دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج بر رشد و تمایز جنسیتی جوجه‌های گوشتی

افسانه سربزی فرح آباد[۱]، زربخت انصاری پیرسرائی[۲]، پوریا بی‌پروا[۳] و عیسی دیرنده[۴]

۱، ۳ و ۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، استادیار گروه علوم پایه و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (نویسنده مسوول: zarbakht_ansari@yahoo.com)
تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۰

چکیده

یکی از مشکلات صنعت طیور یک دست نبودن گله در مزرعه گوشتی است هر چند که در کارخانه‌های جوجه‌کشی جوجه گوشتی و بوقلمون، اغلب جوجه‌های تعیین جنسیت شده را به تولید کنندگان تجاری می‌فروشند، زیرا تفاوت‌های جنسی در مقدار رشد و بازدهی مصرف خوراک، جداسازی نرها و ماده‌ها را برای تامین نیازهای بازار از نظر تولید لاشه‌های یک دست و مشخص ضروری می‌سازد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج بر رشد و جنسیت جوجه‌های گوشتی انجام شد. این پژوهش با ۵۰۰ عدد تخم‌مرغ سویه راس ۳۰۸ به صورت طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار چهار تکرار و ۲۵ عدد تخم‌مرغ در هر تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد بدون تزریق ۲- شاهد با تزریق (تزریق حلال‌ها) ۳- تزریق mg/L ۵۰ عصاره گرده کاج ٤- تزریق mg/L ۱۰۰ عصاره گرده کاج ۵- تزریقmg/L ۱۵۰ عصاره گرده کاج بود. صفات اقتصادی، درصد جوجه درآوری، تمایز جنسیتی و بیان نسبی ژن IGF-I و IGF-II مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد استفاده از تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج تاثیر معنی‌داری بر درصد جوجه درآوری، صفات اقتصادی و تمایز جنسیت جوجه‌های گوشتی نداشت، اما تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج سبب کاهش بیان نسبی ژن IGF-I و IGF-II شد و در تیمارهای عصاره گرده کاج پاسخ به دوز در بیان نسبی ژن IGF-I در بافت سینه و IGF-II در بافت ران مشاهد شد به طوری که در تزریق mg/L ۱۵۰ عصاره گرده کاج سبب افزایش معنی‌داری در بیان نسبی ژن IGF-I در بافت سینه شد.

واژهای کلیدی: تزریق درون تخم‌مرغی، تمایز جنسیتی، رشد، عصاره گرده کاج

مقدمه

تاریخچه تمایز جنسیت مربوط به قرن نوزدهم است که زیست شناسان، امکان تخم‌گذاری خروس را مورد بحث قرار دادند، به گونه‌ای که در منابع علمی قرن بیستم، به بررسی‌های موردی درباره فنوتیپ‌های هرمافرودیت و تغییرات آنی جنسیت پرداخته شد. یکی از موضوع‌های جذاب بحث تمایز جنسیت در چشم‌انداز تجاری‌سازی و کاربرد آن در صنعت طیور است (۵۵). زیرا یکی از مشکلات صنعت طیور در مزرعه مرغ مادر تخم‌گذار تولید جوجه‌های نر است، زیرا این جوجه‌ها از لحاظ تولید گوشت و تخم‌مرغ قابل بهره‌برداری نیست (۴۹)، همچنین از مشکلات دیگر صنعت طیور یک دست نبودن گله در مزرعه گوشتی است، هر چند که در کارخانه‌های جوجه‌کشی جوجه گوشتی و بوقلمون، اغلب جوجه‌های تعیین جنسیت شده را به تولید کنندگان تجارتی می‌فروشند، زیرا تفاوت‌های جنسی در مقدار رشد و بازدهی مصرف خوراک، جداسازی نرها و ماده‌ها را برای تامین نیازهای بازار از نظر تولید لاشه‌های یک دست و مشخص ضروری می‌سازد (۵۵) از سوی دیگر پرورش دهندگان طیور به دلیل ضریب تبدیل بهتر و نرخ رشد بیشتر (۳۰،۸) و دفع ازت کمتر در جنس نر نسبت به ماده (۱۹) تمایل بیشتری به خریداری جنس نر دارند. درجنین نر پرندگان به دلیل دارا بودن تستوسترون بخش مدولا هردو گناد رشد کرده و تبدیل به بیضه می‌شود از سوی دیگر در جنین ماده پرندگان به دلیل دارا بودن استرژون فراوان و تستوسترون کم بخش کورتکس گناد چپ رشد کرده و تبدیل به تخمدان می‌شود (۴۱). تغییر نسبت تستوسترون و استروژن سبب تمایز جنسیت می‌شود از آن‌جایی که این نسبت از طریق مهار آنزیم آروماتاز تغییر می‌یابد، بنابراین بازدارنده آروماتاز در مرحله‌ای که گناد جوجه نامتمایز است، ماده ژنتیکی را وادار به تکامل فنوتیپ غالب نر می‌نماید (۱۱۳). بیان شده است که تزریق مهار کننده آروماتاز در تخم‌مرغ سبب تمایز جنسیت نر شد؛ همچنین در ماده‌های تمایز یافته غلظت تستوسترون پلاسما افزایش و بیان ژن P450 و غلظت استرادیول پلاسما کاهش یافت (۴۰،۳۹). برخی از گیاهان دارای ترکیبات غیراستروییدی هستند که فعالیت استروژنیک دارند این ترکیبات به نام فیتواستروژن است (۳۳) فیتواستروژن‌ها در بعضی از موارد به عنوان آنتاآگونیست و در بعضی از موارد به عنوان آگونیست عمل می‌کند (۳۲). گیاه سیر دارای فیتواستروژن است تزریق عصاره سیر به مقدار ۱ میلی گرم در هر تخم‌مرغ سبب تمایز جنسیت نر شده بدون آن که در جوجه درآوری تاثیر بگذارد (۴۸). بعضی از گیاهان دارای آندروژن گیاهی هستند که مصرف آن‌ها سبب افزایش تستوسترون جانوری می‌شود. گزارش شده تزریق عصاره گرده خرما به موش به مقدار ۱۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از وزن بدن سبب افزایش تستوسترون شد (۱). استفاده از گرده گل گونه ارکیده و گرده جمع آوری شده از پاهای زنبور عسل باعث افزایش معنی‌دار تستوسترون در موش‌های نر (۲۴ گرمی) شد (۱۷). ترکیبات شیمیایی مخروط نر کاج شامل پروتین خام (۱۲/۷ درصد)، چربی خام (۱/۵ درصد)، فیبر خام (۳۵/۶ درصد)، مواد معدنی (۳/۱ درصد)، انرژی خالص (۲۱ درصد) و انرژی متابولیسمی (۵/۷ کیلوژول بر گرم) است و همچنین این ماده دارای خواص آنتی بیوتیکی نیز است (۵۶). گرده کاج دارای تستوسترون و آندروژن (۳۵) و همچنین ویتامین D است (۳۷). استفاده از گرده کاج در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به صورت خوراکی در موش،

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]
[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

سبب بهبود آرتریت و کاهش التهاب شده و همچنین سطح سرمی لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL) را کاهش و لیپوپروتئین با دانسیته زیاد (HDL) را افزایش داد (۲۲). تزریق گرده کاج همراه با دی گالاکتوز به موش (۱ و ۲ میلی‌گرم) باعث تاخیر در پیری سلول‌های فیبروبلاست و تکثیر این سلول شده و همچنین فاکتور نکروزه کننده تومور آلفا (TNF-α) و اینترلوکین-۶ (IL-6) را کاهش داد (۲۶). استفاده از پلی ساکارید سولفاته گرده کاج باعث توقف چرخه میتوزی سلول‌های سرطانی جگر شد (۱۱)؛ همچنین استفاده عصاره گرده کاج باعث مهار رادیکال‌های آزاد و مهار رشد سلول‌های سرطانی شد (۲۲).

