دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول بر تغییر جنسیت و ساختار ماهیچه‌ای جوجه‌های گوشتی

علی حیدری هادی بیگلو[۱]، بهمن نویدشاد[۲]، سعید نیک بین[۳] و فرزاد میرزائی آقجه قشلاق[۴]

۱، ۳ و ۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی (نویسنده مسوول: bnavidshad@uma.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۸

چکیده

در این مطالعه تعداد ۲۵۲ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار تولیدی از گله مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ به سه گروه تیماری تقسیم شده و در ابتدای روز پنجم جوجه کشی، از محل کیسه هوایی مورد تزریق داخل تخم‌مرغی با ۰/۱ میلی‌گرم از عصاره چای سبز، هیدروکلراید فدرازول و یا آب مقطر قرار گرفتند. جوجه‌های هچ شده بر اساس گروه‌بندی تیمارهای ذکر شده برای دوره جوجه‌کشی، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ٦ تکرار (۱۲-۱٤ جوجه در هر تکرار) به مدت ٤۲ روز پرورش یافتند. تزریق ۰/۱ میلی‌گرم داروی هیدروکلراید فدرازول و عصاره چای سبز به ترتیب باعث ایجاد ۱۰۰ و ۸۰ درصد تغییر جنسیت ماده به نر شد (p≤۰/۰۵). در کل دوره پرورش جوجه‌های حاصل از تیمار تزریق داخل تخم‌مرغی هیدرو کلراید فدرازول و عصاره چای سبز، خوراک مصرفی روزانه و افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند (p≤۰/۰۵) تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز باعث افزایش معنی‌داری میانگین تعداد رشته‌های عضلانی و میانگین قطر رشته‌های عضلانی نسبت به سایر تیمارها شد (p≤۰/۰۵) یافته‌های این مطالعه پیشنهاد می‌نماید که تغییر جنسیت جوجه‌های گوشتی با استفاده از آنتی‌آروماتاز هیدرو کلراید فدرازول و عصاره چای سبز باعث افزایش سرعت رشد جوجه‌های گوشتی شود. همچنین عصاره چای سبز احتمالاً دارای خاصیت آنتی آروماتازی بالایی بوده و می‌تواند جایگزین خوبی برای داروهای شیمیایی مانند هیدروکلراید فدرازول باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌آروماتاز، تغییر جنسیت، جوجه گوشتی، عصاره چای سبز، هیدروکلراید فدرازول

مقدمه

ژنوتیپ جنین در تخم بارور ماهیت غدد جنسی را تعیین می‌کند که منجر به تکامل فنوتیپ نر یا ماده می‌شود (۲۲). تغییر نسبت‌های جنسی در صنعت پرورش طیور برای ایجاد مرغ‌های تخمگذار و یا طیور گوشتی نر مزایای اقتصادی زیادی دارد. از جمله آن می‌توان به رشد سریعتر و ضریب تبدیل بهتر در جوجه خروس‌ها نسبت به جوجه مرغ‌ها اشاره کرد (۳،۲). تمایز فنوتیپی جنسیت جنین مرغ نتیجه بیان آنزیم آروماتاز در گناد سمت چپ در ۶/۵ روزگی دوره جنینی و تولید استروژن از تستسترون است (۲۶،۲۵،۲۰،۱۰).

اثرات آنتی‌آروماتازی برخی ترکیبات سنتتیک نظیر آترازین[۱] و ایمازالیل[۲] (۱۳)، فدرازول و آندرواستوتریون (۱۷) و فدرازول و فاکتور رشد شبه انسولین (۱۴) گزارش شده است. منظور از آنتی‌آروماتازهای غیرسنتزی، آنتی‌آروماتازهای طبیعی هستند که به صورت ساختارهای بیوشیمیایی در قارچ‌ها، سبزی‌ها و میوه‌ها و سایر گیاهان وجود دارند. فلاونوئیدها از جمله ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌آروماتازی هستند که به وفور می‌توان آنها را در گیاهان یافت (۲۳،۹).

فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک هستند که پراکندگی گسترده‌ای در گیاهان داشته و دارای یک سری فعالیت‌های بیولوژیکی در غلظت‌های غیرسمی خود در موجودات زنده هستند. هر کدام از این ترکیبات فلاونوئیدی بر یک یا چند سیستم آنزیمی، اثر تنظیمی دارند. آپیجین، کریزین و کمپفرول از جمله ترکیبات فلاونوئیدی هستند که بر آنزیم آروماتاز موثرند (۲۴). با تزریق ۱ میلی‌گرم عصاره سیر حاوی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین در محل سفیده تخم‌مرغ در روز پنجم انکوباسیون ۷۲ درصد برگشتگی جنسی در جوجه‌ها ایجاد شد (۱۴). در حالی‌که طی مطالعه‌ای دیگر با تزریق ۰/۱ میلی‌گرم از همین عصاره با زمان و مکان تزریقی مشابه، ۸۰/۴۳ درصد برگشتگی جنسی ایجاد شد (۱۵). در یک تحقیق با تزریق ۰/۱ میلی‌گرم عصاره گوجه‌فرنگی در روز پنجم انکوباسیون در محل سفیده تخم‌مرغ ۷۰/۹۷ درصد برگشتگی جنسی در جوجه‌ها ایجاد شد (۱۶). عصاره گوجه‌فرنگی حاوی رنگدانه‌ای محلول در چربی به نام لیکوپن است که جزء خانواده‌ی کارتنوئیدها طبقه‌بندی می‌شود. اثر تزریق درون تخم‌مرغی ترکیبات سیب و گوجه فرنگی بر تغییر جنسیت جنین تخم‌مرغ‌های بارور نیز گزارش شده است (۹). در تحقیقی با عصاره گرده کاج، نشان داده شد که تزریق درون تخم‌مرغی عصاره اثری بر برگشتگی جنسیت نداشته اما منجر به افزایش بیان ژن‌های هورمون‌های رشد شبه انسولینی نوع ۱ و ۲ شد (۱۸).

چای یک بوته همیشه سبز از خانواده *Theaceae* است. نوع فرآوری تعیین‌کننده محصول نهایی چای تحت عناوین چای سیاه و یا چای سبز است. برگ چای منبع ترکیبات پلی‌فنل است، برگ‌های چای سبز حاوی فلاونوئیدها و علاوه بر آن اسیدهای فنولیک هستند که ممکن است تا ۳۰٪ وزن خشک برگ‌های تازه را تشکیل دهد، اما آنها تنها ۱۰٪ وزن خشک چای سیاه را تشکیل می‌دهند. مهم‌ترین گروه‌های پلی‌فنل‌های چای موادی هستند که هنوز به طور واحد نام‌گذاری نشده‌اند (۴). تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر

1- Atrazine
2- Imazalil

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]
[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

آنتی‌آروماتازی عصاره چای سبز در تخم‌مرغ‌های بارور گله مرغ مادر گوشتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره چای سبز

برای تهیه عصاره چای سبز از روش خیساندن استفاده شد. ۴۵۰ گرم گیاه خشک چای سبز با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی با قطر الک ۱ میلی‌متری خرد شد، سپس چای سبز خرد شده در یک ظرف شیشه‌ای ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۵۰ درصد اضافه شد، به طوری‌که تمام سطح چای سبز خرد شده را پوشاند. برای جلوگیری از نفوذ نور به داخل محتویات ظرف، ظرف شیشه‌ای توسط فویل آلومینیومی پیچانده شد و پس از بهم زدن کامل مخلوط پودر چای سبز و الکل (جهت خیسانده شدن کامل پودر چای سبز) به مدت ۷۲ ساعت در دمای معمولی اتاق قرار گرفت، در این مدت روزانه حداقل یک نوبت مخلوط گیاهی با استفاده از یک میله به‌هم‌زده شد تا مخلوط به‌طور یکنواخت و کامل خیس شود. بعد از گذشت ۷۲ ساعت تصفیه مخلوط چای سبز و الکل انجام گرفت. برای تصفیه اولیه ابتدا مخلوط از یک توری عبور داده شد، به طوری‌که مواد محلول از تفاله آن جدا شد و بعد از آن برای به‌دست آوردن یک محلول عاری از مواد نامحلول سه مرتبه متوالی از کاغذ صافی (یک مرتبه با استفاده از کاغذ معمولی و دو مرتبه با استفاده از کاغذ صافی واتمن) عبور داده شد. بعد از این مرحله یک محلول به رنگ تیره بدست آمد. بعد از عبور دادن عصاره از کاغذ صافی، اقدام به تغلیظ با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء شد به طوری‌که هر سی‌سی از عصاره چای سبز حاوی ۰/۷۰۶ گرم ماده خشک بود.

تزریق داخل تخم‌مرغ

برای تعیین بهترین غلظت تزریق عصاره چای سبز قبل از انجام تحقیق یک آزمایش مقدماتی طراحی شد. غلظت مناسب تزریق تعیین شد. برای هر یک از تیمارها تعداد ۱۵ عدد تخم‌مرغ تخصیص داده شد و تمامی تزریق‌ها در انتهای پهن تخم‌مرغ و داخل کیسه هوایی در روز پنجم انکوبسیون انجام گرفت. رقیق کردن عصاره‌ها بر اساس مقادیر ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم ماده خشک عصاره چای سبز در ۰/۱ سی‌سی آب مقطر انجام گرفت. پس از ۲۱ روز دوره جوجه‌کشی درصد جوجه‌درآوری تخم‌مرغ‌های شاهد تزریق شده با ۰/۱ سی‌سی آب مقطر و تخم‌مرغ‌های شاهد بدون تزریق به ترتیب ۸۰ و ۸۶ درصد بود و در مورد سطوح ذکر شده عصاره تزریق شده درصد جوجه‌درآوری به‌ترتیب ۸۰، ۸۲، ۷۸، ۶۰ و ۵۰ درصد تعیین شد. این نتایج نشان داد تزریق بیش از ۵۰۰ میکروگرم عصاره چای سبز باعث کاهش درصد جوجه‌درآوری می‌شود و بر این اساس سطح ۵۰۰ میکروگرم جهت استفاده در آزمایش اصلی انتخاب شد تا بیشترین میزان ماده موثره در تزریق به کار رود.

