كالفيتامينات والأحماض الأمينية (الاسدي، 2006 ؛ الشمري، 2012) ، والمنشطات (Al-Daraji وآخرون ، 2011)، والهرمونات (Kocamis وآخرون، 1999؛ Al-Salhie ، 2005) ، واللقاحات (Sokale وآخرون، 2018) ، والمستخلصات النباتية (فهد و الشمري 2013 ؛ Coskun وآخرون ، 2017) بالإضافة إلى المواد النانوية (Beck وآخرون ، 2015 ؛ patric وآخرون ، 2016 ؛ Hassan ، 2018 ؛ الشمري ، 2019) حيث أعطت دعم عالي للأجنة مما امكن الحصول على أفراخ فاقسة ذات نوعية جيدة وأداء عالي لاحقاً. تعد المركبات الستيريدي النباتية (Phytosterol) احد أنواع مركبات الايض الثانوي الفعالة (Active compounds) والموجودة في اغلب أنواع النباتات وخاصة النباتات الطبية ومنها نبات البري *Bacopa monnieri* L. . تمتاز هذه المركبات بادوار فعالة كبيرة (Subashri و Justin ، 2014؛ Pawar وآخرون ، 2016) في مجالات طبية وصيدلانية عديدة ، وفي مجال تربية وإنتاج الطيور الداجنة لاقت هذه المركبات اهتماماً واسعاً في الآونة الأخيرة من قبل عدة باحثين لما لها من دور في نمو وتحسين حجم الكتلة العضلية لفروج اللحم التجاري وذلك من خلال تحسين مستوى التعبير الجيني في الأنسجة العضلية واللازم لتكاثر خلايا العضلات وتمايزها حيث أعطت تطور شكلي مناسب في الكتلة العضلية (Naji وآخرون 2014). كما وتعتبر هذه المركبات أساساً في تكوين مركبات أخرى كالبولدينون 17β -boldenone وذلك بعد أن يتم ايضها داخل جسم الكائن الحي (De Brabander وآخرون ، 2004؛ Scarth وآخرون، 2009) والبولدينون هو احد أنواع المنشطات البنائية الاندروجينية (Anabolic androgenic steroid) ويطلق عليه بنظير التستوستيرون المهدرج (Elks ، 2014) وكيميائياً يسمى بـ $\alpha 1$ -testosterone والذي يمتاز بنشاط وفعل حيوي عالي في تحفيز الخلايا العضلية على تصنيع البروتين والبناء العضلي لفروج اللحم وعجول التسمين (Elmajdoub وآخرون ، 2016 ؛ Neamat-Allah ، 2014) . لذا يمكن اعتبار هذه المركبات الحيوية الطبيعية ذات الأصل النباتي إضافة عن البولدينون بديلاً عن الهرمونات الاندروجينية ذات الأصل الحيواني كالتستوستيرون والتي لازالت تستخدم في عدة بلدان من العالم من اجل تحسين الكتلة العضلية لفروج

اللحم والحصول على معدل وزن عالي بأقل فترة زمنية والتي أثبتت العديد من الدراسات أن لها تأثيرات سلبية ضارة على الحيوان نفسه وتتبعكس أيضا على صحة المستهلك.

أجريت هذه التجربة بهدف معرفة تأثير حقن بيض تفقيس أمهات فروج اللحم ROS 308 بالمركبات الستيريودية المستخلصة من نبات البربين البري بصورتها الخام والنانوي بعد تحميلها على النانوكيتوسان (Cs NPs) في بعض القياسات أثناء مرحلة النمو الجنيني وبعض الصفات الانتاجية لأفراخ فروج اللحم الفاقسة لحين التسويق .

المواد وطرائق العمل :

جمع وتحضير النبات واستخلاصه :

تم جمع نبات البربين البري من ضفاف شط العرب/البصرة ، وتم تحضيره للاستخلاص في مختبر المستخلصات النباتية في قسم علوم الحياة / كلية العلوم للنبات/ جامعة بغداد. بعد تجفيف الأجزاء الهوائية للنبات تم طحنها ثم أجريت طريقة الاستخلاص الكحولي له حسب ما أشار إليه Pawar وآخرون (2016) و Wagner و Bladt (2009) اعتمدت في هذه الطريقة عملية التنقيع maceration process للمسحوق وتضمنت الطريقة وزن 500 غم من المسحوق ووضعه في قارورة زجاجية ثم أضيف إليه 1.5 لتر إيثانول مطلق (99.9%) بعد ذلك أضيف 0.5 لتر كلوروفوم مطلق (99.4%) وغلقت القارورة بإحكام وتركت في حالة التنقيع للاستخلاص لمدة 7 أيام متتالية دون فتحها في مكان معتم وبدرجة حرارة الغرفة.

تم الكشف عن الستيريويديات في المستخلص الناتج من الطبقات العضوية التي تم فصلها بقمع الفصل وذلك بإجراء اختبار Salkowski reaction وحسب ما أشار إليه Kiruthiga و Sekar ، (2014) .

تحضير المركبات النانوية المستخدمة في الحقن :

استخدم مسحوق الكيتوسان (الماني المنشأ) والذي تم الحصول عليه من احد المكاتب العلمية وحضر منه الكيتوسان النانوي Chitosan Nanoparticles (Cs NPs) بوجود المركب Sodium Tri Poly Phosphate (STPP) باعتباره عامل ارتباط مع الـ Chitosan لإنتاج الجسيمات النانوية للكيتوسان من خلال طريقة الهلام الأيوني (Ionotropic gelation method) (Du و Xu ، 2003 Dounighi ; وآخرون ، 2012 Ghadi ; وآخرون ، 2014).

وصف وتشخيص المركبات النانوية المحضرة :

أجريت بعض القياسات لغرض وصف وتشخيص المركبات النانوية المحضرة وقد شملت تشخيص المحتوى الكيميائي لها باستخدام جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) لغرض تحديد المجاميع الجديدة التي ظهرت بعد ربط وتحميل النانوستيريويد مع الكيتوسان النانوي ، كما شملت قياس متوسط أحجام الحبيبات النانوية المحضرة وذلك باستخدام تقنية تشتيت الضوء الديناميكية (DLS) Dynamic Scattering Light Intensity (DLS)، وشملت أيضا الفحص بالمجهر الإلكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscopy وذلك للحصول على صورة للمركب النانوي المحضر. علما أن قياس (FT-IR) اجري في احد مختبرات جامعة بغداد، أما القياسين الآخرين فقد تم إجرائهما في مختبر Beem Goster Taban ومختبر Rastak analysis laboratory في مدينة طهران / جمهورية إيران .