گرده کاج با دارا بودن هورمون‌های فیتواستروژن و فیتوآندروژن (۳۶) ممکن است با کاهش اثرات استروژنی سبب تغییر تمایز جنسیت به سمت نرزایی شود از سوی دیگر ممکن است گرده کاج با دارا بودن مواد مغذی سبب افزایش رشد جوجه‌های گوشتی شود. بنابراین هدف از این تحقیق تاثیر تزریق درون تخم مرغی عصاره گرده کاج بر رشد و جنسیت جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

جمع آوری مخروط کاج

مخروط نر درخت کاج الدار (۲۰) از منطقه تربت جام در عرض جغرافیا N ۳۵/۱۷ و E ۶۰/۳۵ در ارتفاع M ۹۵۰/۴ از درختان این شهرستان جمع آوری شد.

عصاره‌گیری گرده کاج

یک گرم از گرده کاج را داخل ۲۰ میلی‌لیتر متانول ریخته و در حمام التراسونیک در دمای ۲۴-۳۰ سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ ساعت اولتراسونیک شد و سپس عصاره گرده کاج از کاغذ صافی عبور داده شد. آنگاه با روش رفلکس تحت گاز، حلال‌زادیی (متانول) انجام شد و پس از خشک شدن کامل عصاره یک میلی‌لیتر DMSO به منظور حل شدن عصاره اضافه شد (۵۲). تبدیل واحد عصاره به mg/L انجام شد و سپس براساس فرمول $M_1V_1=M_2V_2$ میزان دوز مورد نظر با بالون ژوژه به حجم رسانده شد.

تعیین دوز تیمارها

این پژوهش به صورت طرح کاملا تصادفی با سه سطح عصاره گرده کاج (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/L) و پنج تیمار و ۱۰۰ عدد تخم‌مرغ در هر تیمار، چهار تکرار و ۲۵ تخم‌مرغ در هر تکرار که به صورت تصادفی در دستگاه جوجه‌کشی پخش شد. تیمار آزمایشی شامل:

تیمار یک: کنترل منفی (بدون تزریق)

تیمار دو: کنترل مثبت (با تزریق حلال دای متیل سولفوکساید و آب)

تیمار سه: تزریق عصاره گرده کاج ۵۰ mg/L

تیمار چهار: تزریق عصاره گرده کاج ۱۰۰ mg/L

تیمار پنج: تزریق عصاره گرده کاج ۱۵۰ mg/L

برای تعیین این دوزها دو پیش‌آزمایش انجام شد.

تزریق داخل تخم‌مرغ

در روز صفر جنینی در دامنه دمایی ۱۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد، ابتدا زیر کیسه هوایی (قسمت مورد نظر برای تزریق) با الکل ضد عفونی شد سپس قسمت مورد نظر با نیدل گیج ۲۱ سوراخ و از هر دوز به مقدار ۳۰ میکرولیتر در زیر کیسه هوایی با نیدل گیج ۲۲ تزریق شد سپس محل تزریق را با چسب پارافین پوشانده و در دستگاه جوجه‌کشی با دمای ۳۷/۴ درجه و رطوبت ۵۲ درصد ستر گذاشته شد.

جیره آزمایشی

جیره آزمایشی (تا هفت روزگی) بر پایه ذرت و سویا و براساس احتیاجات ذکر شده در راهنما پرورش جوجه گوشتی راس (۳۰۸) با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شد که در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ترکیب جیره آزمایشی

Table 1. Composition of experimental diet

مواد خوراکی	اجزای خوراک (درصد)
ذرت	۵۰/۹۳
کنجاله سویا	۴۰/۵۷
روغن	۳/۶۱
دی کلسیم	۱/۷۵
سنگ آهک	۱/۲
نمک	۰/۳۹
مکمل معدنی	۰/۲۵
مکمل ویتامینی	۰/۲۵
دی-ال-متیونین	۰/۴۸
لیزین	۰/۴۲
ترئونین	۰/۲۲
ادامه جدول..	
ترکیب مواد مغذی برحسب درصد	
انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۹۱۰
پروتین	۲۲/۳۱
لیزین	۱/۴۴
متیونین	۰/۵۹
متیونین + سیستئین	۱/۰۸
ترئونین	۰/۹۷
کلسیم	۰/۹۵
فسفر	۰/۴۷۵
سدیم	۰/۱۸

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

صفات مورد بررسی در آزمایش

بعد از هچ جوجه‌ها، تخم‌مرغ‌های هچ نشده را باز کرده و علت مرگ و میر یادداشت شد و سپس با استفاده از رابطه زیر (۵۱) درصد جوجه درآوری محاسبه شد.

گامه‌های مرگ و میر جنینی به سه بخش کلی تقسیم شد که عبارت بودند از: روز یک تا هفت جنینی (گامه نخست)، روز هشت تا ۱۴ جنینی (گامه میانی)، روز ۱۵ تا ۲۱ جنینی (گامه پایانی). ویژگی این گامه‌ها در جدول بیان شده است (۱۸،۱۲).

برای تعیین کیفیت جوجه‌های هچ شده شاخص‌هایی مانند فعالیت جوجه، وضعیت پوشش بدنی، ورم شکمی، وضعیت ناف، چشم و پا به طور چشمی ارزیابی انجام گرفت و براساس پژوهش تونا و همکاران (۴۴) رتبه‌بندی شد و آنالیز آماری به روش ویلمسن و همکاران (۵۰) انجام شد.

$$\text{درصد هچ جوجه} = \frac{\text{تعداد جوجه هچ شده}}{\text{تعداد تخم مرغ بارور}} \times ۱۰۰$$

$$\text{مرگ و میر} = \frac{\text{تعداد جنین مرده}}{\text{تعداد تخم مرغ باور}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد مرگ و میر جنینی} = \frac{\text{جنین یا جوجه تلف شده در هر گامه}}{\text{تعداد تخم مرغ‌های باور}} \times ۱۰۰$$