در آزمایش اصلی تعداد ۲۵۲ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار تولیدی از مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ به سه گروه تیماری (هر گروه شامل ۸۴ عدد تخم‌مرغ) تقسیم و پس از شماره‌گذاری و اندازه‌گیری وزن تخم‌مرغ‌ها در هر گروه، در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. در ابتدای روز پنجم انکوباسیون (قبل از تمایز گنادها) عملیات تزریق انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: ۱- داروی هیدرو کلراید فدرازول به مقدار ppm ۱۰۰ در ۰/۱ سی‌سی (که با اضافه کردن آب مقطر به ویال حاوی ۱۰ میلی‌گرم فدرازول بدست آمد) ۲- عصاره چای سبز حاوی ۵۰۰ میکروگرم ماده خشک در ۰/۱ سی‌سی ۳- گروه شاهد با تزریق ۰/۱ سی‌سی آب مقطر.

ابتدا محل تزریق (انتهای پهن تخم‌مرغ) بوسیله الکل اتیلک ضدعفونی شد، سپس با استفاده از سوراخ کن، در پوسته تخم‌مرغ منفذ کوچکی ایجاد و با استفاده از سرنگ انسولین مواد تزریقی در مقادیر مورد نظر تزریق و بلافاصله منفذ پوسته تخم‌مرغ با پارافین مسدود شد. پس از عملیات تزریق تخم‌مرغ‌ها سریعاً به دستگاه جوجه‌کشی انتقال داده شدند (۲). دما، رطوبت و چرخش تخم‌مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی در دوره ستر (۱۸ روز اول انکوباسیون) و دوره هچر (۳ روز آخر انکوباسیون) بر اساس کاتالوگ دستگاه جوجه‌کشی تنظیم شد. دوره ستری: دما= ۳۷/۸°C، رطوبت= ۶۰ درصد، چرخش در هر ساعت ۱۸۰ درجه، دوره هچر: دما= ۳۷/۲°C، رطوبت= ۶۵ درصد، بدون چرخش، پس از اتمام انکوباسیون در پایان روز ۲۱ جوجه‌های هچ شده ابتدا بر اساس گروه‌بندی‌های انجام شده وزن‌کشی و پس از تعیین جنسیت از روی میزان رشد پرها به سالن پرورش انتقال یافتند. تعیین جنسیت از روی پر انجام گرفت، زیرا از لحاظ فنوتیپی جوجه خروس‌های ژنوتیپی سویه راس ۳۰۸ دارای پرهای اولیه کوتاه در ناحیه بال نسبت به جوجه مرغ‌ها هستند. جنسیت پرنده‌ها در انتهای دوره با بررسی صفات ثانویه جنسی و نیز مشاهده تغییر شکل گنادهای جنسی در پرندگان کشتار شده تعیین شد و موارد تغییر جنسیت بر اساس درصد تعیین شد.

آزمایش دوره پرورش جوجه‌های گوشتی بر اساس گروه‌بندی تیماری دوره جوجه‌کشی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۶ تکرار و هر تکرار شامل تعداد تقریبی ۱۴-۱۲ عدد جوجه گوشتی (به دلیل تفاوت جزئی در درصد جوجه درآوری) انجام گرفت و ۶ قطعه جوجه در هر تکرار انجام گرفت. جیره‌های مورد استفاده در تمامی تیمارها یکسان بوده و برای سه دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) و با توجه به احتیاجات غذایی جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ بر اساس کاتالوگ و با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA[1] تنظیم شد. اجزای تشکیل دهند جیره و آنالیز شیمیایی آن در جدول ۱ ارائه شده است.

