مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۶، شماره ۱، ۱۴۰۰، ۱۱۴-۱۰۳
مقاله پژوهشی

اثر تزریق داخل تخم‌مرغی هیدروکلرید فدرازول، عصاره گیاه گزنه و عصاره قارچ تکمه‌ای بر برگشتگی جنسی، عملکرد، لیپیدها و گلبول‌های سفید خون و ساختار عضلانی جوجه‌های گوشتی

توحید مکرمی[۱]، بهمن نویدشاد[۲]، نعمت هدایت‌ایوریق[۲]، فرزاد میرزائی‌آقجه‌قشلاق[۲]

[۱] *دانش آموخته علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران*
[۲] *گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران*

تاریخ دریافت: ۲۹ شهریور ماه ۱۳۹۹، **تاریخ پذیرش:** ۲ آذر ماه ۱۳۹۹
10.22059/jvr.2020.251193.2759 https://dorl.net/dor/20.1001.1.20082525.1400.76.1.12.0

چکیده

زمینهٔ مطالعه: ایجاد تغییر در جنسیت جنین تخم مرغ‌های با جنسیت ماده توسط ترکیبات مهارکننده آروماتاز امکان پذیر بوده و باعث بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی می‌شود.

هدف: در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل تخم‌مرغی ۰/۱ میلی‌گرم از مهار کننده‌های آروماتازی شامل عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره برگ گیاه گزنه و هیدروکلرید فدرازول بر تغییر جنسیت جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌کار: تعداد ۳۳۶ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار تولیدی از مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ به چهار گروه تقسیم شده و در ابتدای روز پنجم انکوباسیون مورد تزریق داخل تخم‌مرغی قرار گرفتند. یک گروه نیز به عنوان گروه شاهد با تزریق آب مقطر در نظر گرفته شد. جوجه‌های هچ شده در قالب یک طرح کامل تصادفی با ۴ تیمار و ۶ تکرار به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند.

نتایج: تزریق ۰/۱ میلی‌گرم داروی هیدروکلرید فدرازول، عصاره قارچ تکمه‌ای و گزنه به ترتیب باعث ایجاد ۱۰۰، ۶۶/۶۷ و ۳۷/۵ درصد تغییر جنسیت شد ($P<۰/۰۵$). در کل دوره پرورش جوجه‌های حاصل از تیمار تزریق داخل تخم‌مرغی هیدروکلرید فدرازول و عصاره قارچ تکمه‌ای، خوراک مصرفی روزانه و افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به گروه شاهد و عصاره گیاه گزنه داشتند ($P<۰/۰۵$). داروی هیدروکلرید فدرازول باعث کاهش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول VLDL سرم شد ($P<۰/۰۵$)، ولی در مورد کلسترول، کلسترول HDL و کلسترول LDL اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). تعداد گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای باعث افزایش معنی‌دار میانگین تعداد رشته‌های عضلانی و میانگین قطر رشته‌های عضلانی نسبت به سایر تیمارها شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های این مطالعه تأیید کننده اثر مثبت تزریق درون تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای بر برگشتگی جنسی و افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن در کل دوره پرورش جوجه‌های گوشتی بود.

کلمات کلیدی: مهارکننده‌های آروماتازی، تغییر جنسیت، عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره گیاه گزنه، هیدروکلرید فدرازول

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: بهمن نویدشاد، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
پست الکترونیکی: bnavidshad@uma.ac.ir

مقدمه

مسلماً ایجاد تغییر در نسبت‌های جنسی طیور می‌تواند ایده‌ای جالب توجه باشد به طوری که بتوان از گله‌های مادر تخم گذار تنها جوجه‌های ماده تولید کرد و یا بخش اعظم جوجه‌های گوشتی تولید شده در گله‌های مرغ مادر گوشتی از جنس نر باشند. جوجه‌های گوشتی نر در مقایسه با جوجه‌های ماده سرعت رشد بالاتر و ضریب تبدیل بهتری دارند (۱۰).

