دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

تأثیر تزریق درون‌تخم‌مرغی عصاره گوجه فرنگی بر تمایز جنسیت و ساختار گنادی جوجه‌های گوشتی و عملکرد آنها

عاطفه جمشاسب[1] و مجید متقی‌طلب[2]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان (نویسنده مسوول: mottaghi2002@yahoo.co.uk)
تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۷
صفحه: ۸۶ تا ۹۵

چکیده

دستکاری جنسیت با استفاده از تزریق مهارکننده‌های آروماتاز در تخم‌مرغ، با هدف تولید درصد بالاتر جنس نر به‌دلیل رشد سریع‌تر و ضریب تبدیل بهتر از جمله مواردی است که درسال‌های اخیر مورد توجه محققان و تولیدکنندگان قرار گرفته است. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تزریق عصاره آب‌ای و الکلی گوجه‌فرنگی (به عنوان آنتی‌آروماتاز گیاهی) بر تمایز جنسیت، جوجه‌درآوری و عملکرد جوجه‌های گوشتی انجام شد. ششصد عدد تخم‌مرغ نطفه دار به شش تیمار، چهار تکرار و ۲۵ تخم‌مرغ در هر تکرار، تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: تزریق دو سطح عصاره آبی گوجه‌فرنگی به ترتیب ۰/۳ و ۰/٦ میلی‌لیتر ($TWE_{0.3}$, $TWE_{0.6}$) و دو سطح عصاره الکلی گوجه‌فرنگی با سطوح مشابه ($TAE_{0.3}$, $TAE_{0.6}$) و تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (Shame Group : SG) و گروه شاهد بدون تزریق (Cont) بودند. تزریق مواد آزمایشی در روز پنجم انکوباسیون از انتهای باریک تخم مرغ و با استفاده از سرنگ یک میلی‌لیتری انجام شد. بعد از تفریخ، جوجه‌ها تفکیک جنسیت شده و به مدت ٦ هفته به منظور بررسی ساختار گنادی و عملکرد پرورش داده شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که تزریق ۰/۳ میلی‌لیترعصاره الکلی و ۰/٦ میلی‌لیترعصاره آبی گوجه فرنگی، درصد جوجه نر را به طور معنی‌داری افزایش داده ($p<0/05$)؛ در حالی که تأثیر منفی بر درصدجوجه‌درآوری و عملکرد جوجه‌ها نسبت به گروه شاهد ثبت نشد. نتایج دوره پرورش نشان داد که جوجه‌های نر به صورت معنی‌داری مصرف خوراک و افزایش وزن بالاتری داشتند ($p<0/05$). استنتاج نهایی این است که تزریق داخل تخم مرغی عصاره گوجه فرنگی که حاوی فلاونویید با خاصیت آنتی‌آروماتازی است، باعث افزایش درصد جوجه نر و متعاقب آن دستیابی به منافع اقتصادی بیشتر می‌شود. با این حال، برای اظهار نظر دقیق‌تر به تعداد نمونه بافتی و همچنین سطوح مختلفی از عصاره گوجه‌فرنگی به عنوان آنتی‌آروماتاز نیاز است.

واژه‌های کلیدی: عصاره گوجه‌فرنگی، مهارکننده‌های آروماتاز، تمایز جنسیت، عملکرد

مقدمه

تمایز جنسیت فرآیندی منظم و متوالی است که در موجودات عالی به وسیله ژنوتیپ زایگوت تعیین می‌شود. طی این فرآیند گناد نامتمایز به بیضه یا تخمدان تبدیل شده و جنس نر یا ماده کامل به وجود می‌آید. در پستانداران پیش از تعیین جنسیت، گناد موجود یک بافت ابتدایی است که توانایی تمایز به بیضه و همچنین پتانسیل تبدیل شدن به تخمدان را دارد (۴). در پرندگان ترکیب کروموزومی تخمک تعیین‌کننده جنسیت بوده و در زمان لقاح گنادها غیرقابل تشخیص هستند. طی هفته اول در رویان جوجه، گنادهای جنسی نر و ماده رویانی قابل تفکیک نیستند. بعد از این مرحله گناد نر به بیضه و گناد ماده به تخمدان تبدیل می‌شود (۹). در پرندگان، تکامل گناد نامتمایز به بیضه و یا تخمدان، به میزان فعالیت آنزیم آروماتاز بستگی دارد. تعیین جنسیت و فرآیندهای بعدی تمایز با نسبت آندروژن به استروژن کنترل شده و این نسبت به وسیله توقف یا کاهش آنزیم آروماتاز، تغییر می‌کند (۲۵). نسبت آندروژن به استروژن در مهره‌داران به وسیله آنزیم آروماتاز (تنها آنزیم شناخته‌شده‌ای که تبدیل برگشت‌ناپذیر آندرواستندیون و تستوسترون را به‌ترتیب به استرون و استرادیول کاتالیز می‌کند) کنترل می‌شود (۲۰). بیان ژن آنزیم آروماتاز در روز ۵ و ۶ جوجه‌کشی در جنس ماده قابل‌ردیابی است (۲۳). بر مبنای نتایج مطالعات انجام شده، در مراحل اولیه رشد رویانی با تغییر دادن نسبت هورمون‌های جنسی، می‌توان تمایز جنسی را تحت‌تأثیر قرار داد. تجویز بازدارنده‌های آروماتاز از سنتز هورمون استروژن (هورمون عامل ایجاد ساختار تخمدانی و صفات ثانویه جنسی ماده) در ماده‌های ژنتیکی جلوگیری کرده و موجب تولید خروس‌هایی با ژنوتیپ ماده می‌شود (۱۶،۱۹). جوجه‌های ماده تولیدی تحت تأثیر آنزیم آروماتاز، رفتار و ظاهر فیزیکی جنس نر را بروز می‌دهند، دارای بیضه‌های دوطرفه بوده و قادر به اسپرماتوژنز نیز می‌باشند. چنین یافته‌هایی منجر به ارائه این ایده گردید که در مراحل اولیه رشد رویانی با تغییر نسبت هورمون‌های جنسی می‌توان تمایز جنسی را تحت‌تأثیر قرارداد (۷). از جمله آنتی‌آروماتازهای سنتتیک که تاکنون به‌منظور تغییر جنسیت در جوجه‌های گوشتی استفاده شده است فدرازول[1] می‌باشد که تزریق ۰/۱ میلی‌گرم از این آنتی‌آروماتاز در روز ۵ انکوباسیون به داخل کیسه هوایی تخم‌مرغ، منجر به تولید ۷۱/۷۹ درصد جوجه نر شد (۱). در مطالعه‌ای تزریق ۰/۱۵ میلی‌گرم فدرازول در آلبومن تخم‌مرغ قبل از دوره انکوباسیون، منجر به ۹۶/۵ درصد برگشتگی جنسی شد (۳). در مطالعه‌ای دیگر با تزریق ۲ میلی‌گرم ۱- متیل آندرواستندیون[1] در روز ۳ انکوباسیون در مرکز زرده تخم‌مرغ، درجات مختلفی از برگشتگی جنسی طی نمو رویانی ثبت شد (۲۶). نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه‌ی متقی‌طلب و رازانی (۱۵)