حقن بيض التفقيس In ovo injection :

استخدم في البحث 705 بيضة مجنسة تم جلبها من احد حقول أمهات فروج اللحم التابعة لشركة الحديثة ، إذ كان البيض من حقل واحد ومن جمعة واحدة من أمهات ROSS 308 بعمر 45 أسبوع تربي تربية أرضية وكانت نسبة الذكور إلى الإناث في الأمهات 1:6 وتتناول عليقة حاوية على 15.2% بروتين خام و 2774 كيلو سعرة / كغم علف طاقة ممثلة . قسم البيض إلى خمسة معاملات وتم تخصيص 141 بيضة لكل معاملة بواقع (47 بيضة / مكرر) وكانت معاملات التجربة كما يلي : المعاملة الأولى (T1) بدون حقن معاملة سيطرة سالبة (Negative control) ، المعاملة الثانية (T2) حقن 0.2 مل من المحلول الملحي المتعادل N.S (Normal Saline 0.9%) / بيضة واعتبرت معاملة سيطرة الموجبة (Positive control) ، المعاملة الثالثة (T3) حقن 0.2 مل من N.S تحوي على 100µg من النانوكيتوسان Cs TPP / بيضة ، المعاملة الرابعة (T4) حقن 0.2 مل من N.S تحوي على 100µg من المستخلص الستيريودي / بيضة ، المعاملة الخامسة (T5) حقن 0.2 مل من N.S تحوي على 100µg من المستخلص الستيريودي النانوي المحمل على النانوكيتوسان Cs TPP / بيضة .

تم حقن البيض بعمر صفر يوم في منطقة الفسحة الهوائية بواسطة مسدس الحقن المستخدم في اللقاح الزيتي بحجم 0.2 مللتر وإبرة ذات قياس 25 ملم (Bhanja وآخرون، 2004) بعد فحص البيض ضوئيا وتحديد الفسحة الهوائية حيث تم تعقيم منطقة الحقن باستخدام قطن مرطب بالكحول وأدخلت الإبرة من الجهة العريضة للبيضة بعد ثقب القشرة بواسطة ثاقب ثم غلق الثقب باستخدام صبغ الأظافر (الجاف، 2005 ; الشمري، 2012) ثم نقل البيض الى المفقس الذي يحتوي على حاضنات ومفقسات بلجيكية الصنع نوع Petter Saim Fission موديل 2015 تحتوي على شاشة عرض رقمية (LED) مبرمجة إذ كانت درجة حرارة الحاضنة (setters) 99.4 ف° والرطوبة 67% وبعد مرور 18 يوم من الحضنة نقل البيض إلى المفقس (Hatcher) لحين الفقس والتي كانت درجة الحرارة فيها في اليوم الأول 99.2 ف° ورطوبة 87% وفي

اليوم الثاني 98.2 ف° ورطوبة 88% وفي اليوم الثالث 98.5 ف° ورطوبة 90% وفي اليوم الرابع 98 ف° ورطوبة 86% وهو يوم تجفيف الأفراخ بعد فقسها ،

الصفات المدروسة أثناء النمو الجنيني وبعد الفقس :

تم قياس (طول الجنين ، قطر المنطقة الشفافة و قطر منطقة الأوعية الدموية) بعمر 3 أيام من حضانة البيض. وقد أجريت هذه القياسات باستعمال فرجال مديب الطرفين يتم مطابقته على ورق ملليمترى حسب طريقة عبد اللطيف وآخرون (2001) ، الشمري (2012) . بعد ذلك جرى فصل الجنين وما يحيطه عن محتويات البيضة لغرض احتساب عدد أزواج البديئات somites وقد تم الفصل بعمل حلقة من ورق ترشيح Filter paper يتناسب قطرها الداخلي مع قطر الأوعية الدموية المحيطة بالجنين بعدها تم قص غشاء الصفار حول القطر الخارجي لحلقة الورقة لغرض فصل الجنين مع الأغشية المحيطة به ورفعها بملقط ثم تم غسل الجنين بماء مقطر من الصفار الملتصق ووضع تحت المجهر الضوئي لاحتساب عدد أزواج البديئات .

اما بعد الفقس فقد تم دراسة بعض الصفات الانتاجية للأفراخ الفاقسة خلال فترة التربية لحين التسويق والمتمثلة بمعدل وزن الجسم الحي الأسبوعي (غم / طير) اذ وزنت الأفراخ بعمر يوم واحد بعد الفقس مباشرة تم وزنت عند نهاية كل اسبوع باستخدام ميزان كهربائي نوع (Digital price computing scal) وتم تطبيق المعادلة الآتية لمعرفة معدل وزن الطير ضمن المكرر الواحد (الفايض واخرون، 2011).

$$\text{معدل وزن الجسم الحي (غم/طير)} = \frac{\text{مجموع اوزان الطيور في المكرر}}{\text{عدد الطيور الكلي في المكرر}}$$

اما الزيادة الوزنية الأسبوعية (غم/طير) فقد تم حسابها كما جاء في الفياض واخرون (2011) .

معدل الزيادة الوزنية الأسبوعية (غم/طير) = معدل وزن الجسم الحي في نهاية الأسبوع – معدل وزن الجسم الحي في بداية الأسبوع.

وفيما يخص احتساب معامل التحويل الغذائي الأسبوعي والتراكمي و فقد اجري كما موضح في المعادلة الآتية وكما ذكره الفياض واخرون (2011)

$$\text{معامل التحويل الغذائي} = \frac{\text{معدل العلف المستهلك الاسبوعي (غم)}}{\text{معدل الزيادة الوزنية الاسبوعي (غم)}}$$

التحليل الاحصائي :

تم تحليل البيانات باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار Duncan (1955) متعدد الحدود. استعمل برنامج الـ SAS (2012) في التحليل الإحصائي على وفق الأنموذج الرياضي :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

إذ إن : Y_{ij} : قيمة المشاهددة j العائدة للمعاملة i .

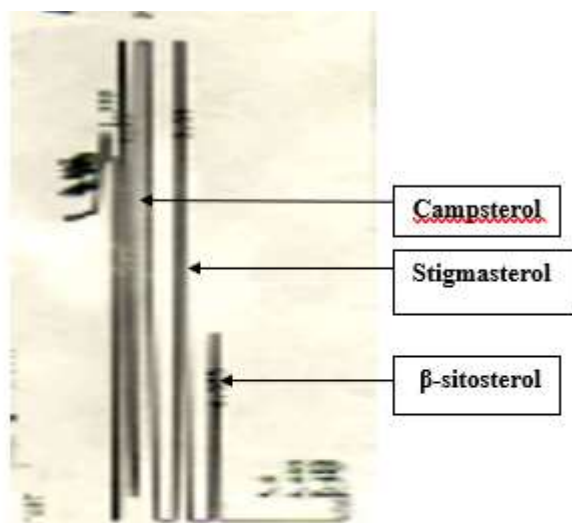
μ : المتوسط العام للصفة .

T_i : تأثير المعاملة i (إذ شملت الدراسة تأثير الـ 5 معاملات الأنفة الذكر) .

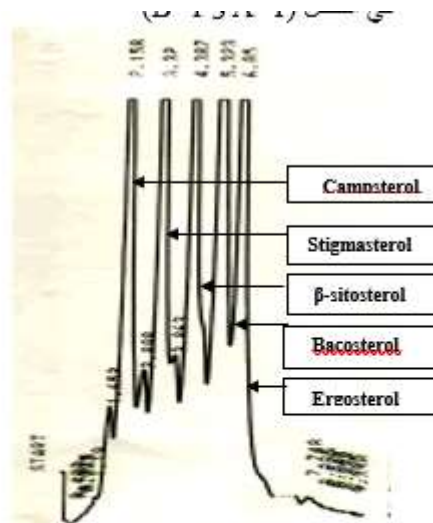
e_{ij} : الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره σ^2_e .