برای محاسبه تمایز جنسیت، جوجه‌های هچ شده را با روش Feather Sexing مورد تعیین جنسیت قرار گرفتند و در روز هفت پرورش، جوجه‌ها را کشتار و اندام تناسلی آنها مورد ارزیابی چشمی قرار گرفت. از ابتدای دوره پرورش جوجه‌ها از سن ۱ تا ۷ روزگی با استفاده از ترازو دیجیتال با دقت ۵± گرم وزن‌کشی شدند. ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های پژوهش از تقسیم خوارک مصرفی دوره بر افزایش وزن دوره محاسبه شد. وزن هر واحد در محاسبه ضریب تبدیل غذایی در نظر گرفته شد:

$$\text{میانگین خوراک مصرف روزانه هر جوجه طی ۷ روز} = \frac{\left(\frac{\text{وزن جوجه‌های زنده در ابتدای هفته}}{\text{تعداد جوجه‌های زنده در ابتدای هفته}} - \frac{\text{وزن جوجه‌های زنده در پایان هفته}}{\text{تعدادهای جوجه زنده در پایان هفته}}\right)}{۷}$$

$$\text{میانگین افزایش وزن هفتگی هر جوجه} = \text{افزایش وزن روزانه هر جوجه} \times ۷$$

$$\text{ضریب تبدیل} = \frac{\text{خوراک مصرفی (گرم)}}{\text{افزایش وزن (گرم)}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری بیان ژن IGF-I و IGF-II

جوجه‌ها در هفت روزگی با جابه‌جایی مهره گردنی کشتار و نمونه ران و سینه به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

روش استخراج RNA با کیت شرکت RNX-PLU (کاتالوگ نامبر RN7713C) و برای ساخت cDNA از کیت cDNA Synthesis Kit شرکت یکتا تجهیز (کاتالوگ نامبر YT4500) استفاده شد.

انجام Real-Time PCR

Real Time PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و کیتYTA SYBR Green qPCR MasterMix 2X (کاتالوگ نامبر YT2551) خریدار شده از شرکت یکتا تجهیز انجام شد. پس از تایید توالی و صحت طول قطعه توالی، با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژن NCBI آغازگر مورد نظر ساخته شد (۲۳،۲۴). همچنین سطوح ژن‌ها IGF-I و IGFII با روش لیواک (۳۸) محاسبه شد.

جدول ۲- ویژگی آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش

Table 2. Characteristics of the primers used in this research

ژن	شماره ثبت در بانک ژن	توالی آغازگر (´۳-´۵)	جهت	اندازه باند (bp)
IGF-I	NM_001004384.2	GAGACAGAGGCTTCTACTTCA TGGCTTTATTGGAGCACAG	رفت برگشت	۱۳۴
IGF-II	NM_001030342.1	TGTGGAGGAGTGCTGCTTTC GGGAGGTGGCGGAGAGGTCA	رفت برگشت	۹۸
β-Actin	NM_205518	TGCGTGACATCAAGGAGAAG TGCCAGGGTACATTGTGGTA	رفت برگشت	۳۰۰

Insulin- Like Growth factor-1 :IGF-I ،Insulin-Like Growth factor-2 :IGF-II ، Beta-actin :βActin

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

مدل آماری

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۴۳) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

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

در این فرمول Y_{ijk} مقدار مشاهده، μ میانگین جامعه، T_i اثر عصاره گرده کاج، e_{ijk} اثر عوامل باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

درصد جوجه درآوری

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد جوجه درآوری در جدول ۳ آمده است. بین تیمارهای تزریق شده و تیمار تزریق نشده برای درصد جوجه درآوری از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵)، ولی تفاوت معنی‌داری در تیمارهای تزریق عصاره گرده کاج در مقایسه با تیمار شاهد کنترل مثبت وجود نداشت که احتمال دارد به دلیل اثر تزریق و اثر حلال استفاده شده در عصاره باشد.

نتایج مربوط به تاثیر تزریق گرده کاج بر گامه‌های جنینی در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان می‌دهد بین تیمارهای تزریق شده و تیمار تزریق نشده در گامه جنینی نخست تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)؛ ولی در گامه‌های جنینی دیگر هیچ تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.

کاسکن و همکاران (۱۱) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده گل در روز ۱۶ جنینی تاثیر معنی‌داری بر درصد جوجه درآوری نداشت. برک و هنری (۹) بیان کردند تزریق درون تخم‌مرغی فدرازول در سفیده در روز قبل از جوجه کشی تاثیر معنی‌داری روی این صفت نداشت. همچنین سایر پژوهش‌ها نشان دادند که تزریق عصاره گیاهی در روز پنجم جنینی در سفیده تخم‌مرغ تاثیر معنی‌داری بر درصد جوجه درآوری نداشت (۲۵،۱۵،۵). وایات و هووارث (۵۲) گزارش کردند تزریق دو میلی‌گرم DMSO (Dimethyl sulfoxide) در زرده تخم‌مرغ در روز قبل از جوجه کشی سبب مرگ و میر صد در صد در گامه نخست جنینی شد، ولی تزریق ۰/۰۵ و ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر به ازای هر تخم تاثیر معنی‌داری بر درصد جوجه درآوری نداشت. همان طور که در جدول ۴ مشاهد می‌شود بیشترین مرگ و میر در گامه نخست جنینی بود. در این پژوهش مقدار استفاده شده از DMSO، ۰/۰۳۵ میلی‌لیتر به ازای هر تخم‌مرغ بود. ولی احتمال می‌رود که با تغییر محل تزریق اثر DMSO تغییر کرده است زیرا نحوه انتشار DMSO زمانی که در زرده تخم‌مرغ تزریق شود با رشد جنین، سبب تغییر نفوذ پذیری غشا زرده شده و مقدار آزاد شدن DMSO از زرده به سمت جنین آهسته‌تر می‌شود و براساس غلظت دوز تغییر می‌کند ولی زمانی که در روز صفر جنینی در سفیده تزریق شود به دلیل چند فاز بودن تخم‌مرغ از طریق انتشار به رویان منتقل می‌شود.

کیفیت جوجه

نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت جوجه نشان دادند که هیچ کدام از تیمارها تاثیر معنی‌داری بر کیفیت جوجه نداشت (P>۰/۰۵). کیفیت جوجه یکی از پارامترهای موثر در رشد و مقاومت جوجه به شرایط محیطی است (۵۰) به طوری که کیفیت بهتر جوجه، نشان دهنده جوجه سالم‌تر و مقاوم‌تر به بیماری‌ها و شرایط تنش‌زا محیط است و همچنین بعد از هچ قابلیت زنده مانی بیشتری دارد.

تلفات جوجه‌های گوشتی در سطح تجاری حدود ۳-۴ است، ولی هنری و برک (۹) بیان کردند تزریق فدرازول به تخم مرغ سبب افزایش ۸ درصدی تلفات جوجه‌های گوشتی شد. همچنین تزریق عصاره چای سیاه تاثیر معنی‌داری بر تلفات جوجه‌های گوشتی نداشت (۲۵).

در شرایط پژوهش انجام گرفته هیچ تاثیری بر کیفیت دیده نشد، ولی احتمال دارد با تغییر تیمار و شرایط پژوهش نتایج دیگری به دست آید.