1-1-Methyl-andro-stendion

نشان داد که تزریق ۰/۱ میلی‌گرم فدرازول منجر به تولید بیشترین درصد جوجه نر (۷۷/۶۸ درصد) شد. همچنین در نتایج مطالعه حیدری و همکاران (۱۰) با تزریق ۰/۱ میلی‌گرم هیدروکلراید فدرازول ۱۰۰ درصد برگشتگی جنسی مشاهده شد. از آنجایی که بروز تأثیرات جانبی نامطلوب در اثر تزریق آنتی‌آروماتازهای سنتتیک در جوجه‌های تولیدی محتمل است، بنابراین بیشتر تزریق درون تخم‌مرغی مواد و ترکیبات غیرسنتزی با خاصیت آنتی‌آروماتازی توصیه می‌شود. منظور از آنتی‌آروماتازهای غیرسنتزی، مواد طبیعی هستند که به‌صورت ترکیبات بیوشیمیایی در قارچ‌ها، سبزی‌ها، میوه‌ها و سایر گیاهان وجود دارند. فلاونوییدها از جمله ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌آروماتازی هستند که به وفور در گیاهان یافت می‌شوند (۲۲). تاکنون از چندین ماده طبیعی به‌عنوان آنتی‌آروماتاز غیرسنتتیک استفاده شده است. گزارش شده است که تزریق ۰/۱ میلی‌گرم عصاره‌ی سیر و نیز تزریق ۰/۱ میلی‌گرم عصاره‌ی گوجه فرنگی در سفیده تخم‌مرغ در روز ۵ جوجه‌کشی به‌ترتیب منجر به تولید ۸۰/۴۳ درصد و ۷۰/۹۷ درصد جنس نر می‌شود (۸). در مطالعه‌ای دیگر با تزریق ۵۰۰ میکروگرم عصاره چای سبز ۸۰ درصد برگشتگی جنسی گزارش شد (۱۰). فلاونوییدها از جمله ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌آروماتازی می‌باشند که به وفور در گیاهان یافت می‌شوند (۲۷). گوجه‌فرنگی منبع مهم ترکیبات فنولی از جمله کوئرستین، نارینجنین، کامفرول و هگزوز کافیک اسید محسوب می‌شود (۲۸). در میوه‌ی گوجه فرنگی، فلاونوییدها بیشتر در پوست آن ذخیره می‌شود (۲).

بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تزریق عصاره آبی و الکلی گوجه فرنگی به سفیده‌ی تخم‌مرغ در روز ۵ جوجه‌کشی بر تمایز جنسیت، تغییرات گنادها و عملکرد جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

برای تهیه‌ی عصاره‌ی گوجه‌فرنگی، واریته متین از مزرعه کیمیای پردیس واقع در محمدشهر کرج تهیه شد. برای تهیه عصاره، بخش زیرین پوست گوجه‌فرنگی جدا و به سرعت به وسیله ازت مایع یخ زده شد؛ و سپس نمونه‌ها تا روز عصاره‌گیری در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. تمام فرآیند عصاره‌گیری در شرایط نور کم انجام شد. برای تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب به ۶۰ گرم از نمونه گوجه‌فرنگی اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه توسط همزن مخلوط شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه تحت سانتریفیوژ (۷۰۰۰rpm) قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از نمونه به میکروتیوب‌ها منتقل و دوباره مرحله سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۱۰ درجه سلسیوس (۱۴۰۰۰rpm) تکرار شد. بخش سطحی نمونه به عنوان عصاره آبی در مرحله تزریق استفاده شد. برای تهیه عصاره الکلی، پس از اضافه کردن ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول به باقی مانده‌ی نمونه گوجه‌فرنگی، روند کار مشابه با روند عصاره‌گیری آبی تکرار شد (۱۱). آنالیز ترکیبات فنولی در عصاره‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا Breeze HPLC (System,Water, Ma, USA) مجهز به شناساگر UV Visible (Water Dual Absorbance 2487) و ستون SymenteryC18 ۱۵۰ × ۴/۶ میلی‌متر با قطر منافذ ۵ میکرومتر (Waters, Dublin Ireland) انجام شد. جداسازی ترکیبات فنولی با استفاده از دوحلال A (آب حاوی ۰/۱ درصد فرمیک اسید) و B (استونیتریل) و سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه، در طول موج ۲۸۰ نانومتر انجام شد. به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه از عصاره با کروماتوگرام به دست آمده از تزریق استانداردهای مربوطه مقایسه شد و در نهایت غلظت ترکیبات مورد نظر برحسب میلی‌گرم محاسبه شد. در این تحقیق از استاندارد کوئرستین[2] (شرکت Extrasynthese فرانسه) و نارینجنین[3] (شرکت SIGMA) استفاده شد (شکل ۱). ششصد عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار سویه راس، از مزرعه‌ی گروه تولیدی رامسر طیور تهیه شد. تخم‌مرغ‌ها براساس گروه‌بندی تیمارها، نامگذاری شده و در طبقات جداگانه در دستگاه جوجه‌کشی قرار گرفتند. برای تزریق، ششصد عدد تخم‌مرغ به ۶ تیمار و ۴ تکرار تقسیم شدند. در هر تکرار ۲۵ تخم‌مرغ در نظر گرفته شد. تیمارها شامل: ۱- تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (SG :Shame Group) ۲- عصاره آبی گوجه‌فرنگی در دو سطح ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌لیتر ($TWE_{0.3}$, $TWE_{0.6}$) ۳- عصاره الکلی گوجه‌فرنگی در دو سطح ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌لیتر ($TAE_{0.3}$, $TAE_{0.6}$) ۴- گروه شاهد (بدون تزریق). قبل از تزریق، تمام تخم‌مرغ‌ها به روش نوربینی بررسی شدند و تخم‌مرغ‌های بدون نطفه حذف و با تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار جایگزین شدند. تزریق در سفیده و از انتهای باریک تخم‌مرغ با استفاده از سرنگ‌های یک میلی‌لیتری انجام شد. در ابتدا محل تزریق توسط الکل اتیلین ۷۰ درصد ضد عفونی شد و بعد از تزریق منفذ محل تزریق با پارافین مذاب مسدود گردید و سپس تخم‌مرغ‌ها تحت شرایط یکسان در ماشین جوجه‌کشی قرار داده شدند (دمای ۳۷/۲- ۳۷/۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۵۶ درصد). پس از هچ، جوجه‌ها با استفاده از روش پر (Feather sex) تعیین جنسیت شدند. سپس جوجه‌های نر و ماده در قفس‌های جداگانه به ابعاد ۱×۱ متر قرار گرفتند که براساس تیمار، تکرار و جنسیت جوجه‌های مورد نظر شماره‌گذاری شده بودند. سپس پرنده‌ها با استفاده از جیره پایه بر اساس نیازمندی سویه راس (۲۰۱۴) برای سه دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) (جدول ۱) پرورش داده شدند. در هر تکرار جوجه‌های نر و ماده در قفس‌های جداگانه، با تعداد تقریبی ۸ الی ۱۰ جوجه قرار داشتند (به‌علت تفاوت جزئی در مقدار جوجه‌درآوری در هر تیمار). در انتهای دوره پرورش، دو نمونه پرنده با وزن نزدیک به میانگین از هر قفس برای آنالیز لاشه انتخاب شدند. به منظور مطالعات بافت‌شناسی، گنادهای خارج شده به مدت ۲۴ ساعت در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شدند و سپس به الکل ۹۰ درصد انتقال داده شدند. بعد از ۲ ساعت نمونه‌ها به الکل اتیلیک ۷۰ درصد منتقل شدند. آبگیری از بافت گنادها ابتدا با قرار دادن نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد برای فیکس شدن بافت طی ۲ مرحله ۲ ساعته و سپس قرار