النتائج و المناقشة :

أظهرت نتائج الفحص بتقنية HPLC وبعد مقارنتها بالقياسي عن وجود المركبات الستيرويدية (Campsterol ، Stigmasterol ، β -sitosterol) بتركيز 452.01 ، 200.56 ، 77.41 مايكروغرام/مل على التوالي وبنسبة وجود 61.91% ، 27.48% ، 10.60% على التوالي . وكما موضحة في الشكل (A-1 و B-1)

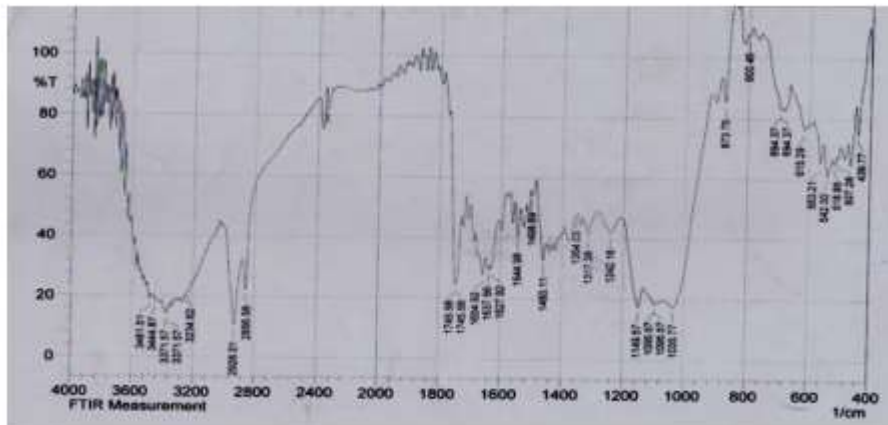


الشكل B-1 . كروماتوغرافيا HPLC للمستخلص بعد الفصل ويظهر فيه فصل الستيرويدات (Stigmaterol , β-sitosterol , Ergosterol , Campsterol)



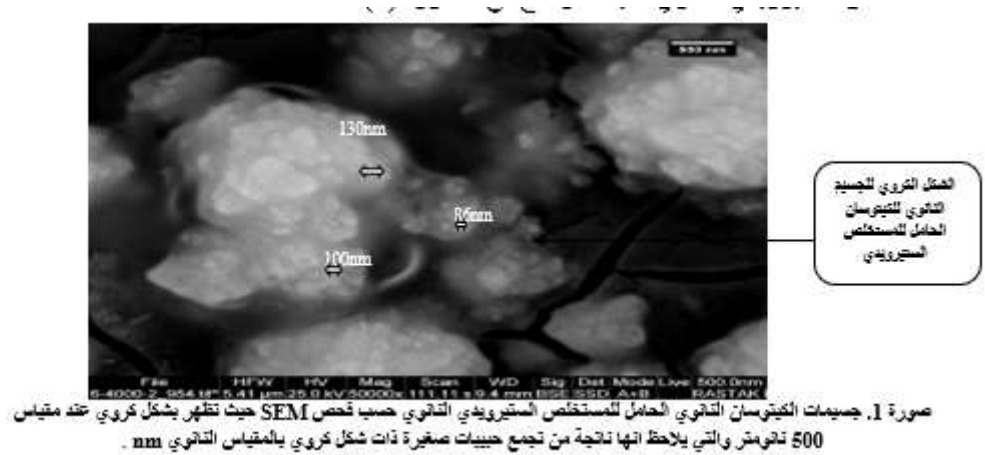
الشكل A-1 . كروماتوغرافيا HPLC للستيرويدات النباتية القياسية :
• Stigmaterol • Campsterol)
• Bacosterol • β-sitosterol

أما نتائج التشخيص الطيفي بتقنية (FTIR) للمركب الستيرويدي النانوي المرتبط بالكتيوسان النانوي (Cs NPs-Linker-) (Steroid) أظهرت وجود حزمة امتصاص عند (1745.58) سم⁻¹ والتي تعود الى مط أصرة (O-C=O) الاسترية وكذلك ظهور حزمة امتصاص عند (3371.5) سم⁻¹ تعود الى مجموعة هيدروكسيل الحامض وظهور حزمة عند الموقع (1654.9) تعود إلى تردد أصرة مجموعة الأمايد (C=O) للمركب المحضر ، فضلا عن ظهور حزمة في المنطقة (3481.51) تعود لاهتزاز مجموعة الهيدروكسيل (OH) وحزمة عند الموقع (2926.01) سم⁻¹ و (2856.58) سم⁻¹ تعود لاهتزاز أواصر (C-H) الاليفاتية (شكل 2).



شكل 2. تحليل (FT-IR) للمستخلص الستيرويدي النانوي المرتبط بالكتيوسان بوجود المائتيك انهايديد

وأظهرت نتائج قياس حجم الحبيبات النانوية بتقنية (DLS) ان متوسط حجم حبيبات الكيتوسان النانوي المرتبط بالمستخلص الستيرويدي النانوي بينهما كان 137.9 نانومتر وهذه توافقت مع Kaur وآخرون (2011) ، أما الفحص بالمجهر الالكتروني الماسح (SEM) للكتيوسان النانوي بعد تحميل المستخلص الستيرويدي النانوي عليه فموضح في الصورة (1) .



نتائج الحقن بالمستخلص السيترويدي الخام والنانوي في النمو الجنيني بعمر 3 يوم من حضانة البيض:

يبين الجدول 1 - تأثير معاملات الحقن المختلفة في النمو الجنيني بعمر 3 أيام من حضانة البيض إذ لوحظ حصول زيادة معنوية ($P < 0.05$) في طول الجنين لصالح معاملي الحقن (T5 و T4) مقارنة بمعاملة السيطرة الموجبة (T2) بينما لم تسجل المعاملتان (T3 و T1) أي فرق معنوي مع بقية المعاملات فيما يخص هذا القياس، أما قطر المنطقة الشفافة فقد سجلت ارتفاعاً عالي المعنوية ($P \leq 0.01$) لصالح المعاملتين T5 تلتها المعاملة T1 مقارنة بالمعاملتين (T3 و T2) ولم تسجل المعاملة (T4) أي فرق معنوي مع بقية المعاملات، كما سجلت معاملات الحقن (T3 و T4 و T5) ارتفاعاً عالي المعنوية ($P < 0.01$) في قياس قطر منطقة الأوعية الدموية بالمقارنة مع معاملة السيطرة السالبة (T1) في حين لم تسجل المعاملة (T2) أي فرق معنوي بالمقارنة مع المعاملات الأخرى. ولم يلاحظ وجود أي فرق معنوي بين معاملات التجربة كافة في قياس عدد أزواج البدينات (Somites) على الرغم من تفوق المعاملة (T5) حسابياً على جميع المعاملات الأخرى.