جدول ۳- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد جوجه درآوری و مرگ میر

Table 3. Effect of experimental treatments on hatchability and mortality percent

تیمار	درصد جوجه درآوری	درصد مرگ و میر
شاهد بدون تزریق	۹۲/۰۰^{a}	۸^{b}
شاهد با تزریق (DMSO)	۴۵/۹۹^{D}	۵۱/۶۲^{a}
عصاره گرده کاج ۵۰ (mg/L)	۳۷/۵۴^{D}	۵۹/۱۰^{a}
عصاره گرده کاج۱۰۰ (mg/L)	۴۲/۹۶^{b}	۵۱/۴۰^{a}
عصاره گرده کاج ۱۵۰(mg/L)	۴۵/۳۷^{D}	۵۲/۴۷^{a}
P-value	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳
SEM	۶/۰۲	۵/۸۳

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P≤۰/۰۵)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

جدول ۴- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گامه جنینی

Table 4. Effect of experimental treatments on embryonic stage percentage

تیمار	گامه نخست (روز ۱-۷ جنینی)	گامه میانی (روز ۸-۱۴ جنینی)	گامه پایانی (روز ۱۵-۲۱ جنینی)
شاهد بدون تزریق	۳[a]	۰/۰	۴/۰۰
شاهد با تزریق (DMSO)	۴۲/۹۱[b]	۶/۱۵	۱/۳۱
عصاره گرده کاج ۵۰ (mg/L)	۴۱/۶۷[b]	۲/۳۳	۳/۲۶
عصاره گرده کاج۱۰۰ (mg/L)	۴۳/۳۷[b]	۱/۰۸	۶/۹۳
عصاره گرده کاج ۱۵۰(mg/L)	۳۵/۷۱[b]	۲/۴۴	۴/۵۴
P-value	۰/۰۰۰۷	۰/۲۳	۰/۳۷
SEM	۰/۶۳	۰/۲۷	۰/۳۳

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P≤۰/۰۵)

تمایز جنسیت

نتایج مربوط به تیمارهای آزمایشی و اثر آن بر تمایز جنسیت در جدول ۵ آمده است. هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر تمایز جنسیت نداشت (P>۰/۰۵). در این راستا متقی طلب و جمشاسب (۲۷) گزارش کرد تزریق عصاره آبی و الکلی گوجه فرنگی به ترتیب ۰/۰۶ و ۰/۰۳ میکرو لیتر و تزریق عصاره سیر تا ۸۶ درصد سبب نر زایی شد. ولی‌زاده و صراط نوری (۴۸) بیان کردند تزریق عصاره سیر به مقدار یک میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ سبب تمایز جنسیت به سمت نر شد بدون آن که در جوجه درآوری تاثیر بگذارد. فاضلی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که تزریق عصاره سیر و گوجه فرنگی به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در هر تخم‌مرغ سبب افزایش درصد جوجه نر شد. ادنگیبا و همکاران (۳) گزارش کردند استفاده گرده کاج در خوراک گربه ماهی از زمان لاروی تا بچه ماهی (هنوز تمایز جنسیت شروع نشده است) به طور معنی‌داری سبب تمایز جنسیت تا ۹۰ -۸۰ شده است. مورتنسن و آریکور (۲۸) بیان کردند زمانی‌که سلول کبد ماهی سالمونلا ۷۲ ساعت در معرض DMSO با دوز ۰/۱ میلی‌گرم قرار گیرند سبب افزایش بیان نسبی گیرنده استروژنی ER-α و ER-β می‌شود. احتمال دارد DMSO با افزایش گیرنده استروژنی ER-α و ER-β سبب بی اثر کردن عصاره گرده کاج شود.

جدول ۵- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد تمایز جنسیت

Table 5. Effect of experimental treatments on sex differentiation percentage

تیمار	نر	ماده
شاهد بدون تزریق	۵۸/۳	۴۱/۶۷
شاهد با تزریق (DMSO)	۴۵/۰۵	۵۴/۹۴
عصاره گرده کاج ۵۰ (mg/L)	۵۳/۵۷	۴۶/۴۳
عصاره گرده کاج۱۰۰ (mg/L)	۵۵/۸۸	۴۴/۱۲
عصاره گرده کاج ۱۵۰(mg/L)	۴۵/۷۱	۵۴/۲۹
P-value	۰/۵۹	
SEM	۰/۱۱	

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P≤۰/۰۵)

صفات اقتصادی

هیچ کدام از تیمار آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر صفات اقتصادی مانند وزن اولیه، وزن هفت‌روزگی، نرخ رشد، ضریب تبدیل و ویژگی لاشه نداشت (P >۰/۰۵). فاضلی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که تزریق درون تخم‌مرغی عصاره سیر و گوجه فرنگی تاثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل و افزایش وزن داشت. ادنگیبا و همکاران (۳) گزارش کردند مکمل گرده کاج در غذای تجاری گربه ماهی در مراحل لاروی تا بچه ماهی تاثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل و میانگین وزن نداشت ولی از مرحله بچه‌ماهی تا بند انگشتی سبب افزایش میانگین وزن و بهبود ضریب تبدیل شد. در پژوهش که روی گرده کاج انجام شد افزودن گرده کاج در خوراک خوک باعث افزایش معنی‌دار دفع کلسترول و کاهش قابلیت هضم شد (۵۶).

در طیور جنس نر نسبت به ماده ضریب تبدیل بهتر، نرخ رشد بیشتر (۸،۳۰) و دفع ازت کمتری دارد (۱۹). تمایز جنسیت به سمت جنس نر به معنی افزایش تعداد نرهای دارای ژنتیک ماده و فنوتیپ نر است. وایلانت و همکاران (۴۷)، تمایز جنسی را به پنج دسته تقسیم کردند:

ماده عادی: تخمدان چپ طبیعی و دارای اویداکت.

ماده با فنوتیپ نر: تخمدان چپ طبیعی و دارای بیضه کوچک در سمت راست و دارای اویداکت.

ماده با فنوتیپ نر: بیضه توسعه نیافته در سمت راست و Ovotestis (گنادی دارای ویژگی‌های بیضه و تخمدان) در چپ و دارای اویداکت.

ماده با فنوتیپ نر: دارای دو بیضه توسعه نیافته، لوله دفرانت نازک و اویداکت.

ماده با فنوتیپ نر: دارای دو بیضه توسعه یافته و لوله دفرانت نازک پر از اسپرم و اویداکت.

یانگ و همکاران (۵۴) گزارش کردند تزریق دوزهای ۰/۳ و ۰/۱ میلی‌گرم فدرازول در تخم‌مرغ نطفه‌دار، باعث افزایش تستوسترون در جنس ماده شد، ولی غلظت این هورمون در جنس ماده به‌طور معنی‌داری از جنس نر کمتر بود.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

اختلاف در نتایج ضریب تبدیل و نرخ رشد احتمال دارد به دلیل مقدار تغییر تمایز جنسیتی باشد. این نتیجه ممکن است به دلیل میزان تغییر گنادها و مقدار تستوسترون تراوش شده از گنادها باشد.