1- Fadrozole 2- Querctin 3- Naringenin

گرفتن نمونه‌ها در الکل ۸۰، ۹۰ و ۹۶ درصد، در ۵ مرحله ۱/۵ ساعته انجام شد. برای شفاف کردن بافت، نمونه‌ها در ۳ مرحله به ترتیب یک مرحله ۱ ساعته و ۲ مرحله ۱/۵ ساعته در گزیلول قرار گرفتند. در مرحله آغشتگی از پارافین مذاب استفاده شد تا بافت‌ها نرم و قابل انعطاف شده و در آب باز شوند. پس از مرحله پرداخت نمونه‌ها، آنها را بلوک کرده و سپس آماده برش زدن با دستگاه میکروتوم شدند. برای بلوک کردن نمونه‌ها، بافت به شکلی در پارافین مذاب قرار گرفت که سطح مقطع مورد نظر برای برش به صورت افقی کف قالب قرار گیرد. درجه برش روی ۲ میکرون تنظیم و عمل برش انجام شد. برای رنگ‌آمیزی هم از روش پاتولوژی (H & E) استفاده شد و سپس برای مشاهده تغییرات، نمونه‌ها توسط میکروسکپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ مورد بررسی قرار گرفتند. این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی شامل ۲ بلوک (نر و ماده) و ۶ تیمار آزمایشی اجرا شد. آزمون کای اسکوئر برای تعیین میزان تغییر جنسیت با احتمال ۱ درصد معنی‌داری استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS، رویه GLM انجام، و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام‌گرفت.

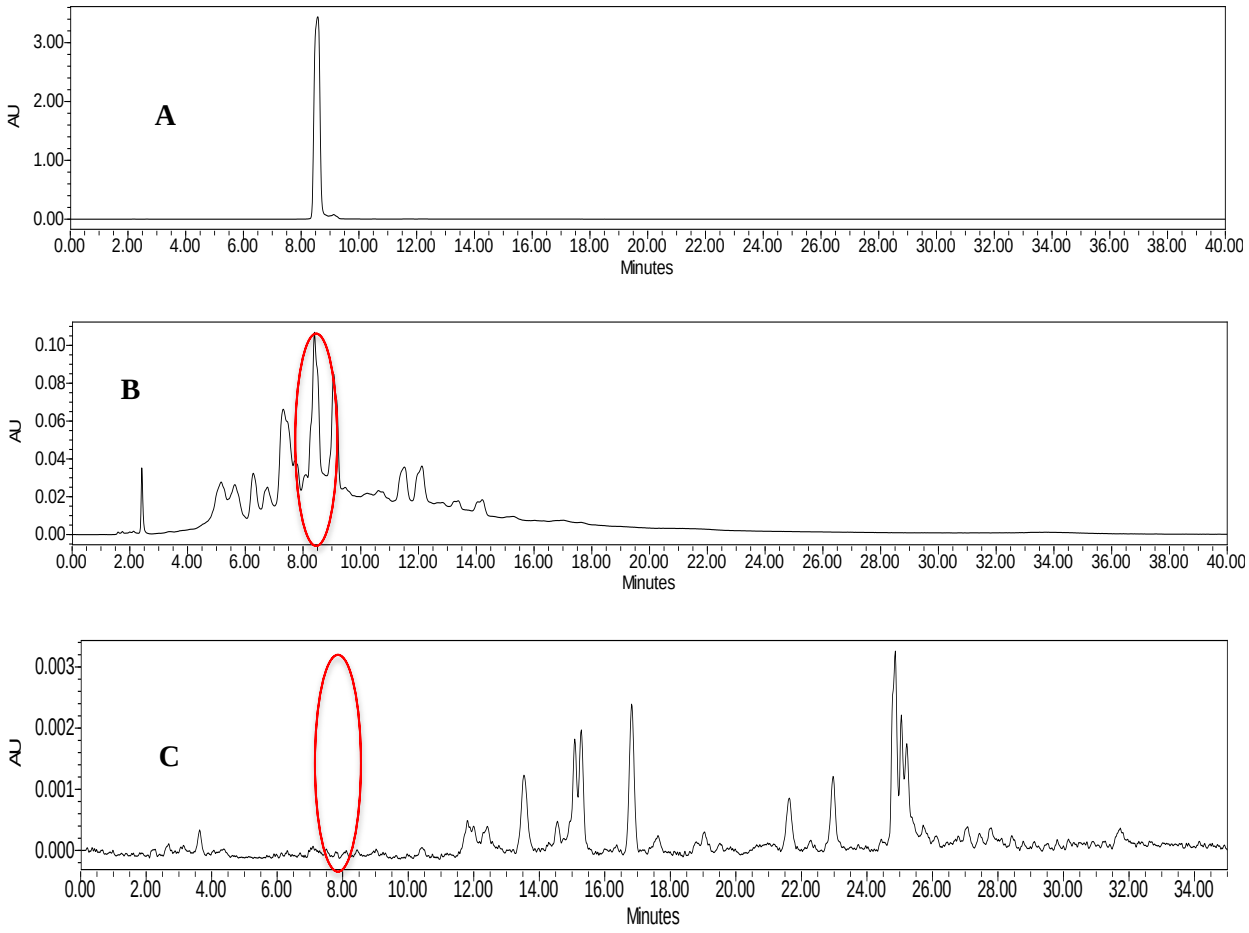
جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the basal diet