يمثل عمر 3 أيام (72 ساعة) من التطور الجنيني بداية للمرحلة الأولى من حياة الأجنة والتي هي مرحلة بداية نمو وتطور أجهزة الجنين الداخلية وتكوين أغشيتها ويطلق عليها بمرحلة التخليق (Stage of embryonic synthesis) (Orlov, 1987; Baggott, 2009; ناجي وآخرون، 2009)، إذ يمثل طول الجنين مؤشراً لمدى التطور في نمو الأجنة، ويمثل قياس قطر المنطقة الشفافة المحيطة بالجنين مدى تطور غشاء وسائل الأمنيون والذي له دور في حماية الجنين من الصدمات ومن التلامس مع بياض البيضة وقشرتها إذ أن تطورها ونموها بشكل سريع يعد إشارة لنمو سريع في الخلايا المنتجة للطبقات الجرثومية والذي بدوره يشير إلى تطور الجنين بشكل جيد، كما أن أزواج البدينات (Somites) التي هي عبارة عن أجسام كثيفة توجد على طول الخط الطولي للجنين بهذا العمر تمثل البداية الجنينية الرئيسة لنشوء الهيكل العظمي والحبل الشوكي إذ تكون العمود الفقري فيما بعد، وإن زيادة أعدادها يدل على نمو جنيني أعلى في التطور الجنيني بهذه المرحلة، أما قطر الأوعية الدموية فتتمثل مدى تطور الجهاز الدوراني الدموي خارج الجنين والمتمثلة بالدورة الدموية الصفارية والتي تكون على شكل شبكة شعيرية من الأوعية الدموية على الصفار (yolk sac) إذ تصل المواد الغذائية من الصفار إلى الجنين بواسطة أوردة الصفار ويصل الدم إلى الجنين بواسطة شرايين الصفار، إذ أن الدورة الدموية الجنينية في هذه المرحلة من النمو والتطور الجنيني تكون قد تأسست وتكونت والتي فيها يتميز القلب إلى أربع حجرات هي الجيب الوريدي والأذين والبطين والجذع الشرياني وتكوين الأقواس الابهريّة والأوردة الرئيسة (main veins). (Orlov, 1987; عبيد، 2010).

جدول 1- تأثير حقن بيض التفقيس بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي والمركب النانوي الحامل له في النمو الجنيني بعمر 3 أيام من الحضانة

المعاملات	طول الجنين (مم)	قطر المنطقة الشفافة (مم)	قطر منطقة الأوعية الدموية (مم)	عدد أزواج البويضات
T1	0.76 ± 8.70	0.30 ± 11.800	0.33 ± 17.33	1.35 ± 32.34
T2	0.79 ± 7.57	0.47 ± 9.370	0.52 ± 23.00	2.32 ± 32.67
T3	0.89 ± 9.50	0.47 ± 9.370	0.65 ± 25.67	1.50 ± 35.01
T4	0.12 ± 10.27	0.76 ± 10.91	0.66 ± 28.67	1.15 ± 36.98
T5	0.63 ± 10.83	0.58 ± 12.10	0.73 ± 29.02	1.52 ± 38.01
مستوى المعنوية	*	**	**	NS

T1، T2، T3، T4، T5 تمثل معاملة السيطرة السالبة بدون حقن ، معاملة السيطرة الموجبة بحقن 0.2 مل NS / بيضة ، حقن 0.2 مل من محلول Cs/TPP النانوي بتركيز 100 ميكروغرام / بيضة ، حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 ميكروغرام من المستخلص الستيريدي النانوي المرتبط بالCs/TPP النانوي/بيضة يعمر صفر يوم على التوالي. حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 ميكروغرام من المستخلص الستيريدي النانوي المرتبط بالCs/TPP النانوي/بيضة يعمر صفر يوم على التوالي. ** مستوى المعنوية ($P < 0.01$) . * مستوى المعنوية ($P < 0.05$) . المتوسط الحسابي $\pm$ الخطأ القياسي. الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير إلى وجود فرق معنوي.

يظهر من نتائج الجدول (1) بان معاملات الحقن بالمستخلص الستيريدي النانوي المحمل على المركب النانوي (T5) ومعاملة الحقن بالمستخلص الستيريدي الخام (T4) كانت الأفضل عند قياس طول الجنين وقطر منطقة الاوعية الدموية مقارنة بمعاملات السيطرة السالبة والموجبة T1 و T2 ، فضلا عن الفرق المعنوي بقطر المنطقة الشفافة لصالح المعاملة T5 على الرغم من ارتفاعها أيضا في معاملة السيطرة السالبة ، وهذا دليل على حصول نمو أفضل للأجنة في هذه المرحلة العمرية من التطور الجنيني وقد يعود السبب الى دور المركبات الستيريديية الموجودة في المستخلص الستيريدي خاصة الـ (Campsterol و Stigmasterol و β -Sitosterol) التي تؤدي دورا كبيرا في نمو وتطور الاوعية الدموية والمحافظة عليها اذ اشار Hu و Willett (2002) الى ان مركبات الايض النانوي الستيريديية والتي ينتجها النبات خاصة (Campsterol و Stigmasterol و β -Sitosterol) لها آثار مفيدة في سلامة الاوعية الدموية وحمايتها وأشاروا إلى أن الآليات وراء هذه الحماية ليست مفهومة تماما . قد يعود السبب في زيادة طول الأجنة في معاملي الحقن (T4 و T5) في هذه المرحلة العمرية إلى زيادة قطر منطقة الاوعية الدموية فيها والتي تلعب دور مهم جدا في امتصاص المكونات الغذائية للبيضة وتزويد الجنين بها كذلك تزويده بالأكسجين الضروري لسير عمليات الايض لهذه المركبات الغذائية وبهذا سيكون معدل نمو الجنين اعلى ، وقد أشار Xing و Wai (2017) إلى انه وعلى الرغم من تحديد التوافر الحيوي للمركبات الستيريديية النباتية لتكون ضرورية في الحفاظ على الاوعية الدموية وسلامتها إلا انه لا يُعرف سوى القليل عن تأثيراتها عليها . وأشار Awad وآخرون (2001) الى ان كل من Campsterol و Stigmasterol لها دور مهم في تحرير البروستاسايكلين Prostacyclin في اوعية خلايا العضلات الملساء مما قد يترجم إلى توسع الاوعية في الجسم الحي. اشار (Beck وآخرون، 2015) الذي قام بحقن بيض التفقيس لامات فروج اللحم بالمركب النانوي Ag-hydroxyproline NPs المحمل على الفضة النانوية فضلا عن حقن Ag NPs ان نتائج الحقن أظهرت ارتفاعا معنويا في تنظيم التعبير الجيني لـ PGF2 عند mRNA ومستوى البروتين فضلا عن ارتفاع معنوي في حجم الوعاء الدموي للأجنة . كما وأشار pineda وآخرون، (2012) إلى أن حقن بيض التفقيس بـ Ag NPs في عمر يوم واحد من التطور الجنيني و لسلالات مختلفة من فروج اللحم قد أدت إلى تعزيز امتصاص الدهون وزيادة استهلاك O_2 وتحفيز النمو والتطور الجنيني الصحيح .

نتائج الحقن بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي في معدل وزن الجسم الحي ، الزيادة الوزنية ، ومعامل التحويل الغذائي .