بررسی بیان ژن

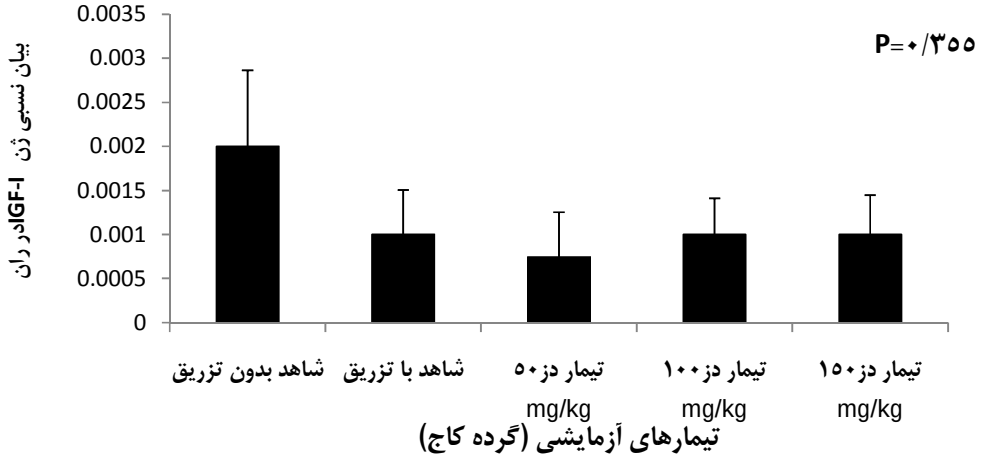
با توجه به نگاره ۱، نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر بیان نسبی ژن فاکتور رشد IGF-I در بافت ران جوجه، معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵). نگاره ۲ نتایج مربوط به تاثیر عصاره گرده کاج بر بیان نسبی ژن فاکتور رشد IGF-I در بافت سینه جوجه را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود عصاره گرده کاج بر بیان نسبی ژن فاکتور رشد IGF-I در بافت سینه جوجه تاثیر معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵) در تیمار تزریق شده (شاهد تزریق شده ،تیمار با دز ۵۰ mg/l عصاره گرده کاج) بیان نسبی ژن IGF-I در بافت سینه کاهش یافته که احتمال دارد به دلیل افزایش تنش محیطی (سوارخ کردن تخم‌مرغ، افزایش بار میکروبی درون تخم‌مرغ، اثرات زیان آور حلال) در زمان تزریق باشد ولی با افزایش دز پاسخ به دز دیده می‌شود به طوری که در تیمار ۱۵۰ mg/l عصاره گرده کاج بیان نسبی ژن IGF-I در بافت سینه به طور معنی‌دار افزایش یافت. آوربن و همکاران (۴۶) گزارش کردند تزریق تستوسترون (جزی از هورمون آندروژنی) در مردان میان سال سبب افزایش IGF-I می‌شود. ادنگیا و همکاران (۳) عنوان کردند گرده کاج دارای فیتوآندروژن متابولیک است و افزودن گرده کاج در غذای تجاری گربه ماهی در مرحله بچه ماهی تا بند انگشتی سبب افزایش میانگین وزن شد. گونک و همکاران (۱۶) بیان کردند رشد عضله سینه در زمان جنینی سرعت کمی داشته ولی در اوایل دوره پرورش سریع شد و همچنین در عضله سینه غلظت IGF-I در نزدیکی تولد به طور معنی‌دار کاهش یافت (۷)؛ همچنین گزارش شده است که تزریق موضعی IGF-I در موش با هدف افزایش بیان ژن IGF-I در بافت ماهیچه‌ای در بعد از تولد منجر به هایپرتروفی فیبرها شد (۲) و بیان شده است که رشد ماهیچه سینه در طی نمو جنینی آهسته بود و در اوایل تولد بیان نسبی IGF-I و IGF-II به بیشترین مقدار رسید (۴).

جوجه‌های گوشتی که نرخ رشد سریع دارند غلظت پلاسمایی IGF-I در آنها بیشتر است (۶). اختلال کامل در ژن IGF-I کبد موش پس از دوره زایمان، باعث شد غلظت پلاسما IGF-I به مقدار ۷۵ درصد کاهش یابد در حالی که نرخ رشد نرمال بود (۵۳).

رابیس و همکاران (۳۴) بیان کردند جنین‌هایی که در رشد تاخیر داشتند در میانه جوجه‌کشی سرژ IGF-I نشان نمی‌دهند این به دلیل تاثیر IGF-I در کنترل طبیعی و نمو جنینی است IGF-I تکثیر را از راه افزایش تعداد سلول و سطوح پروتین و ساخت DNA و جذب آمینواسید و گلوکز و جلوگیری از تجزیه پروتین تحریک می‌کند. از سوی دیگر افزایش بیان ژن فاکتور تنظیمی ماهیچه را تحریک می‌کند (۲۱).

همچنین گزارش شده است IGF-I تکثیر در انواع سلول‌ها از جمله مایوبلاست‌ها (سلول بنیادی ماهیچه) را تحریک می‌کند (۳۱)، تزریق گرده کاج همراه با دی گالاکتوز به موش (۱ و ۲ میلی‌گرم) باعث تاخیر در پیری سلول‌های فیبروبلاست و تکثیر این سلول شد (۲۶).

با توجه به نگاره ۱ و ۲ میزان بیان نسبی ژن IGF-I در سینه بیشتر از ران بود، احتمال دارد که گرده کاج با دارا بودن مواد مغذی و تستوسترون سبب تحریک IGF-I و افزایش تعداد سلول‌های مایوبلاست شده است و به این دلیل در بافت سینه دارای ماهیچه بیشتر نسبت به ران است.

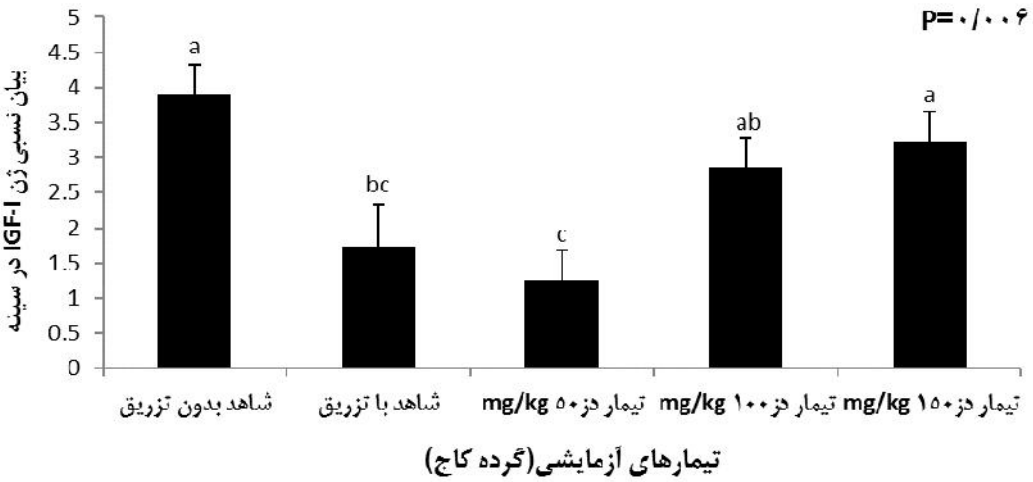


نگاره ۱- بیان نسبی ژن IGF-I در بافت ران. میانگین دارای حروف ناهمانند تفاوت آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵)