اجزا (٪)	دوره‌های پرورش		
	آغازین (صفر تا ۱۰ روزگی)	رشد (۱۱تا ۲۴ روزگی)	پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۴/۰۴	۵۷/۰۸	۶۲/۵۶
کنجاله سویا	۳۹/۰۸	۳۵/۵۴	۳۰/۱۴
روغن گیاهی	۲/۳۳	۳/۲۹	۳/۴۹
دی‌کلسیم فسفات	۲/۰۳	۱/۸۱	۱/۶۵
کربنات کلسیم	۱/۰۴	۰/۹۴	۰/۸۶
مکمل ویتامین[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
متیونین	۰/۳۰	۰/۲۶	۰/۲۳
نمک طعام	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۵
لایزین	۰/۲۱	۰/۱۶	۰/۱۶
جوش شیرین	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۱۳
ترئونین	۰/۰۹	۰/۰۵	۰/۰۴
آنالیز ترکیب شیمیای جیره پایه			
انرژی (Kcal/g)	۲۸۷۰	۲۹۷۰	۳۰۶۰
پروتئین (٪)	۲۲	۲۰/۶۰	۱۸/۶۵
کلسیم (٪)	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۷۹
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۸	۰/۴۳	۰/۳۹
کلر (٪)	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۲
سدیم (٪)	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین٪	۱/۳۴	۱/۲۱	۱/۰۸
متیونین+ سیستئین (٪)	۰/۹۹	۰/۹۱	۰/۸۳
ترئونین (٪)	۰/۹۲	۰/۸۳	۰/۷۴
آرژنین (٪)	۱/۴۸	۱/۳۸	۱/۲۲

۱. هر ۲/۵ کیلوگرم جیره حاوی ۹۰۰۰ IU ویتامین A، ۱/۸ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۳۰ میلی‌گرم نیاسین، ۳ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۰/۱ میلی‌گرم بیوتین، ۲۰۰۰ IU ویتامین D_3، ۱۸IU ویتامین E، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۵۰۰میلی‌گرم کولین‌کلراید، ۱۰ میلی‌گرم کلسیم پانتوتنات، ۱ میلی‌گرم فولیک اسید تأمین می‌شود.

۲. هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز (اکسید منگنز)، ۱۰۰ میلی‌گرم روی (اکسید روی)، ۱۰ میلی‌گرم مس (سولفات مس)، ۱۰ میلی‌گرم ید (کلسیم یدات)، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰ میلی گرم آهن(فروس سولفات) تأمین می‌شود.



شکل ۱- مقایسه مقدار کوئرستین در نمونه استاندارد (A)، عصاره الکلی (B) و عصاره آبی (C). محور عمودی و محور افقی به ترتیب مقادیر فلاونویید و زمان عبور هستند. دایره قرمز روی نمودار، وجود کوئرستین در عصاره گوجه‌فرنگی را نشان می‌دهد.

Figure 1. Comparison of Quercetin content between the standard (A), Alcoholic extract sample (B) and Aqueous Extract Sample (C) in 350 nm by a UV Visible (Water Dual Absorbance 2487) detector. The vertical axis and horizontal axis represent the flavonoid value and retention time, respectively. The red circle on the graph represents the presence of Quercetin in tomato extract sample

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر درصد جوجه‌درآوری و نیز درصد جوجه نر تولیدی در جدول ۲ ارایه شده است. بر اساس نتایج این تحقیق، تزریق ۰/۰۶ میلی‌لیتر عصاره آبی ($TWE_{0.06}$) و ۰/۰۳ میلی‌لیتر عصاره الکلی گوجه‌فرنگی ($TAE_{0.03}$) به ترتیب موجب تولید ۵۷/۱۴ درصد و ۵۵/۶۸ درصد جوجه نر شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ($p<0/05$). نتایج مطالعه فضلی و همکاران (۸) نشان داد که تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره سیر و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره گوجه‌فرنگی به تخم‌مرغ به ترتیب موجب تولید ۸۰/۴۳ و ۷۰/۹۷ درصد جوجه نر شد که در مقایسه با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، از راندمان بیشتری از نظر جوجه نر تولیدی برخوردار بود. گزارش شده است که تأثیر تزریق ۰/۱ میلی‌گرم فدرازول (یک آنتی‌آروماتاز سنتتیک) موجب افزایش معنی‌دار درصد جوجه نر تولیدی (۷۷/۶۸ درصد) می‌شود (۱۵). حیدری و همکاران (۱۰) گزارش کردند تزریق ۰/۱ میلی‌گرم عصاره چای سبز منجر به ۸۰ درصد برگشتگی جنسی در جوجه‌های گوشتی شده است. در مطالعه‌ای دیگر (۱۴) تزریق ۱ میلی‌گرم عصاره سیر (آنتی‌آروماتاز غیرسنتتیک) منتج به تولید ۷۲ درصد جوجه نر شد. در پژوهش شهودی و همکاران (۲۱) درصد جوجه‌های نر تولیدی حاصل از تزریق ۳ میلی‌گرم ترکیب عصاره انگور و روی و ۰/۰۵ میلی‌گرم ترکیب تاموکسیفن و روی به ترتیب ۶۱/۷۳ درصد و ۶۴/۵۸ درصد گزارش شد. با توجه به یافته‌های این پژوهش و نتایج بدست آمده از تحقیقات پیشین (۸،۱۰،۱۴،۱۵،۲۳)، تزریق داخل تخم‌مرغی آنتی‌آروماتازهای غیرسنتتیک قبل از آغاز تمایز جنسی جنین یعنی تزریق در روز ۵ از دوره انکوباسیون، منجر به تغییر جنسیت در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. عوامل مختلفی مانند نوع و سطح ماده تزریقی و همچنین زمان و شرایط تزریق بر درصد جوجه‌های نر تولیدی مؤثرند. هرچه زمان تزریق به شروع فعالیت آنزیم آروماتاز نزدیکتر باشد، تأثیر ممانعت‌کننده آروماتاز بیشتر است (۲۱). درصد جوجه‌ی نر تولیدی در این پژوهش در مقایسه با تحقیقات دیگر (۸،۱۰،۱۲،۱۹) پایین‌تر بود که ممکن است علاوه بر عوامل

مذکور روش عصاره‌گیری نیز تأثیرگذار باشد. عدم رسیدن غلظت آنتی‌آروماتاز در عصاره به حد بهینه در روند عصاره‌گیری، را می‌توان از دلایل بسیار مؤثر بر کمتر بودن درصد جوجه‌ی نر تولیدی در پژوهش حاضر دانست. تیمارهای $TWE_{0.06}$ و $TAE_{0.03}$ تاثیر معنی‌داری از نظر تولید درصد بالاتری از جنس نر در مقایسه با سایر تیمارها داشتند (جدول ۲) ولی تیمار $TWE_{0.06}$ موجب کاهش درصد جوجه‌درآوری در مقایسه با گروه شاهد گردید. همچنین بیشترین و کمترین درصد جوجه‌درآوری به‌ترتیب مربوط به تیمارهای $TWE_{0.03}$ و $TAE_{0.06}$ بود. این یافته‌ها با نتایج متقی‌طلب و ولی‌زاده (۱۴) مطابقت داشت که گزارش کردند تزریق ۱میلی‌گرم عصاره سیر، موجب کاهش درصد جوجه‌درآوری می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر میانگین درصد جوجه‌درآوری در اثر تزریق درون تخم‌مرغی آنتی‌آروماتاز سنتتیک فدرازول، ۶۸/۹۶ درصد گزارش شد (۱۵). در پژوهش شهودی و همکاران (۲۱) نیز تفاوت معنی‌داری از نظر درصد جوجه‌درآوری بین تیمارها وجود داشت که بیشترین و کمترین درصد جوجه‌درآوری به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد و تیمار ترکیب نانوذرات عصاره هسته انگور و روی بود. در پژوهش فضلی و همکاران (۸) تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از نظر درصد جوجه‌درآوری مشاهده نشد، که با یافته‌های حاضر همسو نبود. در تحقیق حاضر، تزریق سطوح مختلف عصاره گوجه‌فرنگی در مقایسه با گروه شم، ضمن تاثیر معنی‌دار در تولید درصد بالاتری جنس نر، بر درصد جوجه‌درآوری اثر نامطلوب معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