1- Windows User-Friendly Feed Formulation for Poultry and Swine

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

جدول ۱- ترکیب جیره غذایی و آنالیز شیمیایی آنها

Table 1. The composition of the diets and their chemical analysis

اجزای جیره	مقادیر (درصد)		
	آغازین (صفر تا ۱۰ روزگی)	رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۴۲/۳۳	۵۰/۸۶	۵۴/۱۱
کنجاله سویا	۴۸/۵۲	۳۹/۳۴	۳۵/۳۱
روغن سویا	۴/۶۷	۵/۷۱	۶/۶۴
دی کلسیم فسفات	۱/۸۷	۱/۷۲	۱/۶۵
کربنات کلسیم	۱/۱	۱	۰/۹۳
مکمل معدنی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینه[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی-ال-متیونین	۰/۳۷	۰/۳۱	۰/۳
ال-لیزین	۰/۲۳	۰/۱۵	۰/۱۵
نمک	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
سالینومایسین ۱۲٪	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
آنالیز شیمیایی			
انرژی قابل متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۱۰۰	۳۲۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۳	۲۱/۵	۲۰
کلسیم (٪)	۰/۹۸	۰/۹	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۴۳
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
لیزین (٪)	۱/۴۴	۱/۳	۱/۲
متیونین (٪)	۰/۷۱	۰/۶	۰/۶۱
متیونین + سیستین (٪)	۱/۰۸	۰/۹۹	۰/۹۴

در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر تامین می‌شود:

۱- ویتامین A: ۱۸۰۰۰UI، ویتامین D3: ۴۰۰۰ IU، ویتامین E: ۷۲ میلی‌گرم، ویتامین K3 : ۴ میلی‌گرم، ویتامین B1: ۳/۵۵ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۵۹/۴ میلی‌گرم، ویتامین B6: ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B9: ۲میلی‌گرم، ویتامین B12: ۰/۰۳ میلی‌گرم، کولین کلراید: ۱ گرم.

۲- Mn ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، Zn: ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، Fe: ۱۰۰ میلی‌گرم، Cu: ۲۰ میلی‌گرم، I: ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و Se: ۰/۴ میلی‌گرم.

میزان مصرف خوراک، افزایش روزانه و ضریب تبدیل غذایی در هر گروه در پایان دوره‌های آغازین، رشد و پایانی پس از ۶ ساعت گرسنگی جهت تخلیه دستگاه گوارش اندازه‌گیری شد و بر اساس تلفات هر گروه تصحیح گردید. در روز ۴۲ پرورش، تعداد ۲ قطعه از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شد و به منظور سنجش گلبول‌های سفید از ورید بال چپ خونگیری شد. نمونه‌های خون به مقدار ۱ سی‌سی در لوله آزمایش حاوی EDTA ریخته شد و بلافاصله در یخچال نگهداری شدند و شمارش تفریقی لکوسیت‌ها انجام شد (۵). به منظور مطالعه میکروسکوپی بافت عضله سینه، ۲ پرنده از هر تکرار انتخاب گردیدند و رویه انتخاب، ماده بودن جنسیت بر اساس تعیین جنسیت انجام گرفته در یک روزگی، نشان دادن صفات ثانویه جنسی طی دوره رشد (در مورد گروه‌های تزریق شده با عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول) و تایید تغییرات غدد جنسی پس از کالبد گشایی در ۴۲ روزرگی بود. پس از فیکس شدن نمونه‌ها در فرمالین بافری ۱۰٪، آب‌گیری توسط درجات صعودی، شفاف سازی توسط زایلل، غوطه‌وری در پارافین و نهایتاً قالب‌گیری به روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۶-۵ میکرومتر تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین و تری-کروماسون رنگ‌آمیزی و مورد مطالعه هیستومورفومتری قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی تری‌کروماسون به‌منظور مطالعه بافت همبندی و محتوای رشته‌های کلاژن بین دستجات و رشته‌های عضلانی انجام گرفت. در بررسی میکرومتری با استفاده از میکروسکوپ نوری و لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم‌افزار Dino Capture 2، شمارش تعداد رشته‌های عضلانی در مقیاس ثابت (دایره‌ای با قطر ۱۰۰میکرومتر) و قطر رشته‌های عضلانی نیز برحسب میکرومتر در ۱۰ زمینه از هر مقطع بافتی لام برای هر گروه اندازه‌گیری شدند (۱۷).

آزمون کای اسکوئر برای میزان تغییر جنسیت ماده به نر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌داری استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با استفاده از رویه GLM، توسط نرم‌افزار آماری SAS, 9.03 انجام گرفت (۱۹). میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان برگشتگی جنسی ماده به نر در جدول ۲ آورده شده است. تاثیر

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

تزریق درون تخم‌مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدارازول بر درصد برگشتگی جنسی ماده به نر در جوجه‌های گوشتی معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). تزریق ۰/۱ میلی‌گرم داروی هیدروکلراید فدرازول باعث ۱۰۰ درصد برگشتگی جنس ماده به نر شد. عصاره چای سبز نیز باعث ایجاد ۸۰ درصد تغییر جنسیت مرغ به خروس گردید. مطالعه حاضر بر اساس یافته‌های قبلی در مورد خاصیت آنتی آروماتازی چای سبز صورت گرفت و نتایج حاصله نیز با تحقیقات انجام شده قبلی در مورد خاصیت آنتی‌آروماتازی چای سبز مطابقت داشت، به طوری که ۸۰ درصد تغییر جنسیت مشاهده شده در جنین تخم‌مرغ‌هایی که مورد تزریق عصاره چای سبز قرار گرفتند تاییدکننده اثر آنتی‌آروماتازی قابل توجه چای سبز است. با توجه به یافته‌های این پژوهش و نتایج به‌دست آمده از تحقیقات پیشین (۱۶،۱۳)، تزریق داخل تخم‌مرغی آنتی‌آروماتازها قبل از آغاز تمایز جنسیت جنین در سن ۵ روزگی جنینی در دوره انکوباسیون با مهار آنزیم آروماتاز از تکوین تخمدان در جنین ماده جلوگیری کرده و باعث ایجاد بیضه در جنین ماده شد (۱۶).