Figure 1. Relative gene expression of IGF-I in thigh tissue. Means bearing different superscript letters differ significantly (P<0.05)

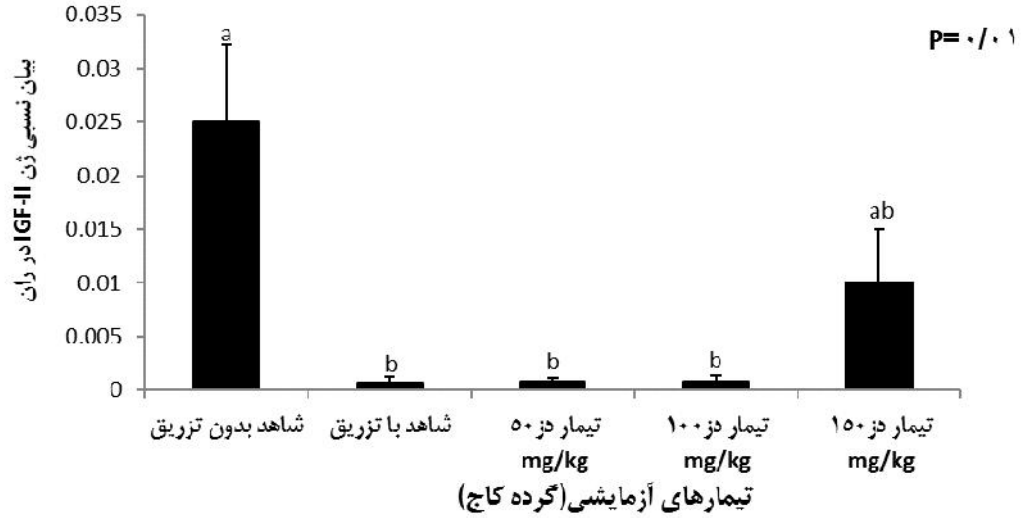
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]



نگاره ۲- بیان نسبی ژن IGF-I در بافت سینه. میانگین دارای حروف ناهمانند تفاوت آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).
Figure 2. Relative gene expression of IGF-I in breast tissue. Means bearing different superscript letters differ significantly (P<0.05)

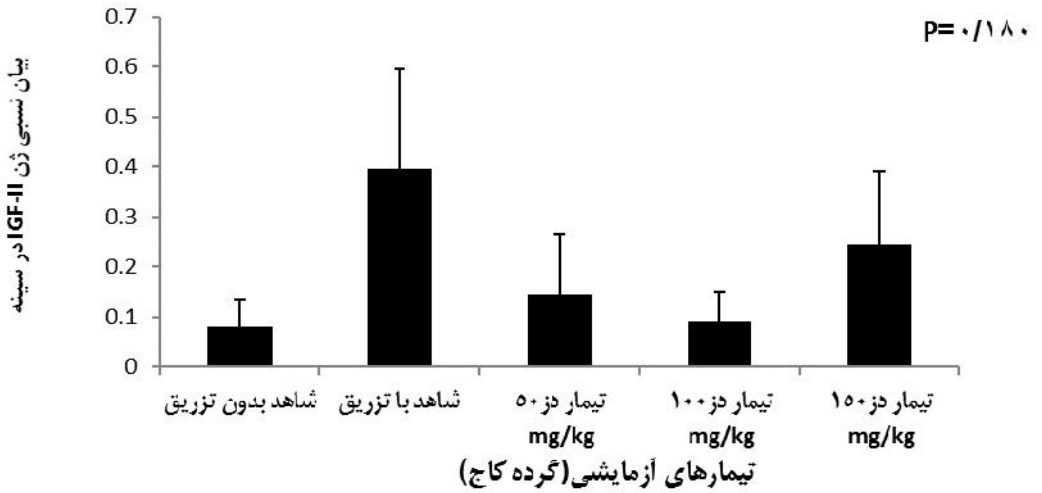
با توجه به نگاره ۳ نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر بیان نسبی ژن IGF-II در بافت ران جوجه، تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵) و همانند نمودار ۲ بیان نسبی ژن IGF-II مانند IGF-I در تیمار تزریق شده کاهش یافت که احتمال دارد به دلیل افزایش تنش محیطی (سوارخ کردن تخم‌مرغ، افزایش بار میکروبی درون تخم‌مرغ، اثرات زیان آور حلال) در زمان تزریق باشد ولی با افزایش دز، پاسخ به دز دیده می‌شود به طوری که در تیمار ۱۵۰mg/L تمایل به معنی‌داری مشاهده شد. با توجه به نگاره ۴، در نتایج مربوط به تاثیر عصاره گرده کاج بر بیان نسبی ژن فاکتور رشد IGF-II در بافت سینه جوجه، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P> ۰/۰۵). استوار و روتین (۴۲) بیان کردن غلظت پلاسمایی IGF-II در نرخ رشد پستانداران تاثیر گذار است در زمان جنینی IGF-II تقریبا بیان نسبی بیشتری دارد، ولی بعد از تولد به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. گیرنده IGF-IR میل ترکیبی زیادی با IGF-I دارد و با IGF-II حدود ۱۰ برابر میل ترکیبی آن از IGF-IR کمتر است (۲۱). گیرنده نوع دوم IGF میل ترکیبی زیاد با IGF-II دارد و میل ترکیبی IGF-I با این گیرنده کم است (۲۱) هورمون رشد سنتز و تراوش IGF-I را در جگر با پیوند به گیرنده GH تحریک می‌کند (۲۹) در صورتی که IGF-II مستقل از هورمون رشد و در جگر تولید می‌شود (۴۵). از آن جا که گیرنده IGF-II در جنین پرندگان وجود ندارد عملکرد IGF-I و IGF-II در جنین جوجه با هم مشابه است (۱۴). احتمال دارد تفاوت در نگاره ۲ و نگاره ۳ به دلیل تفاوت در بیان ژن IGF-I و IGF-II باشد ولی هر دو نمودار نشان دهنده این است که با افزایش دوز یا تغییر در مکان و زمان تزریق اثرات مطلوب‌تری به دنبال دارد.



نگاره ۳- بیان نسبی ژن IGF-II در بافت ران. میانگین دارای حروف ناهمانند تفاوت آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).
Figure 3. Relative gene expression of IGF-II in thigh tissue. Means bearing different superscript letters differ significantly (P<0.05)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]



نگاره ۴- بیان نسبی ژن IGF-II در بافت سینه. میانگین دارای حروف ناهمانند تفاوت آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

Figure 4. Relative gene expression of IGF-II in breast tissue. Means bearing different superscript letters differ significantly (P<0.05)

تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج تاثیر معنی‌داری بر جوجه‌درآوری، کیفیت، صفات اقتصادی و تمایز جنسیت جوجه‌های گوشتی نداشت.

تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج در مقایسه با تیمارهای با تزریق شده (به خصوص بیشترین سطح آن) سبب افزایش معنی‌دار در بیان نسبی IGF-I شد.

تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گرده کاج تاثیر معنی‌داری در بیان نسبی ژن IGF-II نداشت ولی همانند بیان نسبی ژن IGF-I پاسخ به دز دیده شد.