يتضح من الجدول (2) تفوقت معاملة الحقن (T5) معنويا ($P < 0.01$) بعمر 7 ايام على المعاملات الأخرى جميعها في معدل وزن الجسم الحي الاسبوعي، بينما تفوقت المعاملة (T4) معنويا ($P < 0.01$) مقارنة بمعاملي السيطرة (T1 و T2) ومعاملة الحقن (T3)، ولم يكن هناك فرق معنوي بين المعاملات (T1 و T2 و T3) ، و بعمر 14 يوما تفوقت معاملة الحقن (T5) معنويا ($P < 0.01$) على معاملي السيطرة T1 و T2 والمعاملتان T3 و T4 ألتان بدورهما تفوقتا معنويا على معاملة السيطرة السالبة (T1) ، ولم يكن هناك فرق معنوي بين معاملة السيطرة (T2) والمعاملات (T1 و T3 و T4)، وبعمر 21 يوما لم تكن هناك فروق معنوية بين معاملات الحقن ومعاملي السيطرة الموجبة والسالبة في معدل للفروج، في وزن الجسم الحي للفروج ، في حين سجلت معاملة الحقن (T5) ارتفاعا معنويا ($P < 0.05$) في معدل وزن الجسم الحي عند عمر 28 يوم مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة (T1) ومعاملة الحقن (T4) بينما لم تسجل المعاملات T1 ، T2 ، T3 و T4 فرقا معنويا فيما بينهما، أما بعمر التسويق 35 يوم فتفوقت معاملة الحقن T5 معنويا ($P < 0.01$) على معاملي السيطرة الموجبة السالبة (T1 و T2) ومعاملة الحقن بالكيوتوسان النانوي (T3) ، بينما سجلت المعاملة (T4) تفوقا معنويا ($P < 0.01$) أيضا على معاملي السيطرة ولم يكن هناك فرق معنوي بينها وبين المعاملتين (T3 و T5) بينما سجلت المعاملة (T3) ارتفاعا معنويا مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة (T1) ولم يكن هناك فرق معنوي بينها وبين معاملة السيطرة الموجبة (T2) كما لم تسجل المعاملة T2 أي فرق معنوي في معدل وزن الجسم الحي مقارنة بالمعاملة (T3).

جدول 2. تأثير حقن بيض التفقيس بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي والمركب النانوي الحامل له في معدل وزن الجسم الحي الاسبوعي لفروج اللحم (غم/طير)

المعاملات	العمر (يوم)				
	35	28	21	14	7
T1	^a 5.51±1991.72	^b 3.04±1468.86	5.27±881.31	^c 2.82±442.83	^c 0.23±168.68
T2	^{cd} 18.1±2029.5	^{ab} 3.6±1476.93	6.91±884.69	^{bc} 2.05±446.9	^c 0.40±168.81
T3	^{bc} 21.7±2074.4	^{ab} 0.8±1473.94	0.97±888.83	^b 5.68±458.67	^c 0.74±170.44
T4	^{ab} 26.6±2102.3	^b 1.93±1472.40	26.78±894.45	^b 5.99±457.12	^b 1.01±173.09
T5	^a 8.59±2148.57	^a 2.60±1481.56	2.02±902.75	^a 3.06±481.96	^a 0.13±177.04
مستوى المعنوية	**	*	N.S	**	**

T1، T2، T3، T4، T5 تمثل معاملة السيطرة السالبة بدون حقن ، معاملة السيطرة الموجبة يحقن 0.2 مل N.S / بيضة، حقن 0.2 مل من محلول Cs/TPP النانوي بتركيز 100 مايكروغرام/ بيضة ، حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي المرتبط بالـ Cs/TPP النانوي / بيضة . يعبر صفر يوم على التوالي .

* مستوى المعنوية ($P < 0.05$) .

** مستوى المعنوية ($P < 0.01$) .

المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي.

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير إلى وجود فرق معنوي.

في ما يخص الزيادة الوزنية الاسبوعية (غم/طير) فيلاحظ من الجدول (3) حصول تفوق عالي المعنوية ($P < 0.01$) لصالح معاملة الحقن (T5) مقارنة بمعاملي السيطرة (T1 و T2) ومعاملات الحقن (T3 و T4) في المدة (1-7) ايام في حين تفوقت المعاملة (T4) معنويا ($P < 0.01$) على معاملة السيطرة الموجبة (T2) ولم يكن هناك فرق معنوي بينها وبين معاملة السيطرة السالبة (T1) والمعاملة (T3) ، كما سجلت المعاملة (T5) في المدة الزمنية (8-14) يوم من العمر ارتفاعا عال المعنوية ($P < 0.01$) في الزيادة الوزنية مقارنة بالمعاملات الأخرى جميعها تلتها المعاملة (T3) والتي كانت اعلى معنويا ($P < 0.01$) مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة (T1) ولم يكن هناك اي فرق معنوي بينها وبين المعاملتين (T2 و T4) كما أن المعاملات (T1 و T2 و T4) لم تختلف فيما بينها معنويا ، ولم يكن هناك فروق معنوية بين معاملات التجربة كافة في المديتين (15-21) و (22-28) يوم ، بينما في المدة (29-35) لوحظ حصول ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في الزيادة الوزنية لمعاملة الحقن T5 ايضا مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) والمعاملة (T3) ولم تسجل فرقا معنويا مع T4 التي بدورها تفوقت معنويا على معاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) ولم يكن هناك فرق معنوي بينها وبين معاملة الحقن (T3) التي تفوقت معنويا ($P < 0.01$) على معاملة السيطرة السالبة (T1) ولم يكن هناك فرقا معنويا بينها وبين معاملة الحقن (T2)، كما لم تختلف معاملة السيطرة الموجبة معنويا مع معاملة السيطرة السالبة. أما الزيادة الوزنية الكلية (1-35) يوم فكانت معنوية على مستوى ($P < 0.01$) لصالح معاملي الحقن (T4 و T5) مقارنة بمعاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2).

جدول 3. تأثير حقن بيض التفقيس بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي والمركب النانوي الحامل له في الزيادة الوزنية الاسبوعية (غم/طير)

العمر (يوم)						المعاملات
35-1	35-29	28-22	21-15	14-8	7-1	
^c 5.84±1940.53	^d 8.47±522.86	6.68±587.55	4.57±438.47	^c 2.67±274.14	^{bc} 0.45±117.49	T1
^{bc} 17.84±1977.08	^{cd} 20.19±552.59	9.25±592.24	8.96±437.80	^{bc} 1.94±278.08	^c 0.71±116.36	T2
^{ab} 29.79±2030.16	^{bc} 22.42±600.44	0.89±585.11	6.23±430.15	^b 5.46±288.22	^{bc} 1.02±117.43	T3
^a 26.70±2048.29	^{ab} 25.74±629.93	16.85±577.95	14.35±437.32	^{bc} 4.98±284.03	^b 0.64±119.05	T4
^a 8.20±2094.15	^a 5.99±667.01	2.36±578.81	4.43±420.78	^a 2.99±304.80	^a 0.69±122.61	T5
**	**	<u>N.S</u>	<u>N.S</u>	**	**	مستوى المعنوية

T1، T2، T3، T4، T5 تمثل معاملة السيطرة السالبة بدون حقن ، معاملة السيطرة الموجبة يحقن 0.2 مل N.S / بيضة، حقن 0.2 مل من محلول Cs/TPP النانوي بتركيز 100 مايكروغرام/ بيضة ، حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي المرتبط بالـ Cs/TPP النانوي / بيضة . يعبر صفر يوم على التوالي .