سطح هورمون‌های استروئیدی به وسیله مهار آنزیم آروماتاز تنظیم می‌شود. این آنزیم آخرین مرحله مسیر بیوسنتز استروئیدهای جنسی را کاتالیز و آندروژن را به استروژن تبدیل می‌کند (۲۲). در پرندگان استروئیدهای جنسی و همچنین هورمون آنتی مولارین به طور طبیعی در تمایز جنسیت دخالت داشته و آندروژن و استروژن به ترتیب روی تولید جنس نر و ماده موثر هستند. به این ترتیب تجویز یک ممانعت‌کننده‌ی آروماتازی باعث رشد بیضه در جنس ماده ژنتیکی شده و تجویز استروژن منجر به تولید تخمدان بیضه‌ای چپ، در جنین جنس نر ژنتیکی می‌شود. بنابراین می‌توان در مراحل اولیه رشد جنینی با تغییر نسبت هورمون‌های جنسی، تمایز جنسی را تحت تأثیر قرار داد (۲۰،۱۹،۹).

جدول ۲- اثر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدارازول بر درصد برگشتگی جنسی ماده به نر در جوجه‌ها

Table 2. Effect of in ovo injection of green tea extract and fadrozole hydrochloride on sex reversion of female to male in chicks

متغیر	شاهد	عصاره چای سبز	فدرازول	SEM	P Value
درصد برگشتگی جنسی (ماده به نر)	۰/۰۰^{c}	۸۰/۰۰^{b}	۱۰۰/۰۰^{a}	۰/۱۵۴	۰/۰۱

c,b,a : در هر ردیف میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p≤۰/۰۵).
SEM: میانگین خطای استاندارد

تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز و داروی فدرازول بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی و مقایسه آن با تیمار شاهد در جدول ۳ ارائه شده است. مصرف خوراک در دوره های آغازین و رشد تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما در دوره پایانی و نیز کل دوره پرورش تیمارهای تحت تزریق فدرازول و عصاره چای سبز مصرف خوراک بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند (p≤۰/۰۵). میانگین افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما در دوره رشد تیمار فدرازول نسبت به تیمار شاهد افزایش وزن بیشتری داشت (p≤۰/۰۵) و در دوره پایانی و نیز کل دوره پرورش تیمارهای فدرازول و عصاره چای سبز افزایش وزن بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند (p≤۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در هیچ یک از مراحل آزمایش تحت تاثیر نوع تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

بر اساس یافته‌های این تحقیق تفاوت معنی‌داری از نظر خوراک مصرفی و افزایش وزن بدن روزانه بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول در مقایسه با گروه شاهد در دوره‌های مختلف پرورشی وجود داشت که با افزایش سن پرنده تفاوت‌ها بارزتر بود. این مشاهده موید تفاوت مصرف خوراک و سرعت رشد بین جوجه‌های گوشتی جنس نر و ماده بود (۱). گزارش شده است که اختلاف معنی‌داری در افزایش وزن و خوراک مصرفی بین جنس نر و ماده وجود دارد (۱۱). برتری جوجه‌های گوشتی نر نسبت به ماده از لحاظ وزن بدن ۲۰ درصد در ۵۶ روزگی گزارش شده است (۷). در تحقیقی دیگر تزریق داخل تخم‌مرغی فدرازول به همراه فاکتور رشد باعث تفاوت معنی‌دار در افزایش وزن بدن در سن ۲۱ روزگی شد، میزان خوراک مصرفی و وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ولی بر روی ضریب تبدیل غذایی تاثیر معنی‌داری نداشت (۱۳)، اما در آزمایشی دیگر، تزریق فدرازول باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و وزن زنده بیشتر نسبت به گروه شاهد شد (۱۶).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

جدول ۳- اثر تزریق درون تخم مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدارازول بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی
Table 3. Effect of in ovo injection of green tea extract and fadrozole hydrochloride on the performace traits of broiler chicks