تمایز جنسیت یک فرآیند منظم و متوالی است که در موجودات عالی به وسیله ژنوتیپ تخم بارور یا زایگوت تعیین می‌شود. طی این فرآیند گناد نامتمایز به بیضه یا تخمدان تبدیل شده و جنس نر یا ماده کامل به وجود می‌آید. برخلاف پستانداران، پرندگان جنس ماده از لحاظ ژنتیکی ناجورگامت (کروموزوم جنسی ZW) و جنس نر جورگامت (کروموزم جنسی ZZ) می‌باشند (۱۸). کروموزوم W سنتز آروماتاز و در نتیجه تولید استروژن را کنترل می‌کند (۲۵،۲۶). تفاوت جنسیت در نتیجه بیان آنزیم آروماتاز در گناد سمت چپ در ۶/۵ روزگی دوره جنینی و تولید استروژن از تستوسترون است (۲۵،۳۴). در نرها هر دو گناد به بیضه تبدیل می‌شوند. تکامل بیضه‌ها و تمایز جنسیت بیشتر وابسته به تنظیم‌های هورمونی از طریق هورمون آنتی‌مولارین و آندروژن ترشح شده از بیضه‌ها است (۲۶). آنتی‌مولارین از سلول‌های سرتولی ترشح شده و با تحلیل مجرای مولر از تکامل دستگاه تولید مثل ماده ممانعت به عمل می‌آورد (۳۰). 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 (۲۸).

تجویز بازدارنده‌های آروماتاز از سنتز هورمون استروژن (هورمون مسئول ساختار تخمدانی و صفات ثانویه جنسی ماده) در پرنده‌های با ژنوتیپ ماده جلوگیری کرده و باعث تولید خروس‌های با ژنوتیپ ماده می‌شوند (۲۷) و تزریق آنتی‌آروماتاز غیراستروئیدی فدرازول در روز پنجم انکوباسیون به تخم‌مرغ، باعث برگشتگی جنسی می‌شود (۲۱). هیدروکلراید فدرازول از طریق بازدارندگی آنزیم آروماتاز باعث می‌شود گناد در حال تکامل در جنین با ژنوتیپ ماده به بیضه تمایز یابد (۱،۳۱). بیشتر آزمایشات انجام گرفته در مورد تزریق درون تخم مرغی هیدروکلراید فدرازول تأیید کننده اثر تقریباً صد درصدی آن بر برگشتگی جنسی و تولید جوجه‌های ماده با فنوتیپ نر بوده‌اند (۱۹). با این وجود هیدروکلراید فدرازول دارویی است که بیشتر در درمان سرطان پستان در انسان کاربرد داشته و هزینه بالا مانع کاربرد وسیع آن در صنعت طیور می‌گردد و بیشتر در آزمایشات از آن به عنوان یک تیمار استاندارد برای مقایسه اثرات آنتی‌آروماتازی سایر ترکیبات استفاده می‌شود.

آنتی‌آروماتازهای غیرسنتزی، آنتی‌آروماتازهای طبیعی می‌باشند 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 (۱۴،۲۹). در بخش هوایی گیاه گزنه چندین فلاونول گلیکوزید شناسایی شده است (۶) که دارای خاصیت آنتی‌آروماتازی می‌باشند. اسیدهای چرب غیراشباع با بیش از یک پیوند دوگانه مانند اسید لینولئیک و اسید لینولئیک کانژوگه مهار کنندگان اصلی آروماتاز در قارچ‌های دکمه‌ای سفید می‌باشند (۷).

وجود اثرات آنتی‌آروماتازی در بعضی از عصاره‌های گیاهی گزارش شده است. برای مثال گزنه با نام علمی *Urtica dioica* L از خانواده Urticaceae با داشتن بازدارنده آروماتازی مانند اسید ارسولیک و اکتادکادی‌انوئیک اسید قادر به مهار آنزیم آروماتاز است (۱۳). قارچ تکمه‌ای (*Agricus bitorquis*) متعلق به تیره Agaricaceae نیز حاوی اسیدلینولئیک (C18:2) و اسید لینولئیک کانژوگه (CLA) است که دارای فعالیت آنتی آروماتازی هستند (۷).