* مستوى المعنوية ($P < 0.05$) .

** مستوى المعنوية ($P < 0.01$) .

المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي.

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير إلى وجود فرق معنوي.

ولم يكن هناك فرق معنوي بينهما وبين معاملة الحقن (T3)، كما وسجلت معاملة الحقن (T3) زيادة وزنية معنوية ($P<0.01$) مقارنة بمعاملة السيطرة السالبة (T1) ولم يكن هناك فرق معنوي بينها وبين معاملة السيطرة الموجبة T2 .

اما معامل التحويل الغذائي والمبينة نتائجه في جدول (4) فقد سجلت فيه معاملة الحقن T5 في المدة (7-1) يوم تحسن عالي المعنوية ($P<0.01$) مقارنة بمعاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) والمعاملات (T3 و T4) التي لم تختلف فيما بينها معنويا، كما سجلت المدة (8-14 يوم) تحسن معنويا على مستوى ($P<0.01$) لصالح المعاملة (T5) مقارنة بمعاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) والمعاملتين (T3 و T4) كما سجلت المعاملات T3 و T4 تحسنا معنويا ($P<0.01$) بالمقارنة مع معاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) ولم يكن بينهما فرق معنوي كما لم يكن بين معاملي السيطرة ايضا اي فرق معنوي، ولم تسجل المدتين (15-21) و (22-28) يوم أي فروق معنوية فيما بينهما، أما الأسبوع الأخير (29-35) يوم فقد سجلت فيه المعاملتان (T4 و T5) تحسنا عالي المعنوي ($P<0.01$) في معامل التحويل الغذائي مقارنة بمعاملي السيطرة الموجبة والسالبة (T1 و T2) بينما لم يكن بين المعاملتين (T4 و T5) أي فارق معنوي ومن ناحية أخرى لوحظ ان المعاملة T3 سجلت تحسنا معنويا ($P<0.01$) عند مقارنتها بمعاملة السيطرة السالبة (T1) التي لم يكن بينها وبين معاملة السيطرة الموجبة T2 أي فارق معنوي كما لم يكن بين المعاملة (T3) والمعاملة (T2) أي فارق معنوي . وبالنسبة للمدة الكلية الممتدة من (1-35) يوم فكان

جدول 4. تأثير حقن بيض التفقيس بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي والمركب النانوي الحامل له في معامل التحويل الغذائي

المعاملات	العمر (يوم)					
	35-1	35-29	28-22	21-15	14-8	7-1
T1	0.017 ± 1.57^a	0.023 ± 1.97^a	0.020 ± 1.52	0.023 ± 1.47	0.008 ± 1.21^a	0.008 ± 1.21^a
T2	0.014 ± 1.55^a	0.081 ± 1.94^{ab}	0.025 ± 1.50	0.03 ± 1.44	0.01 ± 1.22^a	0.01 ± 1.22^a
T3	0.03 ± 1.47^b	0.07 ± 1.72^{bc}	0.026 ± 1.46	0.02 ± 1.45	0.02 ± 1.16^b	0.01 ± 1.22^a
T4	0.03 ± 1.47^b	0.10 ± 1.65^c	0.061 ± 1.51	0.085 ± 1.45	0.017 ± 1.16^b	0.008 ± 1.19^a
T5	0.015 ± 1.43^b	0.039 ± 1.55^c	0.006 ± 1.47	0.015 ± 1.50	0.005 ± 1.09^c	0.012 ± 1.15^b
مستوى المعنوية	**	**	N.S	N.S	**	**

T1، T2، T3، T4، T5 تمثل معاملة السيطرة السالبة بدون حقن ، معاملة السيطرة الموجبة يحقن 0.2 مل N.S / بيضة ، حقن 0.2 مل من محلول Cs / TPP / النانوي بتركيز 100 مايكروغرام / بيضة ، حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي/بيضة، حقن 0.2 مل تحوي تركيز 100 مايكروغرام من المستخلص الستيريدي المرتبط بالـ Cs/TPP / بيضة . يعبر صقر يوم على التوالي .
** مستوى المعنوية ($P<0.05$)
المتوسط الحسابي $\pm$ الخطأ القياسي.
الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن كل عمود تشير إلى وجود فرق معنوي.

أفضل معامل تحويل غذائي لصالح معاملة الحقن T5 وعلى مستوى معنوية ($P<0.01$) تلتها المعاملتين T4 و T3 وذلك بالمقارنة مع معاملي السيطرة السالبة والموجبة (T1 و T2) و اللتان لم تختلفا فيما بينهما معنويا .

يبدو ان الزيادة الوزنية في معدل وزن الافراخ الفاقسة لصالح معاملات الحقن بالمستخلص الستيريدي الخام والنانوي قد انعكست بشكل ايجابي على معدل اوزان فروج اللحم الاسبوعي فضلا عن التحسن المعنوي في الصفات الانتاجية بشكل عام. كما يبدو ان تحميل المستخلص الستيريدي النانوي على النانوكيتوسان في المعاملة T5 قد اعطى دعما قويا وذلك يرجع إلى الخصائص الحيوية التي يتميز بها النانوكيتوسان وهذا ما أشار إليه Mohammed وآخرون (2017) ان الحبيبات النانوية للكتيتوسان تحسن اختراق وتغلغل العلاج او أي مادة محملة عليها عبر خلايا الظهارة Epithelial cells عند مرورها عبر الجهاز الهضمي المعوي وذلك من خلال فتح ثغرات ضيقة في طبقة الظهارة مما يسهل كل من نقل المادة المحملة وعبورها إلى مجرى الدم إذ ترتبط حبيبات الكيتوسان النانوية (ذات الشحنة الموجبة) مع طبقة المخاط (ذات الشحنة السالبة) لتشكيل تفاعل بين الايونات او أواصر الهيدروجين في ما بينها وبالتالي يسهل تحرير العلاج أو أي مادة أخرى محملة عليه إلى مجرى الدم ومنه إلى الخلايا.

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه Naji وآخرون (2013) الذي قام بإضافة الستيريديبات النباتية والمتمثلة بـ β -sitosterol و Castastosterone إلى عليقة فروج اللحم ودرس تأثيرها في الصفات الإنتاجية ونوعية اللحم والتحسين في الإنزيمات المضادة للأكسدة ، وقد توصل في ضوء دراسته للصفات الإنتاجية بالحصول على ارتفاع عال المعنوية في أداء النمو في مجموعة الإضافة 15 ، 20 و 25 غم/كغم علف لمدة 21 يوم من فترة التجربة على الرغم من عدم وجود فروق معنوية في استهلاك العلف ومعامل التحويل الغذائي ، كما اشار الباحث الى ان اضافة هذه التراكيكز لم يسبب اي تأثير سلبي على جودة اللحوم للفروج وإنتاجها بل كانت أكثر صحية للمستهلك فضلا عن انها زيدت بشكل معنوي من مستوى الإنزيمات المضادة للأكسدة. كما اتفقت النتائج مع Cheng وآخرون (2019) الذي قام بإضافة مستويات من المركب الستيريدي النباتي β -Sitosterol (20، 40 ، 60 ، 80 ، 100 ملغم/كغم) الى العلف المقدم لأفراخ فروج اللحم من عمر يوم ولغاية عمر التسويق ودرس تأثيره في أداء النمو ونوعية اللحوم وحالاته كمضاد للأكسدة والتكوين الحيوي للمايتوكوندريا في عضلة الصدر لفروج اللحم إذ لاحظ تحسن معنوي في معدل وزن الجسم لمعاملات الإضافة 60 و 80 ملغم/كغم علف فضلا عن وجود تحسن معنوي في معامل التحويل الغذائي لنفس المجموعتين مقارنة بمعاملة السيطرة ، وقد يعزى التحسن المعنوي في الصفات الإنتاجية لفروج اللحم الى قدرة هذه المركبات الستيريديدية في تنظيم ايض الدهون وزيادة قدرة مضادات الأكسدة والتخفيف من الاستجابة للالتهابات ، مما قد تؤثر بشكل إيجابي على الحالة