متغییر	شاهد	عصاره چای	فدرازول	SEM	P Value
خوراک مصرف (روز/ پرنده/ گرم)					
دوره آغازین	۲۷/۴۹	۲۷/۷۷	۲۸/۰۷	۰/۸۱۰	۰/۹۴۳
دوره رشد	۷۵/۱۸	۸۱/۲۹	۸۲/۱۹	۲/۱۱۵	۰/۱۰۵
دوره پایانی	۱۵۲/۵۵^{b}	۱۶۷/۶۱^{a}	۱۷۲/۱۲^{a}	۴/۰۲۶	۰/۰۱۴
کل دوره	۹۶/۹۸^{b}	۱۰۵/۵۴^{a}	۱۰۷/۰۰^{a}	۱/۹۸۸	۰/۰۰۶
افزایش وزن روزانه (روز/ پرنده/ گرم)					
دوره آغازین	۱۸/۸۳	۱۹/۱۳	۱۹/۶۹	۰/۵۹۵	۰/۷۴۹
دوره رشد	۴۷/۹۲^{b}	۵۲/۰۶^{ab}	۵۴/۱۳^{a}	۱/۶۲۱	۰/۰۳۴
دوره پایانی	۸۱/۳۷^{b}	۹۲/۰۸^{a}	۹۴/۶۵^{a}	۲/۷۹۱	۰/۰۱۷
کل دوره	۵۵/۳۳^{b}	۶۱/۳۷^{a}	۶۲/۸۸^{a}	۱/۳۹۷	۰/۰۰۴
ضریب تبدیل غذایی					
دوره آغازین	۱/۴۷	۱/۴۵	۱/۴۲	۰/۰۳۶	۰/۶۷۳
دوره رشد	۱/۵۷	۱/۵۶	۱/۵۲	۰/۰۲۹	۰/۱۳۴
دوره پایانی	۱/۸۷	۱/۸۳	۱/۸۲	۰/۰۳۳	۰/۶۷۵
کل دوره	۱/۷۵	۱/۷۲	۱/۷۰	۰/۰۲۲	۰/۴۶۲

c,b,a : در هر ردیف میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($p\leq$۰/۰۵).
SEM: میانگین خطای استاندارد

تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدارازول اثری بر گلبول‌های سفید خون و نیز درصد هماتوکریت خون جوجه‌های گوشتی ایجاد نکرد (جدول ۴). اگرچه شمارش گلبول‌های سفید به عنوان شاخصی از عملکرد سیستم ایمنی انجام گرفت و به دلیل ماهیت آزمایش و سطح پایین تزریق عصاره چای سبز عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار دور از ذهن نبود، اما به دلیل درصد هماتوکریت بیشتر در خون مهره‌داران نر در مقایسه با ماده، مشاهده تغییر این پارامتر در اثر تزریق ترکیبات آنتی‌آروماتاز می‌توانست نتیجه‌ای قابل توجه باشد که البته تفاوت‌های مشاهده شده معنی‌دار نبودند.

جدول ۴- تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدارازول بر گلبول‌های سفید خون جوجه‌های گوشتی
Table 4. Effect of in ovo injection of green tea extract and fadrozole hydrochloride on white bood cells of broiler chicks

متغییر	درصد هتروفیل	درصد لنفوسیت	درصد مونوسیت	درصد هماتوکریت
شاهد	۲۴/۱۴	۷۳/۱۴	۲/۷۱	۳۱/۹۷۱
عصاره چای سبز	۲۹/۵۰	۶۷/۶۲	۲/۸۷	۳۲/۲۲۵
فدرازول	۲۷/۱۷	۶۹/۲۳	۳/۵۰	۲۹/۲۴۰
SEM	۲/۵۸۴	۳/۴۰۰	۰/۷۱۹	۱/۳۳۸
P Value	۰/۵۳۲	۰/۵۳۷	۰/۶۲۳	۰/۴۴۰

SEM: میانگین خطای استاندارد

تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول بر تعداد رشته‌های عضلانی در مقیاس ثابت (دایره‌ای با قطر ۱۰۰ میکرومتر) و قطر رشته‌ای عضلانی برحسب میکرومتر در جدول ۵ نشان داده شده است. تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز باعث افزایش معنی‌دار میانگین تعداد و میانگین قطر رشته‌های عضلانی نسبت به سایر تیمار شاهد و نیز تیمار فدرازول شد ($p\leq$۰/۰۵). سویه‌های تجاری جوجه‌های گوشتی امروزی نتیجه برنامه‌های انتخاب و اصلاح نژاد برای صفات سرعت رشد با تاکید بر اجزای با ارزش لاشه به ویژه عضله سینه هستند (۶). از آنجا که عضله سینه با ارزش‌ترین بخش لاشه مرغ گوشتی محسوب می‌شود هر میزان بهبود در افزایش این بخش با افزایش قابل توجهی در راندمان اقتصادی تولید همراه خواهد بود. اگر تغییرات ژنتیکی در ماهیچه سینه تولیدی در جوجه‌های گوشتی حاصل تعداد و اندازه سلول‌های ماهیچه‌ای یا میوفیبریل‌ها باشد، یک شیوه برای افزایش بافت ماهیچه سینه می‌تواند افزایش تعداد این میوفیبرل‌ها باشد (۶). در حقیقت نشان داده شده است که وزن بدون چربی بدن حیوانات به تعداد میوفیبریل‌ها در ماهیچه‌ها بستگی دارد (۶). جوجه‌های گوشتی از سویه‌های با رشد سریع ۱۵ تا ۲۰ درصد