جدول ۲- تأثیر عصاره گوجه فرنگی بر درصد جوجه درآوری و جوجه نر تولیدی در جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of tomato extracts on hatchability and male ratio of broiler chickens

تیمار	جوجه‌درآوری (٪)	جوجه نر تولیدی (٪)
SG	۹۰^{ab}	۴۵/۳۵^{b}
$TWE_{0.3}$	۹۵^{a}	۴۶/۸۱^{b}
$TWE_{0.6}$	۸۵^{b}	۵۷/۱۴^{a}
$TAE_{0.3}$	۸۸^{ab}	۵۵/۶۸^{a}
$TAE_{0.6}$	۸۵^{b}	۵۰/۵۹^{b}
Cont.	۹۴^{a}	۴۴/۰۹^{b}
P-Value	۰/۰۱۱	۰/۰۳۲

a-b: حروف غیرهمسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

SG، تزریق ۰/۱میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک؛ $TWE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TWE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TAE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛ $TAE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛Cont، بدون تزریق (شاهد)

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر میانگین خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی (بدون تفکیک جنسیتی) در سنین مختلف در جدول ۳ خلاصه شده است. در مورد تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن، در دوره‌های رشد و پایانی و همچنین کل دوره (۱ تا ۴۲ روزگی) تفاوت معنی‌داری به‌دست نیامد ($p>0/05$). مشابه این نتایج در مورد ضریب تبدیل خوراک نیز بین تیمارهای آزمایشی ثبت شد ($p>0/05$). عملکرد جوجه‌ها به تفکیک جنسیتی در دوره‌های مختلف پرورشی، در جدول ۴ نشان داده شده است. مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه در جنس نر نسبت به جنس ماده، در دوره‌های رشد و پایانی به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) بالاتر بود، اما در مورد ضریب تبدیل خوراک بین دو جنس، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). فضلی و همکاران (۸) با بررسی اثر آنتی‌آروماتازهای سنتتیک تاموکسیفن[1] و کلومیفن سیترات[2] و آنتی‌آروماتازهای طبیعی عصاره سیر و گوجه‌فرنگی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، بدین نتیجه رسیدند که بین تیمارها و جنسیت‌ها از نظر میانگین افزایش وزن، میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (۸). اویدو رندون و همکاران (۱۷) ضمن بررسی تأثیر جنس بر وزن زنده نتیجه گرفتند که جنس نر عملکرد بالاتری ارایه نمود که با نتایج تحقیق حاضر نیز مطابقت دارد. نشان داده شده است فراسنجه افزایش وزن بدن در کل دوره پرورشی (از ۱ تا ۴۲ روزگی)، بین جوجه‌های هچ شده از تخم‌مرغ‌های تیمار شده با فدرازول و جوجه‌های گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی جنس ماده از لحاظ وزنی به طور معنی‌داری سبک‌تر از جنس نر بود (۳). تزریق انواع آنتی‌آروماتازها در یک مطالعه نشان داد که عملکرد جوجه‌های تولیدی در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت، اگرچه اختلاف وزن بدن بر خلاف FCR بین جنس نر و ماده معنی‌دار بود (۱۵). در پژهش شهودی و همکاران (۲۱) با بررسی اثر آنتی‌آروماتازی تاموکسیفن و عصاره هسته انگور، تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه بدن و ضریب تبدیل خوراک در بین تیمارهای مختلف در هفته‌های مختلف پرورشی به‌دست نیامد که با نتایج حاصل از این تحقیق همسو است. گزارش شده است تزریق داخل‌تخم‌مرغی عصاره چای سبز و فدرازول، به‌طور معنی‌داری موجب افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌های هچ شده در کل دوره پرورشی می‌شود اما ضریب تبدیل غذایی کل دوره پرورشی را تحت‌تأثیر قرار نمی‌دهند (۱۰). نشان داده شده است که تزریق فدرازول و فاکتور رشد، منجر به بروز تفاوت معنی‌دار در مصرف خوراک و افزایش وزن بدن جوجه‌های حاصل در مقایسه با جوجه‌های گروه شاهد می‌شود، اما بر ضریب تبدیل تاثیر معنی‌دار نداشته است (۱۲).

1- Tamoxifen

2- Clomiphene Citrate

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از ۱ تا ۴۲ روزگی

Table 3. Effect of different treatments on performance of broiler chickens from 1 to 42 days of age

تیمار	مصرف خوراک روزانه (روز/ پرنده/ گرم)			افزایش وزن روزانه (روز/ پرنده / گرم)			ضریب تبدیل غذایی		
	۰تا۲۱ روزگی	۲۱تا۴۲ روزگی	۰تا۴۲ روزگی	۰تا۲۱ روزگی	۲۱تا۴۲ روزگی	۰تا۴۲ روزگی	۰تا۲۱ روزگی	۲۱تا ۴۲ روزگی	۰تا۴۲ روزگی
SG	۶۲/۹۸	۱۴۸/۷۳	۱۰۵/۹۷	۳۳/۵۲	۷۶/۹۳	۵۵/۱	۱/۸۸	۱/۹۳	۱/۹۲
$TWE_{0.3}$	۵۲/۷۲	۱۳۶/۲۳	۹۶/ ۹۸	۳۱/۷۷	۷۸/۰۱	۵۴	۱/۸۲	۱/۷۴	۱/۷۶
$TWE_{0.6}$	۵۸/۹۸	۱۴۶/۱۹	۱۰۲/۵۹	۳۰/۹۹	۷۹/۰۳	۵۵/۲	۱/۹۲	۱/۸۷	۱/۸۸
$TAE_{0.3}$	۵۶/۴۷	۱۳۸/۵۱	۹۶/۹۹	۳۰/۶۷	۷۶/۳۱	۵۳/۱	۱/۸۵	۱/۸۱	۱/۸۱
$TAE_{0.6}$	۵۹/۸۹	۱۴۰/۸۶	۱۰۰ /۳۴	۳۲/۶۹	۷۶/۴۱	۵۴/۱	۱/۸۵	۱/۸۴	۱/۸۴
Cont.	۵۸/۵۹	۱۴۵/۱۱	۱۰۱ /۷۸	۳۶/۰۲	۸۱/۰۲۲۸	۵۸/۱	۱/۶۳	۱/ ۷۸	۱/۷۳
SME	۲/۱۷	۳/۲۷	۲/۷۳	۱/۳۷	۱/۸۳	۱/۳۵	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۲۳
P-Value	۰/۴۰	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۰۸	۰/۳۸	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۳۱	۰/۰۵۷