با این وجود، علی رغم مطالعات متعدد در مورد اثرات آنتی‌آروماتازی گیاه گزنه و قارچ دکمه‌ای (۶،۷،۱۳)، مطالعات چندانی در مورد اثر تزریق درون تخم‌مرغی این ترکیبات بر برگشتگی جنسی جنس ماده به نر در جوجه‌های گوشتی یافت نمی‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گزنه و قارچ تکمه‌ای بر تغییر جنسیت جوجه‌های گوشتی ماده، عملکرد و تغییرات ظاهری تارهای عضلانی و پارامترهای خونی جوجه‌های حاصل انجام گرفت.

مواد و روش کار

مراحل تهیه عصاره‌های گیاهی، تزریق درون تخم‌مرغی، جوجه‌کشی و پرورش جوجه‌های گوشتی در گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. مراحل بافت شناسی در آزمایشگاه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد و تعیین پارامترهای لیپوپروتئینی سرم در آزمایشگاه تشخیص پزشکی فارابی واقع در شهر اردبیل انجام گرفت.

تهیه عصاره‌های گیاهی: برای تهیه عصاره گزنه از روش خیساندن ۴۰۰ گرم گیاه خشک گزنه و ۱۰ کیلوگرم قارچ تکمه‌ای تازه استفاده شد (۲). مراحل کار مشتمل بود بر آسیاب کردن به قطر یک میلی‌متر، خیساندن با الکل اتیلیک ۵۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت و چند مرحله صاف کردن محلول حاصله

توسط کاغذ صافی و در نهایت تغلیظ با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (۲). برای افزایش دقت کار این عمل در پنج تکرار انجام شد. سپس میانگین میزان ماده خشک موجود در هر میلی‌لیتر از عصاره گزنه و قارچ تکمه‌ای به ترتیب ۰/۷۰۶ و ۰/۷۶۳ گرم محاسبه شد.

برای تعیین بهترین غلظت تزریق عصاره‌های مورد استفاده یک عملیات پیش آزمون انجام گرفت و غلظت مناسب تزریق تعیین شد. تمایز گنادها در جنین مرغ حدود ۶/۵ روزگی دوره جنینی رخ می‌دهد و زمان تزریق ترکیبات آنتی‌آروماتاز باید قبل از این زمان باشد (۲۱،۲۵،۳۴). مطالعاتی مبنی بر مؤثر بودن تزریق ترکیبات آنتی‌آروماتاز از محل کیسه هوای تخم‌مرغ در دست است (۱۶). برای هر یک از تیمارها تعداد ۱۵ عدد تخم‌مرغ تخصیص داده شد. قبل از عمل تزریق درون تخم‌مرغی بخش پهن پوسته تخم مرغ توسط الکل اتانول ضد عفونی گردید و سوراخی به قطر تقریبی ۰/۱ میلی‌متر در آن ایجاد شد. تزریق توسط سرنگ یک میلی‌لیتری انسولین (۲۱) در روز پنجم جوجه‌کشی و از انتهای پهن تخم‌مرغ در داخل کیسه هوایی انجام گرفت. رقیق کردن عصاره‌ها بر اساس مقدار ماده خشک مورد نظر در ۰/۱ میلی‌لیتر انجام شد.

نتایج پیش آزمون در جدول ۱، نشان دهنده اثر منفی تزریق سطوح بیش از ۵۰۰ میکروگرم عصاره‌های گیاهی بر میزان جوجه‌درآوری تخم‌مرغ‌ها بود. با توجه به هدف اصلی تحقیق که تعیین اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره گزنه و عصاره قارچ در تغییر جنسیت جوجه‌های گوشتی بود، به منظور دستیابی به بهترین نتیجه و با توجه به اختلاف کم، درصد جوجه‌درآوری بین سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم ماده خشک در ۰/۱ میلی‌لیتر محلول تزریقی، برای آزمایش اصلی از مقدار ۵۰۰ میکروگرم ماده خشک در ۰/۱ میلی‌لیتر استفاده شد.