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]
[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

میوفیبریل بیشتری در مقایسه با جوجه‌های از نژادهای با رشد کند دارند (۱۷). با توجه به تفاوت در خصوصیات میوفیبریل‌های عضلانی بین جنس نر و ماده، این ویژگی را می‌توان به عنوان یکی از صفات ثانویه جنسی طبقه‌بندی نمود و اثر تزریق عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول بر این صفات اگر چه کاملاً در توافق با اثرات مشاهده شده در مورد برگشتگی جنس و نیز صفات تولیدی نبود، اما تفاوت‌های مشاهده شده در اثر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره چای سبز در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار بوده و نیازمند بررسی بیشتر است.

جدول ۵- تاثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره چای سبز و هیدروکلراید فدرازول بر تعداد رشته‌های عضلانی و قطر رشته‌ای عضلانی

Table 5. Effect of in ovo injection of green tea extract and fadrozole hydrochloride on the number of muscle fibers and muscle fiber diameter in broiler chicks

	میانگین تعداد رشته‌های عضلانی (دایره‌ای با قطر ۱۰۰میکرومتر)	میانگین قطر رشته‌های عضلانی (میکرومتر)
شاهد	۱۶/۱۰^{b}	۸/۶۹^{b}
عصاره چای سبز	۲۰/۹۳^{a}	۱۳/۳۹^{a}
هیدروکلراید فدرازول	۱۶/۰۹^{b}	۸/۶۰^{b}
SEM	۰/۳۰۴	۰/۳۳۸
P Value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

b,a : در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p≤۰/۰۵).
SEM: میانگین خطای استاندارد.

تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از تزریق درون تخم‌مرغی عصاره چای سبز به عنوان یک ترکیب طبیعی آنتی‌آروماتاز قادر است به میزان قابل توجهی باعث برگشتی جنسیت جنین‌های ماده به نر در تخم‌مرغ‌های بارور گله مرغ مادر گوشتی شود. از این نظر میزان تغییر جنسیت مشاهده شده تا حد زیادی قابل مقایسه با داروی فدرازول بود. علاوه بر بروز صفات ثانویه جنسی و تغییرات آناتومیکی غدد جنسی که در سن ۴۲ روزگی تعیین گردید، بهبود صفات تولیدی و نیز تغییر در ساختار فیبرهای عضلانی نیز تاییدکننده بروز تغییرات مبتنی بر برگشتگی جنسیت از ماده به نر در جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های تحت تزریق عصاره چای سبز بود.

منابع

1. Aviagen. 2014. ROSS 308 broilerhandbook: Nutrition Spesification. Newbridge, Midlothian EH28 8SZ, Scotland, UK.
2. Bakhshayesh, S., J. Seifdavati, S. Seifzadeh, F. Mirzaei Aghjeh Gheshlagh, H. Abdi Benmar and V. Vahedi. 2018. The Effects of in ovo injection oil-extracted propolis on growth performance and immune status of broilers. Research on Animal Production, 9: 1-7.
3. Catoni, C.H., M.H. Schaefer and A. Peters. 2008. Fruit for health: the effect of flavonoids on humoral immune response and food selection in a frugivorous bird. Functional Ecology, 22: 644- 654.
4. Chacko, S.M., P.T. Thambi, R. Kuttan and I. Nishigaki. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. Chinese Medicine, 5: 13.
5. Dein, F.J. 1982. Avian Clinical Hematology. Procceding of Association of Avian Veterinarians, 1: 5-29.
6. Dwyer, C.M., J.M. Fletcher and N.C. Stickland. 1993. Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. Journal of Animal Science, 71: 3339-3343.
7. Engku, A. 1984. Carcass yield of broilers. MARDI Research Bulltin, 12: 107-15.
8. Fazli, N., A. Hassanabadi, M. Mottaghitalab and H. Hajati. 2015. Manipulation of broiler chickens sex differentiation by in ovo injection of aromatase inhibitors, and garlic and tomato extracts. Poultry Science, 94: 2778-2783.
9. Grove, 1.F. 1981. Volatile compounds from the mycelium of the mushroom Agaricusbisporus. Phytochemistry, 20: 2021-2.
10. Lambeth, L.S., D.M. Cummins, T.J. Doran, A.H. Sinclair and C.A. Smith. 2013. Overexpression of aromatase alone is sufficient for ovarian development in genetically male chicken embryos. PLoS One, 8: e68362.
11. Laseinde, E.A. and J.A. Oluyemi. 1994. Effect of sex separation at the Finisher phase on the comparative growth performance, carcass characteristics and breast muscle development between male and female broiler chicken. Nigerian Journal for Animal Production, 21: 11-18.
12. Matsushita, S., J. Yamashita, T. Iwasa., T. Tomita and M. Ikeda. 2006. Effects of in ovo exposure to Imazalil and Atrazine on sexual differentiation in chick gonads. Poultry Science, 85: 1641-1647.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