SG، تزریق ۰/۱میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک؛ $TWE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TWE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TAE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛ $TAE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛Cont، بدون تزریق (شاهد)

جدول ۴- اثر جنس بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از سن ۱ تا ۴۲ روزگی

Table 4. Effect of sex on performance of broiler chickens from 1 to 42 days of age

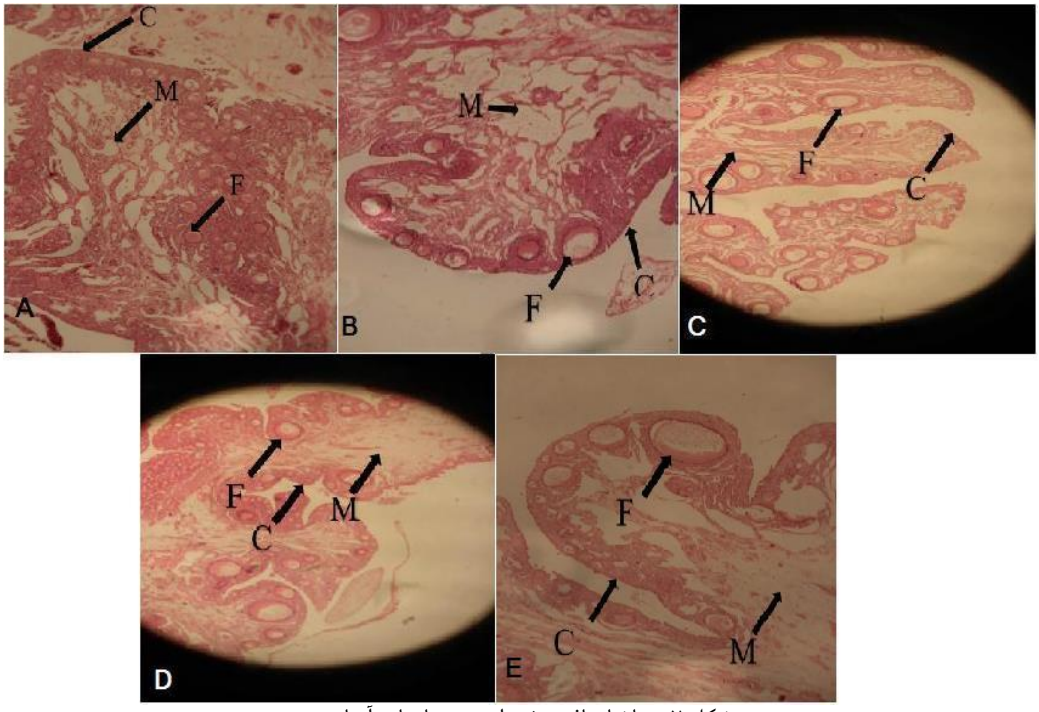
جنسیت	مصرف خوراک (روز/ گرم / پرنده)			افزایش وزن روزانه (روز/ پرنده/ گرم)			ضریب تبدیل غذایی		
	۰تا۲۱ روزگی	۲۱ تا ۴۲ روزگی	۰ تا ۴۲ روزگی	۰تا۲۱ روزگی	۲۱ تا ۴۲روزگی	۰ تا ۴۲ روزگی	۰ تا ۲۱ روزگی	۲۱ تا ۴۲ روزگی	۰ تا ۴۲ روزگی
نر	۵۹/۵۱	۱۵۰/۴۲[a]	۱۰۴/۱[a]	۳۳/۲۵	۸۲/۳۷[a]	۵۷[a]	۱/۸۱	۱/۸۲	۱/۸۱
ماده	۵۸/۷۰	۱۳۴/۷۹[b]	۹۶/۱[b]	۳۱/۹۷	۷۳/۶۲[b]	۵۲[b]	۱/۸۵	۱/۸۴	۱/۸۴
SEM	۱/۲۵	۲/۱۵	۱/۵۷	۰/۷۹	۱/۰۶	۰/۷۸	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۳
P-Value	۰/۶۵	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۲۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۵۲/۰	۰/۷۶	۰/۶۱

a-b: حروف غیرهمسان در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

SG، تزریق ۰/۱میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک؛ $TWE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TWE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره آبی؛ $TAE_{0.3}$، تزریق ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛ $TAE_{0.6}$، تزریق ۰/۶ میلی‌لیتر عصاره الکلی؛Cont، بدون تزریق (شاهد)

رشد مورفولوژیکی گنادها در پرندگان و پستانداران مشابه است با این تفاوت که در پرندگان ماده گناد چپ بعد از تمایز به تخمدان چپ و به طور کامل رشد نموده و موجب تبدیل مجاری مولرین به اویدکت می‌شود ولی گناد سمت راست تحلیل می‌رود (۵). در پرندگان، تکامل گناد نامتمایز به بیضه و یا تخمدان، به میزان فعالیت آنزیم آروماتاز بستگی دارد. تعیین جنسیت و فرآیندهای بعدی تمایز، با نسبت آندروژن به استروژن کنترل شده و این نسبت در شرایط توقف و یا کاهش آنزیم آروماتاز تغییر می‌کند (۲۵). براساس تاثیر ماده‌ی مهارکننده‌ی آروماتازی مورد استفاده در تزریق درون تخم‌مرغی، سه درجه برگشتگی جنسی در جوجه‌های ماده جنس برگشته قابل مشاهده است: ۱- درجه ضعیف: گناد راست به بیضه‌ای کوچکتر از حالت معمول تبدیل شده و گناد چپ به تخمدانی کوچک و با سطح صاف متمایز می‌گردد. ۲- درجه متوسط: گناد راست به شکل بیضه‌ای کوچک و گناد چپ به صورت تخمدان- بیضه (ovotestis) ظاهر می‌شود. ۳- درجه قوی: گناد راست به صورت بیضه کوچک باقی می‌ماند، گناد چپ نیز به بیضه متمایط می‌شود ولی از گناد راست بزرگتر است و از سطح نسبتا صافی برخوردار می‌باشد (۲۴). شکل‌های ۲ و ۳ نتایج مربوط به بافت‌شناسی نمونه‌های تخمدان و بیضه مربوط به تیمارهای آزمایشی را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر، بین نتایج حاصل از تحلیل آماری برگشتگی جنسی، عملکرد اقتصادی و مطالعات بافت‌شناسی برای بررسی تغییرات در ساختار گنادی تخمدان و بیضه در نمونه‌های مورد بررسی به منظور تأکیید بر برگشتگی جنسی مطابقت کاملی وجود ندارد؛ بنابراین به بررسی و مطالعه عمیق‌تری نیاز است تا خطای ناشی از عوامل تأثیرگذاری همچون اشتباه پژوهشگر، محدودیت در انتخاب نمونه و کم بودن داده‌های آزمایشی برطرف شود. در مطالعه‌ای با تزریق داخل تخم‌مرغی فدرازول، تأثیر معنی‌داری روی تمایز بیضه در جنس ژنتیکی مشاهده نشد، در حالی که در جنس ماده‌ی ژنتیکی گناد راست به‌صورت بیضه و گناد چپ به صورت ساختار تخمدان- بیضه مشاهده شد (۲۴). مطالعه‌ای دیگر درجات مختلفی از برگشتگی جنسی گزارش کرد (در برخی نمونه‌ها گناد چپ به تخمدان و گناد راست به بیضه تمایز یافت) و مشاهدات میکروسکوپی از هر دو گناد، لوله‌های سمینی‌فروس را آشکار نمود و در مواردی از ماده‌های جنس برگشته، لوله‌های سمینی‌فروس در اندازه‌ای بزرگ با ساختاری تحلیل رفته مشاهده شد (۳). همچنین در تحقیق متقی‌طلب و ولی‌زاده (۱۴) با تزریق آنتی‌آروماتازهایی مانند: تاموکسیفن، کلومیفن سیترات و آلفاهیدروکسی‌اندروستندیون درجه ضعیف و متوسطی از برگشتگی جنسی در برخی از نمونه‌های گناد مشاهده شد. در نمونه‌هایی که درجه ضعیف برگشتگی جنسی گزارش شد، افزایش حجم طناب‌های مدولاری و دیواره لاکونای ضخیم مشاهده شد. در نمونه‌های گناد حاصل از تزریق ۱- متیل‌آندرواستندیون، کاهش کورتکس بافت