الصحية للطيور الداجنة (Kim وآخرون، 2014؛ Cicero وآخرون، 2002؛ Gupta وآخرون، 2011). أيضا اتفقت نتائج هذه الدراسة مع Kamal، (2006) الذي قام بدراسة تأثير الحقن العضلي لفروج اللحم بالبولدينون الصناعي اذ استخدمه الباحث بتركيز 0.5 ملغم / كغم من وزن الجسم وفي فترات زمنية مختلفة واخذ معدلات وزن الجسم والزيادة الوزنية واستهلاك العلف ولاحظ تحسن ملحوظ في معدل وزن الجسم الحي والزيادة الوزنية الأسبوعية ومعامل التحويل الغذائي، لدى معاملات الحقن مقارنة بمعاملة السيطرة. كما اتفقت مع Al-Salhie (2012) الذي قام بحقن الهرمون الستيرويدي البنائي التستوستيرون بتركيز 25 نانوغرام/ بيضة الخاصة بطيور السمان الياباني وبعمر صفر يوم قبل حضانة البيض حيث لاحظ حصول تفوق معنوي في معدلات أوزان الطيور في معاملة الحقن بهرمون التستوستيرون مقارنة بمعاملات السيطرة المستخدمة.

المصادر :

المصادر العربية :

- 1- الأسدي، عدنان نعمة. 2006. تأثير حقن البيض بالمحاليل المغذية والتغذية المبكرة في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية لفروج اللحم. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة- جامعة بغداد.
- 2- الجاف ، فرح خالد عبد الكريم. 2005. تأثير حقن بيض التفقيس بمستويات مختلفة من حامض الفوليك في التطور الجنيني والصفات الإنتاجية والفسلجية لفروج اللحم الناتج . رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة بغداد.
- 3- الشمري ، محمد عايد عبدالله كاظم. 2012. تأثير حقن بيض التفقيس بتركيز مختلفة من فيتامين A في التطور الجنيني والصفات الإنتاجية والفسلجية لفروج اللحم. رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة بغداد.
- 4- الشمري ، محمد عايد عبدالله. 2019. تأثير حقن اجنة فروج اللحم بالمستخلص الستيرويدي الخام والنانوي لنبات البريبين البري Bacopa monnieri L. في التطور الجنيني والاداء الانتاجي والفسلجي . اطروحة دكتوراة ، كلية علوم الهندسة الزراعية – جامعة بغداد.
- 5- أليفاض ، حمدي عبد العزيز، سعد عبد الحسين ناجي ونادية نايف عبد الهجو . 2011. تكنولوجيا منتجات الدواجن (الجزء الثاني). وزارة التعليم العالي- جامعة بغداد-كلية الزراعة.
- 6- عبد اللطيف ، خلدون محمود، ضياء خليل ابراهيم و ضياء حسن الحسني. 2001. مقارنة النمو الجنيني في البيض الناتج من تزاوج ذكور الدجاج المحلي مع أمهات فابورو. مجلة الزراعة العراقية. 6 (1): 107- 112 .
- 7- عبيد ، امين طارق . 2010 . بيولوجيا وتكنولوجيا التفريخ في الدواجن . استاذ فسيولوجيا الدواجن المساعد . كلية الزراعة / جامعة كفر الشيخ .
- 8- فهد ، مجيد علي ؛ الشمري ، ولاء حسين علي. 2013. تأثير حقن المستخلص المائي للبروبولس في بيض الدجاج على نسبة الفقس وبعض الصفات الفسلجية لأفراخ اللحم . مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، مجلد 12 : العدد 1.
- 9- ناجي ، سعد عبد الحسين ، غالب علوان القيسي ، نادية نايف عبد الهجو و رافد عبد العباس الخالدي. 2007. إنتاج وتكنولوجيا لحوم الدواجن .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .
- 10- ناجي ، سعد عبد الحسين، غالب علوان القيسي، زياد طارق الظنكي، علي حسين الهلالي و ياسر جميل جمال 2009 .. التفقيس وإدارة المفاسد ، جمعية علوم الدواجن العراقية ، نشرة فنية (29) .
- 11- Al-Daraji, H.J., A. A. Al-Mashadani, W. K. Al-Hayani, A. S. Al-Hassani and H. A. Mirza. 2011. Influence of in ovo injection of L-arginine on productive and physiological performance of quail. Research opinions in animal & veterinary sciences.1(7):463-467.
- 12- Al-Salhie , K. 2012. Effect of in ovo injection of testosterone and estrogen hormones and vitamin C on some reproductive, physiological, behavioral and productive traits of japanese quail (coturnix japonica) .Thesis .university of Basra.
- 13- Awad, A. B., A. J. Smith and C. S. Fink. 2001. Plant sterols regulate rat vascular smooth muscle cell growth and prostacyclin release in culture. Prostagl Leukotr Essent Fatty Acids, 64 (6) : 323–30 .
- 14- Baggott , G. K .2009. Development of extra-embryonic membranes and fluid compartments, Avian Biology Research, 2 (1/2) : 21-26.
- 15- Beck, I., A. Hotowy, E.Sawosz, M. Grodzi, M. Wierzbicki , M. , Kutwin, M. Jaworski and A. Chwalibog .2015. Effect of silver nanoparticles and hydroxyproline, administered in ovo, on the development of blood vessels and cartilage collagen structure in chicken embryos. Arch Animal Nutrition,69(1): 57-68.