13. Mohammadrezaei, M., M. Toghyani, A. Gheisari, M. Toghyani and S. Eghbalsaied. 2014. Synergistic effect of Fadrozole and insulin-like growth factor-I on female-to-male sex reversal and body weight of broiler chicks. PLoS ONE, 9: 103570.
14. Mottaghitalab, M. and E. Valizade. 2002. Garlic extraction and aromatase interaction on sex differension in chicks. Proceeding of WPSA spring meeting. York, DK, 9-10.
15. Mottaghitalab, M., N. Fazli and A. Hassanabadi. 2009. *In-ovo* injection technology: Effects of different aromatase inhibitors on sex differentiation. Journal of the Iranian Chemical Society, 6: 20-72.
16. Mottaghitalab, M. and K. Razani. 2005. Egg treatment with anti-aromatase: Effects on the chicks male: female ratio and their economic performance. Iranian Journal of Agricultural Science, 36: 375-383.
17. Remignon, H., L. Lefaucheur, J.C. Blum and F.H. Ricard.1994. Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. British Poultry Science, 35: 65-76.
18. Sarbozi Farah Abad, A., Z. Ansari-Pirsaraei, P. Biparva and E. Dirandeh. 2018. Effect of in ovo injection of Pine Pollen extract on growth and sex differences of broiler chicks. Research on Animal Production, 8: 66-75.
19. SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide: Release 9.03 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
20. Shimada, K. 1998. Gene expression of steroidogenic enzymes in chicken embryonic gonads. Journal of Experimental Zoology, 281: 450-456.
21. Smith, I.E. 1999. Aromatase inhibitors: a dose-response effect? Endocrine-Related cancer, 6: 245-249.
22. Smith, R.G. and A. Elbrecht. 1992. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. Poultry Science, 255: 467-70.
23. Sumpter, J.P. and A. Fostier. 1996. Effects offlavonoids on aromatase activity an in vitro study. Journal Steroid Biochemistry MolBiol, 57: 215-23.
24. Wenying, R., Q. Zhenhua, W. Hongwei, Z. Lei and Z. Li. 2003. Flavonoids: Promising anticancer agents. Medicinal Research Reviews, 23: 519-534.
25. Wibbels, T. 1992. Steroid hormone–induced male sex determination is anaminiotic vertebrate. Journal of Experimental Zoology, 262: 454-457.
26. Yoshida, K., K. Shimada and N. Saito. 1996. Expression of P450 (17α) hydroxylase and P450 aromatase genes in the chicken gonad before and after sexual differentiation. General and Comparative Endocrinology, 102: 233-240.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]

Eeffect of *in Ovo* Injection of Green Tea Extract and Fadrozole Hydrochloride on Sex Reversal and Muscle Stracture of Broiler Chickens

Ali Heidari Hadibigloo[1], Bahman Navidshad[2], Saeid Nikbin[3] and Frzad Mirzaei Aghjegheshlag[4]

1, 3 and 4- Graduted M.Sc. Stusent, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
2- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
(Corresponding author: bnavidshad@uma.ac.ir)
Received: January 27, 2018 Accepted: September 30, 2018

Abstract

In the present study 252 fertile eggs from Ross 308 strin broiler breeders flock were divided into three experimental group and at 5th day of incubation period were *in ovo* injected into the air cell by 0.1 ml of green tea extract, fadrozole hydrochloride or distilled water. The hatched chickens then were arranged based on the experimental groups of incubation period in a completely randomized design with 3 treatments and 6 replicates. *In ovo* injection of 0.1 mL of fadrozole hydrochloride and green tea extract led to 100 and 80 percent sex reversal, respectively (P≤0.05). During whole the exprimental period, daily feed intake and daily weight gain of chickens of fadrozole hydrochloride and greean tea extract groups were higher than those on the control group (P≤0.05). Compared with other treatments, *in ovo* injection of green tea extract caused a significant increase in the number and average diameter of muscle fibers (P≤0.05). The findings of this study suggest that broiler sex reversal by using green extract and fadrozole hydrochloride resulting to increases the growth rate of broilers. Also high anti-aromatase characteristic of green extract can be a good alternative to chemical drugs such as fadrozole hydrochloride.

Keywords: Aromatase inhibitors, Sex differentiation, Green tea extract, Fadrozole hydrochloride, Broiler chicken

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.29252/rap.9.22.18]