تخمدان نمونه‌ی جنس برگشته و امتداد اپیتلیوم سطحی به داخل طناب‌های مدولاری مشاهده شد (۲۶). مطالعه‌ای به منظور بررسی اثر تزریق درون تخم‌مرغی آنتی‌آروماتاز سنتتیک و غیرسنتتیک در تولید جوجه‌های جنس‌برگشته، درجه قوی از برگشتگی جنسی مشاهده شد و در تعدادی از نمونه‌های مورد مطالعه بیضه دوطرفه گزارش گردید (۱۳). در تحقیق حاضر، به‌نظر می‌رسد که به دلیل نمونه‌برداری محدود، سطح قدرت مهارکننده آروماتاز در عصاره مورد استفاده به‌طور کامل میسر نشده است (به‌دلیل شباهت فنوتیپ ماده‌های جنس برگشته با نرهای ژنتیکی) و بنابراین قضاوت دقیق در مورد درجات برگشتگی جنسی در جوجه‌های ماده و مقایسه آنها با نتایج تحقیقات دیگر نیاز به مطالعه بیشتر دارد.



شکل ۲- ساختار بافت تخمدان در تیمارهای آزمایشی

Figure 2. Ovarian tissue structure in experimental treatments, Follicle(F), Medulla (M), Cortex(C)

A :تیمار شاهد (بدون تزریق)

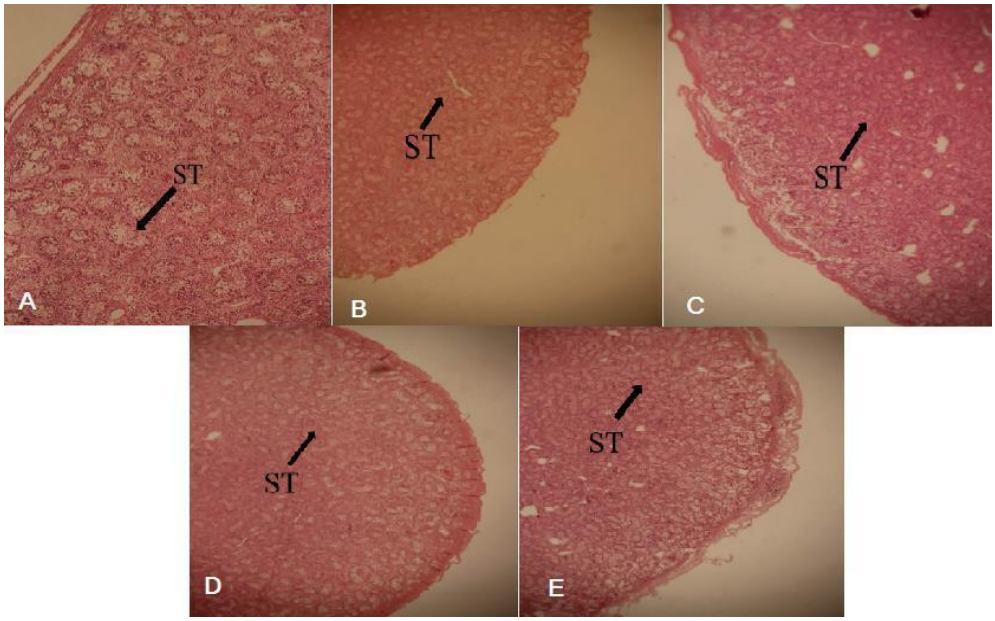
B: تیمار $TWE_{0.3}$

C: تیمار $TWE_{0.6}$

D: تیمار $TAE_{0.3}$

E: تیمار $TAE_{0.6}$

با یافته‌های تحقیقات مشابه، می‌توان اینچنین استنتاج نمود که ترکیبات طبیعی گیاهی با خواص آنتی‌آروماتازی می‌توانند با آنتی‌آروماتازهای سنتتیک، بدون تأثیر نامطلوب بر رشد پرنده از دوران جنینی تا پایان دوره‌ی پرورشی (که از جمله موارد بسیار حائز اهمیت برای مرغداران صنعتی می‌باشد)، رقابت نمایند. هرچند که در این تحقیق افزایش قابل ملاحظه‌ای در تغییر نسبت تعداد جوجه‌های نر به ماده در مقایسه با مطالعات مشابه، مشاهده نشد اما با تمرکز روی نتایج به دست آمده و مقایسه عملکرد تیمارهای مختلف، می‌توان نتیجه گرفت که با بهینه‌سازی شرایطی همچون شرایط نگهداری نمونه برای تهیه عصاره، روش عصاره‌گیری و تصحیح حجم تزریق به‌منظور افزایش قدرت آنتی‌آروماتازی عصاره تهیه شده از گوجه‌فرنگی، می‌توان به درصد بالاتری از تعداد جوجه‌های نر در گله دست یافت.