- 16- **Bhanja , S. K., A. B. Mandal, and T. S. Johri. 2004.** Standardization of injection site, needle length, embryonic age and concentration of amino acids for in ova injection in broiler breeder eggs. *Indian Journal of Poultry Science*, 39:105-111.
- 17- **Coskun , I. , K. Firdevs, A. Aydin, C. Huseyin, F. Gokhan, S. Ahmet, E. S. Hasan and E. Guray. 2017.** The effects of in ovo pollen extract injection on growth parameters, ileal histomorphology and caecal microflora in fasted broiler chicks. *Indian J. Anim. Res.*, Print ISSN : 0367-6722 / Online ISSN: 0976-0555.
- 18- **Cheng , Y. , C. Yueping, L. Jun, Q. Hengman, Z. Yurui, W. Cha and Z. Yanmin .2019.** Dietary β -sitosterol improves growth performance, meat quality, antioxidant status, and mitochondrial biogenesis of breast muscle in broilers. *animals* , 9, 71; doi : 10.3390/ www.mdpi.com/journal/animals.
- 19- **Cicero , A. F., A. Fiorito, M. P. Panourgia and Z. Sangiorgi, A. Gaddi. 2002.** Effects of a new soy/beta-sitosterol supplement on plasma lipids in moderately hypercholesterolemic subjects. *Journal of the American Dietetic Association*, 102 : 1807–1811.
- 20- **De Brabander , H. F. , S. Poelmans , R. Schilt , R. W. Stephany , B. Le Bizec , R. Draiscik , S. S. Sterk , L. A. van Ginkel , D. Courtheyn , N. Van Hoof , A. Macri and K. De Wasch .2004.** Presence and metabolism of the anabolic steroid boldenone in various animal species. A review. *Food Additives and Contaminants* , Vol. 21, No. 6 : pp. 515–525.
- 21- **Dounighi . N. , R. Eskandari , M. R. Avadi , H. Zolfagharian , S. A. Mohammad and M. Rezayat. 2012.** Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing mesobuthus eupeus scorpion venom as an antigen delivery system. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, volume 18/ issue 1/pages 44-52.
- 22- **Duncan, B.D. 1955 .**Multiple range and multiple F test. *Biometrics* , 11: 1-24.
- 23- **Elks , J. 2014.** The Dictionary of Drugs: Chemical Data: Chemical Data, Structures and Bibliographies. Springer, pp. 640.
- 24- **Elmajdoub , A., A. Garbaj, S. Abolghait and A. El-Mahmoudy.2016.** Evaluation of boldenone as a growth promoter in broilers: safety and meat quality aspects. Article in *Journal of Food and Drug Analysis*. <https://www.researchgate.net> .
- 25- **Ghadi , A. , S. Mahjoub, F. Tabandeh and F. Talebnia. 2014.** Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles: potential applications in nanomedicine and biomedical engineering. *Caspian Journal International Medicine*, Summer, 5 (3) :156-61.
- 26- **Gupta , R. , A. K. Sharma , M. P. Dobhal , M. C. Sharma and R. S. Gupta .2011.** Antidiabetic and antioxidant potential of β -sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. *Journal Diabetes*, 3:29.37.
- 27- **Hassan, A. M. 2018.** Effect of in ovo injection with nano- selenium or nano- zinc on post-hatch growth performance and physiological traits of broiler chicks. *International Journal of Eenvironment Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*. Vol-3, Issue-2. ISSN: 2456-1878.
- 28- **Hu, F. B. and W. C. Willett .2002.** Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *Journal American Medicine Association* 288(20) : 2569–78 .
- 29- **Kamal , S. and H. Said .2006.** Boldenone undecylenate as growth promoting agent in poultry. thesis presented to the graduate Alexandria university of master of veterinary medicine .
- 30- **Kaur, S. P., R. Rao, A. Hussain and S. Khatkar .2011.** Preparation and characterization of rivastigmine loaded chitosan nanoparticles. *Journal Pharmacy Science & Research* Vol. 3(5) :1227-1232.
- 31- **Kiruthiga , N. and Sekar, D. S .2014.** studies on phytochemicals and steroid isolation from N-hexan extract of *Anisochilus carnosus* L. *International journal of advanced Biotechnology and research (IJBR)*, Vol 5: pp337-345.
- 32- **Kim, K. A., I. A Lee, W. Gu, S. R. Hyam, D. H. Kim .2014.** β -sitosterol attenuates high-fat diet-induced intestinal inflammation in mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to toll-like receptor 4 in the NF- κ B pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58:963–972
- 33- **Kocamis , H. , Y. N. Yeni, D. C. Kirkpatrick–keller and J. Killefer. 1999 .** Postnatal growth of broiler in response to in ovo administration of chicken growth hormone .*poult.Sci.*78:1219-1226.

- 34- **Mohammed, M. A., T. M. S. Jaweria, M. W. Kishor and K. W. Ellen .2017.** An overview of chitosan nanoparticles and Its application in non-parenteral drug delivery. Review; Pharmaceutics, 9: 53.
- 35- **Naji, A. A. T., A. Issoufou, A. Shabbar, Z. Rui-Ying, S. Yong-Hui and L. Guo-Wei .2013.** Phytosterol supplementation improves antioxidant enzymes status and broiler meat quality. Pakistan Journal Food Science, 23(4) : 163-171.
- 36- **Naji, T. A. A., A. Issoufou, Z. Rui-Ying, T. Xue, S. Yong-Hui and L. Guo-Wei.2014.** Effects of phytosterol in feed on growth and related gene expression in muscles of broiler chickens . Tropical Journal of Pharmaceutical Research January.13(1) :9-16.
- 37- **Neamat-Allah, A. N. 2014.** Effect of boldenone undecylenate on haematological and biochemical parameters in veal calves Global Veterinaria, 13 : pp. 1092-1096.
- 38- **Orlov, M. V .1987.** Biological Control in Incubation, 3rd ed. Moschow, Russcellezgat .
- 39- **Patric, P., C. Joshua, C. Valli and V. Balakrishnan .2016.** Effect of in ovo supplementation of nano forms of zinc, copper, and selenium on post-hatch performance of broiler chicken. India Corresponding author 34: 551-563.
- 40- **Pawar, S. S., M. G. Jadhav and T. G. Deokar .2016.** Study of Phytochemical Screening, Physicochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Bacopa monnieri* (L.) Extracts. Research Article. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 8 (8) : 1222-1229.
- 41- **Pineda, L., A. Chwalibog, E. Sawosz, A. Hotowy, J. Elnif and F. Sawosz .2012.** Investigating the Effect of In ovo injection of silver nanoparticles on fat uptake and development in broiler and layer hatchlings. Journal Of Nanotechnology.vol. 2012:7 pages .
- 42- **Scarth, J., C. Akre, L. VanGinkel, B. Le Bizec, H. De Brabander, W. Korth, J. Points, P. Teale and J. Kay .2009.** Presence and metabolism of endogenous androgenic-anabolic steroid hormones in meat-producing animals: a review Food Addit Contam, 26 : pp. 640-67.
- 43- **Sokale, A. O., Williams C. J., Cummings T. S., Gerard P. D., Bello A., Peebles E. D. 2018.** Effects of in ovo injection of different doses of coccidiosis vaccine and turn-out times on broiler performance. Poultry science, 1;97(6):1891-1898.
- 44- **Subashr, B. and Y. K. P. Justin. 2014.** A comparative study of antioxidant activity of *Baccopa monnieri* (L.) Pennell using various solvent extracts and its GC-MS analysis. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; 6(2): 494-498.
- 45- **Wagner, H. and S. Bladt . 2009.** Plant drug analysis . Second edition . springer .
- 46- **Wang, G. and S. A. Scott .2008.** Retinoid signaling is involved in governing the waiting period for axons in chick limb. Developmental Biology,(321):216-226.
- 47- **William, L. .2011.** Anabolics. Molecular Nutrition. Book, Llc. pp.483-490.
- 48- **Xing, L. H. and M. L. Wai .2017.** Dietary plant sterols supplementation increases in vivo nitrite and nitrate production in healthy adults: A randomized, controlled study . Journal of Food Science ,Vol. 82: Nr. 7 .
- 49- **Xu, Y. and Y. Du . 2003.** Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. International Journal of Pharmaceutics, 250: 215–226.