در آزمایش اصلی، تعداد ۳۳۶ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ از مزرعه مرغ مادر آرتا جوجه اردبیل تهیه گردید. تخم‌مرغ‌ها به چهار گروه تقسیم شد 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. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: ۱- تزریق داروی هیدروکلراید فدرازول (Sigma, USA) به مقدار ۱۰۰ پی پی ام در ۰/۱ میلی‌لیتر (که با اضافه کردن آب مقطر به لوله حاوی ۱۰ میلی‌گرم فدرازول به دست آمد). ۲- تزریق عصاره قارچ حاوی ۵۰۰ میکروگرم ماده خشک در ۰/۱ میلی‌لیتر. ۳- تزریق عصاره گزنه حاوی ۵۰۰ میکروگرم ماده خشک در ۰/۱ میلی‌لیتر. ۴- تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان گروه شاهد.

برای انجام تزریق درون تخم‌مرغی، ابتدا محل تزریق (انتهای پهن تخم‌مرغ) به وسیله الکل اتیلیک ضدعفونی شد، سپس با استفاده از ابزار دندان‌پزشکی استیل اسکیلر داسی، 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 (۲۱). پس از عملیات تزریق تخم‌مرغ‌ها سریعاً به دستگاه جوجه‌کشی برگردانده شدند. 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 (دوره ستری: دما =۳۷/۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت = ۶۰ درصد، چرخش در هر ساعت ۹۰ درجه. دوره هچر: دما =۳۷/۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت =۶۵ درصد، بدون چرخش) تنظیم شد.

جدول۱. درصد هچ تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار با تزریق درون تخم‌مرغی سطوح مختلف عصاره قارچ و گزنه.

نوع عصاره		میکروگرم ماده خشک موجود در ۰/۱ میلی لیتر				
		۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰
قارچ تکمه‌ای		۸۰	۸۶	۸۰	۶۷	۷۳
گزنه		۸۰	۸۰	۷۳	۵۰	۲۸
۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر	۸۰					
بدون تزریق	۸۶					

جدول ۲. مواد خوراکی جیره‌های غذایی آزمایشی و ترکیب شیمیایی آن‌ها.

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

در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر تأمین می‌شود: [۱]ویتامین A: ۱۸۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3: ۴۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E: ۷۲ میلی‌گرم، ویتامین K3: ۴ میلی‌گرم، ویتامین B1: ۳/۵۵ میلی‌گرم، ویتامین B12: ۰/۰۳ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم: ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین: ۵۹/۴ میلی‌گرم، ویتامین B6: ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B9: ۲ میلی‌گرم، کولین کلراید: ۱گرم. [۲]Mn ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، Zn: ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، Fe: ۱۰۰ میلی‌گرم ، Cu: ۲۰ میلی‌گرم، I: ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و Se: ۰/۴ میلی‌گرم.

جدول ۳. درصد برگشتگی جنسی ماده به نر نسبت به شاهد.

شاهد	۰/۰۰^{c}
عصاره قارچ تکمه‌ای	۶۶/۶۷^{ab}
عصاره گزنه	۳۷/۵۰^{bc}
هیدرو کلراید فدرازول	۱۰۰/۰۰^{a}
SEM	۱۷/۶
P value	۰/۰۱۰

^{c,b,a}در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P\leq$۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

پس از اتمام انکوباسیون در پایان روز ۲۱، جوجه‌های هچ شده هر گروه وزن شده و پس از تعیین جنسیت از روی میزان رشد پرها، پرنده‌های با ژنوتیپ ماده به وسیله علامت‌گذاری پرها با رنگ مشخص گردیدند. از لحاظ فنوتیپی، جوجه‌های یک روزه سویه راس ۳۰۸ با ژنوتیپ نر، دارای پرهای اولیه کوتاه در ناحیه بال نسبت به ژنوتیپ ماده هستند. تمام پرنده‌های مربوط به هر گروه آزمایشی (هر دو جنس) به سالن پرورش انتقال یافتند.

جوجه‌ها بر اساس گروه‌بندی انجام شده در دستگاه جوجه‌کشی در قالب یک طرح کامل تصادفی با ۴ تیمار (شامل جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌های تزریق شده با عصاره قارچ، عصاره گزنه، فدرازول و گروه شاهد) و ۶ تکرار در قفس‌ها توزیع شدند. به دلیل تفاوت‌ها در درصد هچ، تعداد جوجه‌های هر قفس لزوماً برابر نبود و در هر قفس بین ۱۰ تا ۱۲ قطعه جوجه قرار داده شد.