منابع

1. Abedi, A., M. Parviz, S.M. Karimian and H.R.S. Rodsari. 2013. Aphrodisiac activity of aqueous extract of Phoenix dactylifera pollen in male rats Journal of Physiolgy and Pharmacology Advances, 2: 235-242.
2. Adams, G.R. and S.A. McCue. 1998. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. Journal of Applied Physiology, 84: 1716-1722.
3. Adenigba, I., B. Tumbokon and A. Serrano. 2017. Androgenic and Anabolic effects of Pinus tabulaeformis Carr. Pollen in Clarias gariepinus. The Israeli Journal of Aquaculture, 69: 1388-1396.
4. Allan, G.J., D.J. Flint and K. Patel. 2001. Insulin-like growth factor axis during embryonic development. Reproduction, 122: 31-39.
5. Aslani, M. and M. Mottaghitalab. 2011. Effect anti-aromatase tea extract on the sex ratio of broiler chicks, MS, University of Agricultural Sciences, Gilan, Iran, 80 (In Persian).
6. Bacon, W.L., K.E. Nestor, D.A. Emmerson, R. Vasilatos-Younken and D.W. Long. 1993. Circulating IGF-I in plasma of growing male and female turkeys of medium and heavy weight lines. Domestic Animal Endocrinology, 10: 267-277.
7. Beccavin, C., B. Chevalier, L.A. Cogburn, J. Simon and M.J. Duclos. 2001. Insulin-like growth factors and body growth in chickens divergently selected for high or low growth rate. Journal of Endocrinology, 168: 297-306.
8. Benyi, K., T.S. Tshilate, A.J. Netshipale and K.T. Mahlako. 2015. Effects of genotype and sex on the growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. Tropical Animal Health and Production, 47: 1225-1231.
9. Burke, W.H. and M.H. Henry. 1999. Gonadal development and growth of chickens and turkeys hatched from eggs injected with an aromatase inhibitor. Poultry science, 78: 1019-1033.
10. Chu, H.L., H. Mao, W. Feng, J.W. Liu and Y. Geng. 2013. Effects of sulfated polysaccharide from Masson pine (Pinus massoniana) pollen on the proliferation and cell cycle of HepG2 cells. International Journal of Biological Macromolecules, 55: 104-108.
11. Coşkun, I., H. Çayan, O. Yilmaz, A. Taskin, E. Tahtabiçen and H.E. Samli. 2014. Effects of in-ovo pollen extract injection to fertile broiler eggs on hatchability and subsequent chick weight. Turk Tarım ve Doga Bilimleri Dergisi, 1: 485-489.
12. Cobb hatchery management guide. 2001. The cobb Breeding company Ltd. Available on: www.cobbvantress.com
13. Elbrecht, A. and R. Smith. 1992. Aromatase enzyme activity and sex determination in chicken. Science, 255: 464-469.
14. Duclos, M.J., R.S. Wilkie and C. Goddard. 1991. Stimulation of DNA synthesis in chicken muscle satellite cells by insulin and insulin-like growth factors: evidence for exclusive mediation by a type-I insulin-like growth factor receptor. Journal of Endocrinology, 128: 35-NP.
15. 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.
16. Guernec, A., C. Berri, B. Chevalier, N. Wacrenier-Cere, E. Le Bihan-Duval and M.J. Duclos. 2003. Muscle development, insulin-like growth factor-I and myostatin mRNA levels in chickens selected for increased breast muscle yield. Growth Hormone & IGF Research, 13: 8-18.
17. Hong, I.P., S.O. Woo and J.S. Jang. 2013. Effect on testosterone production in sprague-dawley rats of gastrodia and bee pollen .Journal Environ Health Sciences, 39: 43-47.
18. Hamburger, V. and H.L. Hamilton. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. Journal of Morphology, 88: 49-92.
19. Hernandez, F., M. Lopez, S. Martinez, M.D. Megias, P. Catala and J. Madrid. 2012. Effect of low-protein diets and single sex on production performance, plasma metabolites, digestibility and nitrogen excretion in 1-to 48-day-old broilers. Poultry Science, 91: 683-692.
20. Kaylashki, A. 2006. Effects of Some Natural Factors on the Quantitative Characteristics of (*Pinus eldarica Medw*) in the West Forest of Mazandaran. Scientific Journal of Agriculture, 1: 81-87 (In Persian).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