شکل ۳- ساختار بافت بیضه در تیمارهای آزمایشی
Figure 3. Testicle tissue structure in experimental treatments
Seminiferous Tubules (ST)
A: تیمار شاهد (بدون تزریق)
B: تیمار $TWE_{0.3}$
C: تیمار $TWE_{0.6}$
D: تیمار $TAE_{0.3}$
E: تیمار $TAE_{0.6}$

منابع

1. Abinawanto, K., K. Shimada, V. Yoshida and N. Saito. 1996. Effects of aromatase inhibitor on sex differentiation and level of P450 17a and P450arom messenger ribonucleic acid of gonads in chicken embryos. General and Comparative Endocrinology, 102: 241-246.
2. Arnoud, B., E. Schijlen and R.D. Hall. 2007. Metabolic engineering of flavonoids in tomato (Solanum lycopersicum): The potential for metabolomics. Metabolomics, 3: 399-412.
3. Bruke, 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.
4. Caple, B., B. Jennifer and S. Jennifer. 2001. The battle of the sexes: Sry and the control of testis organogenesis. Novartis Foundation Symposium, 244: The Genetics and Biology of Sex Determination London, UK, 1-3 May.
5. Clinton, M. 1998. Sex determination and gonadal development: A Bird Eye View. Journal of Experimental Zoology, 281: 457-465.
6. Clinton, M. and D. McBird. 2003. Molecular genetics of sex determination and gonadal development in poultry. MAFF Final Project Report, LS2003, www.defra.gov.uk./science
7. Elbrecht, A. and R.G. Smith. 1992. Aromatase enzaym activity and sex determination in chicken. Department of Animal Biochemistry and Molecular Biology, reportd 467.
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. Halverson, J.L. and J. Dvorak. 1993. Genetic control of sex determination in birds and the potential for its manipulation. Poultry Science, 72: 890-896.
10. Heidari Hadibigloo, A., B. Navidshad, S. Nikbin and F. Mirzaei Aghjegheshlag. 2018. Eeffect of in ovo injection of green tea extract and Fadrozole Hydrochloride on sex reversal and muscle stracture of broiler chickens. Research on Animal Production, 9: 18-25 (In Persian).
11. Lana, M.M. and L.M.M. Tijskens. 2005. Effects of cutting and maturity on antioxidant activity of fresh-cut tomatoes. Food Chemistry, 97: 203-211.

12. 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
13. 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: 20-27.
14. Mottaghitalab, M. and E. Valizade. 2002. Garlic extraction and aromatase interaction on sex differentiation in chicks. Proceeding of WPSA spring meeting, York. DK, 9-10 April.
15. 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 (In Persian).
16. Nakabayashi, O., H. Kikuchi, T. Kikuchi and S. Mizuno. 1998. Differential expression of genes for aromatase and estrogen receptor during the gonadal development in chicken embryos. Journal of Molecular Endocrinology, 20: 193-202.
17. Oviedo-Rondon, E.O., C.A. Fritts and P.W. Waldroup. 2002. Accuracy of Omnipor II estimations for amino acid requirements of broilers. International Journal of Poultry Science, 1: 119-126.
18. Queralt. V., A. Jáuregui, G. Lecce, D.C. Andrés-Lacueva and R.M. Lamuela Raventós. 2011. Screening of the polyphenol content of tomato-based products through Accurate-Mass Spectrometry (HPLC–ESI-QTOF). Food Chemistry, 129: 877-883.
19. Seralini, G.E. and S. Moslemi. 2001. Aromatase inhibitors: Past, Present and Future. Molecullar and Cellular Endocrinology, 178: 117-131.
20. Simpson, E.R., D.M. Micheal, V.R. Agarwal, M.M. Hinshelwood, S.E. Bulum and Y. Zhao. 1997. Cytochromes P450 11: Expression of the CYP19 (Aromatase) gene: An Unusuall Case of Alternative Promoter Usage. Federation of American Societies for Experimental Biology, 11: 29-36.
21. Shohoudi, Z., M. Mottaghitalab and M. Golshekan. 2019. Effect of in-ovo injection of nanoparticles of grape seed extract on sex differentiation and gonadal structure in broiler chicks. Iranian Journal of Agricultural Science, 49: 495-504 (In Persian).
22. Sumpter, J.P. and A. Fostier. 1996. Effects of flavonoids on aromatase activity an in vitro study. Journal Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 57: 215-23.
23. Thorne, M.H. 1997. A Review of Sex determination and differentiation in poultry. Australian Poultry Science Symposium, 1-7.
24. Vaillant, S., M. Dorizzi, C. Pieau and N. Richard. 2003. Sex reversal and aromatase in chicken. Journal of Experimental Zoology, 290: 727-740.
25. Villapando, I., G. Sanchez, I. Sanchez, E. Pedernera and H. Villafan. 2000. The P450 Aromatase gene is asymmetrically expressed in a critical period for gonadal sexual differentiation in the chick. Gen Comp Endocrinol, 117: 325-334.
26. Wartenberg, H., H. Lenz and R.D. Schweikert. 1992. Sexul differentiation and the germ cell in sex reversed gonads after aromatase inhibition in the chicken embryo. Journal of Poultry Science, 24: 1-6.
27. Wenying, R., Z. Zhenhua, W. Hongwei, Z. Lei and Z. Li. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. Medicinal Research Reviwes, 23: 519-534.
28. Zhang, C. X., S.C. Ho, Y.M. Chen, L.H. Fu, S.Z. Cheng and F.Y. Lin. 2009. Greater vegetable and fruit intake is associated with a lower risk of breast cancer among Chinese women. International Journal of Cancer, 125: 181-188.

The Effect of *In-ovo* Injection of Tomato Extract on Sex Differentiation and Gonadal Structure of Broiler Chicks and Their Performance

Atefeh Jamshab[1] and Majid Mottaghitalab[2]

1- Graduate student, Department of Animal Sciences, University of Guilan
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Guilan
(Corresponding author: mottaghi2002@yahoo.co.uk)
Received: April 27, 2019 Accepted: July 29, 2019

Abstract

I*n-ovo* injection of anti-aromatase compounds with the aim of achieving a higher male to female sex ratio, higher economic impact, higher growth rates and better feed conversion ratio in broiler industry has been taken into consideration by researchers. The present study was conducted to find out if *in ovo* injection of aqueous and alcoholic extract of tomato can affect sex differentiation, sex ratio, hatchability, and performance of broiler chickens Therefore, 600 fertilized eggs were divided into 6 treatments, each with 4 replicates and 25 eggs per each replicate. Treatments included in ovo injection of tomato aqueous extract on the levels of 0.3 and 0.6 mL ($TWE_{0.3}$, $TWE_{0.6}$), tomato alcoholic extract on the same levels ($TAE_{0.3}$, $TAE_{0.6}$), in ovo injection of 0.1 mL of saline (Sham group: SG), and control group without any injection (Cont). On day 5 of incubation, the eggs were injected at the narrow end of the eggs using 1mL-syringes. Hatched chicks were reared (separated-sex) for 6 weeks to evaluate their general performances. Complete randomized block design was used and data analysis was performed using SAS software. The results showed that injection of 0.3 ml of alcoholic extract and 0.6 ml of aqueous extract lead to a significant increase in male chicken percentage at hatching compared to control group ($P < 0.05$), without any negative effect on hatchability and performance ($P > 0.05$). Data obtained from rearing period revealed significant improvement in some performance parameters such as average daily gain and average daily feed intake ($P < 0.05$). In conclusion, *in ovo* administration of tomato extract which contains flavonoids with anti-aromatase properties, caused higher percentage of male chicks followed by higher profit achievement. However, for more precise statement, there should be more tissue samples for histological studies and more diverse doses of tomato extracts as compounds containing anti-aromatase substances.

Keywords: Tomato Extract, Aromatase Inhibitors, Sex Differentiation, Performance