جدول ۴. شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی در پاسخ به تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ و عصاره گزنه.

	شاهد	عصاره قارچ	عصاره گزنه	فدرازول	SEM	*P* value
خوراک مصرفی (روز/پرنده/گرم)						
دوره آغازین	۲۷/۴۹	۲۸/۷۷	۲۸/۷۲	۲۸/۰۷	۰/۸۱۶	۰/۶۵۴
دوره رشد	۷۵/۱۸	۷۹/۶۴	۷۷/۳۴	۸۲/۱۹	۱/۸۹۲	۰/۰۸۶
دوره پایانی	۱۵۲/۵۵^{b}	۱۷۰/۶۹^{a}	۱۵۶/۰۵^{b}	۱۷۲/۱۲^{a}	۴/۶۸۲	۰/۰۱۴
کل دوره	۹۶/۹۸^{b}	۱۰۵/۷۵^{a}	۹۹/۴۵^{b}	۱۰۷/۰۰^{a}	۲/۱۰۷	۰/۰۰۸
افزایش وزن روزانه (روز/پرنده/گرم)						
دوره آغازین	۱۸/۸۳	۲۰/۴۶	۱۹/۲۲	۱۹/۶۹	۰/۶۷۸	۰/۳۸۴
دوره رشد	۴۷/۹۲^{c}	۵۲/۶۲^{ab}	۴۸/۸۹^{bc}	۵۴/۱۳^{a}	۰/۴۶۴	۰/۰۲۰
دوره پایانی	۸۱/۳۷^{c}	۹۰/۹۸^{ab}	۸۴/۰۱^{bc}	۹۴/۶۵^{a}	۲/۵۱۰	۰/۰۰۴
کل دوره	۵۵/۳۳^{b}	۶۱/۰۲^{a}	۵۶/۸۰^{b}	۶۲/۸۸^{a}	۱/۲۳۶	۰/۰۰۱
ضریب تبدیل غذایی						
دوره آغازین	۱/۴۷	۱/۴۱	۱/۴۹	۱/۴۲	۰/۰۲۳	۰/۰۵۸
دوره رشد	۱/۵۷	۱/۵۲	۱/۵۸	۱/۵۲	۰/۰۲۴	۰/۱۴۳
دوره پایانی	۱/۸۷	۱/۸۸	۱/۸۶	۱/۸۲	۰/۰۲۶	۰/۳۸۰
کل دوره	۱/۷۵	۱/۷۴	۱/۷۵	۱/۷۰	۰/۰۱۹	۰/۲۸۷

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

جدول ۵. اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ و عصاره گزنه بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی.

	شاهد	عصاره قارچ	عصاره گزنه	فدرازول	SEM	*P* value
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳۳/۵۰	۱۴۱/۱۲	۱۴۱/۰۰	۱۳۵/۳۷	۵/۶۱۹	۰/۶۹۷
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۹۳/۸۸^{a}	۸۸/۲۵^{a}	۸۹/۰۰^{a}	۵۸/۵۷^{b}	۸/۸۶۰	۰/۰۴۱
HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۹۹/۷۵	۱۰۰/۰۰	۹۹/۵۰	۱۰۱/۳۷	۴/۷۹۹	۰/۷۸۲
LDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۳/۲۵	۲۴/۸۷	۲۴/۷۵	۲۲/۱۲	۱/۹۷۲	۰/۷۲۵
VLDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۸/۷۷^{a}	۱۷/۶۵^{a}	۱۷/۸۰^{a}	۱۱/۷۱^{b}	۱/۷۷۲	۰/۰۴۱

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

جدول ۶. اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ و عصاره گزنه بر درصد گلبول‌های سفید و هماتوکریت خون جوجه‌های گوشتی.