21. Laviola, L., A. Natalicchio and F. Giorgino. 2007. The IGF-I signaling pathway. Current pharmaceutical design, 13: 663-669.
22. Lee, K.H. and E.M. Choi. 2009. Effect of pine pollen extract on experimental chronic arthritis. Phytotherapy Research, 23: 651-657.
23. Liu, Y., W. Guo, Z. Pu, X. Li, X. Lei, J. Yao and X. Yang. 2016. Developmental changes of Insulin-like growth factors in the liver and muscle of chick embryos. Poultry Science, 95(6): 1396-1402.
24. Lu, F.Z., J. Chen, X.X. Wang and H.L. Liu. 2009. Investigation of the insulin-like growth factor system in breast muscle during embryonic and postnatal development in Langshan and Arbor Acres chickens subjected to different feeding regimens. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22(4): 471-482.
25. Mafia, M., M. Mottaghitalab and M. Hamooni Haghighat. 2010. Manipulation of the Sexual Distribution of Broiler Chickens Using Intraperitoneal Injection of Black Eagle Extract, MS, University of Agricultural Sciences, Guilan, Iran, 79 (In Persian).
26. Mao, G.X., D. Zheng, Y.B. Cao, Z.M. Chen, Y.D. Lv, Y.Z. Wang and J. Yan 2012. Antiaging effect of pine pollen in human diploid fibroblasts and in a mouse model induced by D-galactose. Oxidative medicine and cellular longevity, 85: 112-128.
27. Mottaghitalab M. and A. Jamshasb. 2016 Effect of *in ovo* injection of tomato extract on sex differences and economic performance of broiler chickens, Seventh Iranian Congress of Animal Science, Tehran, Iran, (In Persian).
28. Mortensen, A.S. and A. Arukwe. 2006. Dimethyl sulfoxide is a potent modulator of estrogen receptor isoforms and xenoestrogen biomarker responses in primary culture of salmon hepatocytes. Aquatic Toxicology, 79: 99-103.
29. Ohlsson, C., B.A. Bengtsson, O.G. Lsaksson, T.T. Andreassen, and M.C. Slootweg. 1998. Growth hormone and bone. Endocrinol, Rev. 19: 55- 79.
30. Ojedapo, L.O., O. Akinokun, T.A. Adedeji, T.B. Olayeni, S.A. Ameen and S.R. Amao. 2008. Effect of strain and sex on carcass characteristics of three commercial broilers reared in deep litter system in the derived savannah area of Nigeria. World Journal of Agricultural Sciences, 4: 487-491.
31. Quinn, L.S., B. Steinmetz, A. Maas, L. Ong and M. Kaleko. 1994. Type-1 insulin-like growth factor receptor overexpression produces dual effects on myoblast proliferation and differentiation. Journal of cellular physiology, 159: 387-398.
32. Pourabbas, S., M. Kestemi and A.R. Reshk. 2011. Effects anxiolytic of fennel and probabilistic role of gobarergic system and estrogen receptors in these effects in rats. Iranian physiology and pharmacology, Volume 1: 134-143 (In Persian).
33. Rastgar Farajzad, A., K. Ghasemi and R. Idelzadeh. 2013. Ganung Medical Physiology, Ganung. Publishers world of adib .750 pp (In Persian)
34. Robcis, H.L., T. Caldes and F.D. Pablo. 1991. Insulin-Like Growth Factor-I Serum Levels Show a Midembryogenesis Peak in Chicken That Is Absent in Growth-Retarded Embryos Cultured ex Ovo. Endocrinology, 128: 1895-1901.
35. Saden-Krehula, M., M. Tajic and D. Kolbah. 1971. Testosterone, epitestosterone and and rostenedione in the pollen of Scotch pine P. silvestris L. Cellular and Molecular Life Sciences, 27: 108-109.
36. Saden-Krehula, M., M. Tajic and D. Kolbah. 1979. Sex hormones and corticosteroids in pollen of Pinus nigra. Phytochemistry, 18: 345-346.
37. Saden-Krehula, M. and M. Tajic. 1987. Vitamin D and its metabolites in the pollen of pine. Part 5: Steroid hormones in the pollen of pine species. Die Pharmazie, 42: 471-472.
38. Schmittgen, T.D. and K.J. Livak 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nature protocols, 3: 1101-1108.
39. Shimada, K. 1998. Gene expression of steroidogenic enzymes in chicken embryonic gonads. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 281: 450-460.
40. Shimada, K. and N. Saito. 2000. Molccular mechanisms of sex determination and differentiation Journal of Poultry Science, 37: 3-11.
41. Smith, C.A. 2010. Rowley review. Sex determination in birds: A review. Emu, 110: 364-377.
42. Stewart, C.E. and P. Rotwein. 1996. Insulin-like growth factor-II is an autocrine survival factor for differentiating myoblasts. Journal of Biological Chemistry, 271: 11330-11338.
43. SAS. 2006. Statistical analysis system proprietary software release 9.1. SAS Inst. Inc.,
44. Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V.M. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan and Decuypere, E. 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. Poultry Science, 82: 736-741.
45. Towhidi, A., A. Dirandeh and T. Saberi Fred. 2010. Hormonal regulation of farm animal growth, translated by Hossner, K.L., first edition Tehran University Press 1-314. (In Persian)
46. Urban, R.J., Y.H. Bodenburg, C.H.A.R.L.E. S. Gilkison, Y.J.U.D. Foxworth, A.R. Coggan, R.R. Wolfe and A. Ferrando., 1995. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 269: 820-826.
47. Vaillant, S., D. Guemene, M. Dorizzi, C. Pieau, N. Richard-Mercier and J.P. Brillard. 2003. Degree of sex reversal as related to plasma steroid levels in genetic female chickens (Gallus domesticus) treated with Fadrozole. Molecular Reproduction and Development, 65: 420-428.
48. Valizadeh, E. and H. Seratinouri. 2013. Effects of garlic extract, anti-estrogens, and aromatase inhibitor on sex differentiation in embryo. International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences, 1: 51-55.
49. Weissmann, A., S. Reitemeier, A. Hahn, J. Gottschalk and A. Einspanier. 2013. Sexing domestic chicken before hatch: A new method for in ovo gender identification. Theriogenology, 80: 199-205.
50. Willemsen, H., N. Everaert, A. Witters, L. De Smit, M. Debonne, F. Verschuere, P. Garain, D. Berckmans, E. Decuypere and V. Bruggeman. 2008. Critical assessment of chick quality measurements as an indicator of posthatch performance. Poultry Science, 87: 2358-2366.
51. Willemsen, H., B. Kamers, F. Dahlke, H. Han, Z. Song, Z. Ansari Pirsaraei, T. Kokou, D. Eddy and N. Everaert. 2010. High-and low-temperature manipulation during late incubation: effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. Poultry Science, 89: 2678-2690.
52. Wyatt, R.D. and B. Howarth. 1976. Effect of dimethyl sulfoxide on embryonic survival and subsequent chick performance. Poultry Science. 55: 579-582.
53. Yakar, S.J., L. Liu, B. Stannard, A. Butler, D. Accili, B. Sauer and D. LeRoith. 1999. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. Proceedings of the National Academy of Sciences, 96: 7324-7329.
54. Yang, X.R., H.S. Jiang, J.X. Zheng, L.J. QU, S.R. Chen, J.Y. LI and Y.A.N.G. Ning. 2013. Dosage Effects of Fadrozole on Growth and Development of Sex-Reversed Genetic Female Chickens. Journal of Integrative Agriculture, 12: 1049-1053.
55. Zamiri M.G. 2001 Reproduction in domestic birds, translated by Robert, J. Charles Part IV: 134-95 (In Persian)
56. Zhao, L., W. Windisch and M. Kirchgessner. 1996. A study on the nutritive value of pollen from the Chinese Masson Pine (Pinus massoniana) and its effect on fecal characteristics in rats. Zeitschrift fur Ernahrungswissenschaft, 35: 341-347.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]

Effect of *in ovo* Injection of Pine Pollen Extract on Growth and Sex Differences of Broiler Chicks

Afsane Sarbozi Farah Abad[1]، Zarbakht Ansari-Pirsaraei[2]، Pourya Biparva[3] and Essa Dirandeh[4]

1, 3 and 4- Graduated M.Sc. Student of Animal Sciences Department, Assistant Professor of Basic Sciences Department and Assistant Professor of Animal Sciences Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
2- Associate Professor of Animal Sciences Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding Author:zarbakht_ansari@yahoo.com)
Received: August 20, 2017 Accepted: January 10, 2018

Abstract

One of the problems of the poultry industry is a lack of flocks in broiler farms Although it in the factories of hatchery broiler chickens and turkey, often Sexing chickens to are selling commercial growers, because sex differences in growth rate and feed efficiency, separating males and females to the necessary recurrence needs of uniform and specified market in terms of production carcasses. The current study was conducted to evaluate the effect of *in ovo* injection of Pine pollen extract on growth and sex differentiation of broiler chicks. A total of 500 Ross (W-308) egg completely randomized with five treatments were assigned to 4 replicate of 25 eggs in each pen. Treatments included: 1-.Non-injected control 2-Sham control (DMSO) 3- injection 50 mg/L of Pine pollen extract 4-injection 100 mg/L of Pine pollen extract 5-injection 150 mg/L of Pine pollen extract. The economic characteristics, hatching percent and the sex differentiation and the relative expression of IGF-I and IGF-II were evaluated. The results of this study showed that Pine pollen extract had no significant effect on hatching percent, economic characteristics and the sex differentiation; but, *in ovo* injection of Pine pollen extract decreased the relative expression of IGF-I and IGF-II genes. Relative expression of IGF-I gene in breast tissue and IGF-II in the thigh tissue had a dose response to Pine pollen extract. Injection of 150 mg/L of pine pollen extract significantly increased relative gene expression of IGF-I in breast tissue.

Keywords: In ovo injection، Sex differentiation، Growth، Pine pollen extract

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.29252/rap.8.18.66]