	شاهد	عصاره قارچ	عصاره گزنه	فدرازول	SEM	*P* value
هتروفیل	۲۴/۱۴	۲۴/۸۶	۳۱/۶۲	۲۷/۱۷	۳/۰۹۵	۰/۲۶۹
لمفوسیت	۷۳/۱۴	۷۹/۴۳	۶۵/۳۷	۶۹/۳۳	۳/۳۱۵	۰/۳۱۷
منوسیت	۲/۷۱۴	۲/۷۱۴	۳/۰۰	۳/۵۰	۰/۵۹۱۷	۰/۷۸۴
هماتوکریت	۳۱/۹۷	۳۳/۴۴	۳۲/۲۰	۲۹/۲۴	۱/۲۵۱	۰/۱۹۴

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۷. اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ و عصاره گزنه بر تراکم و قطر رشته‌های عضلانی جوجه‌های گوشتی.

	شاهد	عصاره قارچ	عصاره گزنه	فدرازول	SEM	*P* value
میانگین تعداد رشته‌های عضلانی (دایره‌ای با قطر ۱۰۰میکرومتر)	۱۶/۱۰^{b}	۱۹/۹۹^{a}	۱۶/۲۳^{b}	۱۶/۰۹^{b}	۰/۴۵۷	۰/۰۰۰۱
میانگین قطر رشته‌های عضلانی (میکرومتر)	۸/۶۹^{c}	۱۲/۲۴^{a}	۱۰/۲۱^{b}	۸/۶۰^{c}	۰/۳۳۸	۰/۰۰۰۱

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

تمام گروه‌ها به مدت ۴۲ روز با جیره‌های یکسان (جدول ۲) که برای سه دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) و با توجه به احتیاجات غذایی جوجه‌گوشتی سویه راس ۳۰۸ بر اساس کاتالوگ و با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA تنظیم شده بودند (جدول ۱)، تغذیه شدند.

اندازه‌گیری وزن زنده، میزان مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در پایان دوره‌های آغازین، رشد و پایانی، پس از ۶ ساعت گرسنگی و با فرض حداقل ۲ ساعت زمان مورد نیاز برای ثبت داده‌ها انجام گرفت که به این ترتیب حداقل ۸ ساعت گرسنگی مورد نیاز توصیه شده برای تخلیه مجرای گوارش اعمال گردید (۳۱). در انتهای دوره پایانی، همزمان با ثبت صفات تولیدی و پس از اعمال گرسنگی، عملیات خونگیری از ورید بال ۲ پرنده که به طور تصادفی از میان پرنده‌های ماده علامت‌گذاری شده انتخاب شدند انجام گرفت (۳۱). مقدار یک میلی‌لیتر از هر نمونه خون در لوله آزمایش حاوی EDTA ریخته شد و بلافاصله به یخچال انتقال یافت تا مورد شمارش تفریقی لکوسیت‌ها قرار گیرد (۱۱). مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر خون نیز به لوله‌های آزمایش بدون ماده ضد انعقادی انتقال داده شده و در دمای معمولی اتاق قرار گرفت تا منعقد شود. سپس نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم نمونه‌ها جدا شد. فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل تری‌گلیسرید، کلسترول، کلسترول HDL، کلسترول LDL و کلسترول VLDL با دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi 902, Japan) و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شدند.

پس از خونگیری، پرندگان کشتار شده و با بررسی گنادها، جنسیت آن‌ها تعیین گردید. مشاهده گناد نر به معنی خطا در تعیین جنسیت در سن یک روزگی بود که البته در کل نمونه‌های بررسی شده تعداد آن‌ها قابل چشم پوشی بود. گنادهای ماده در یکی از دو فرم تخمدان و یا بیضه تکامل نیافته طبقه بندی شدند که مورد دوم به عنوان شاخصی از برگشتگی جنسی در نظر گرفته شده و ثبت گردید. همچنین نمونه‌های عضله سینه از لاشه آن‌ها برداشت شد و پس از تثبیت شدن در فرمالین بافری ۱۰ درصد، مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی توسط زایلل، غوطه‌وری در پارافین و قالب‌گیری بر روی آن‌ها انجام شد (۱۷). به روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی پارافینی برش‌هایی با ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر تهیه شد و با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) و تری‌کروماسون رنگ‌آمیزی لام‌ها انجام شد. رنگ‌آمیزی تری‌کروماسون به‌منظور مطالعه بافت همبندی و محتوای رشته‌های کلاژن بین دستجات و رشته‌های عضلانی انجام گرفت (۱۷).

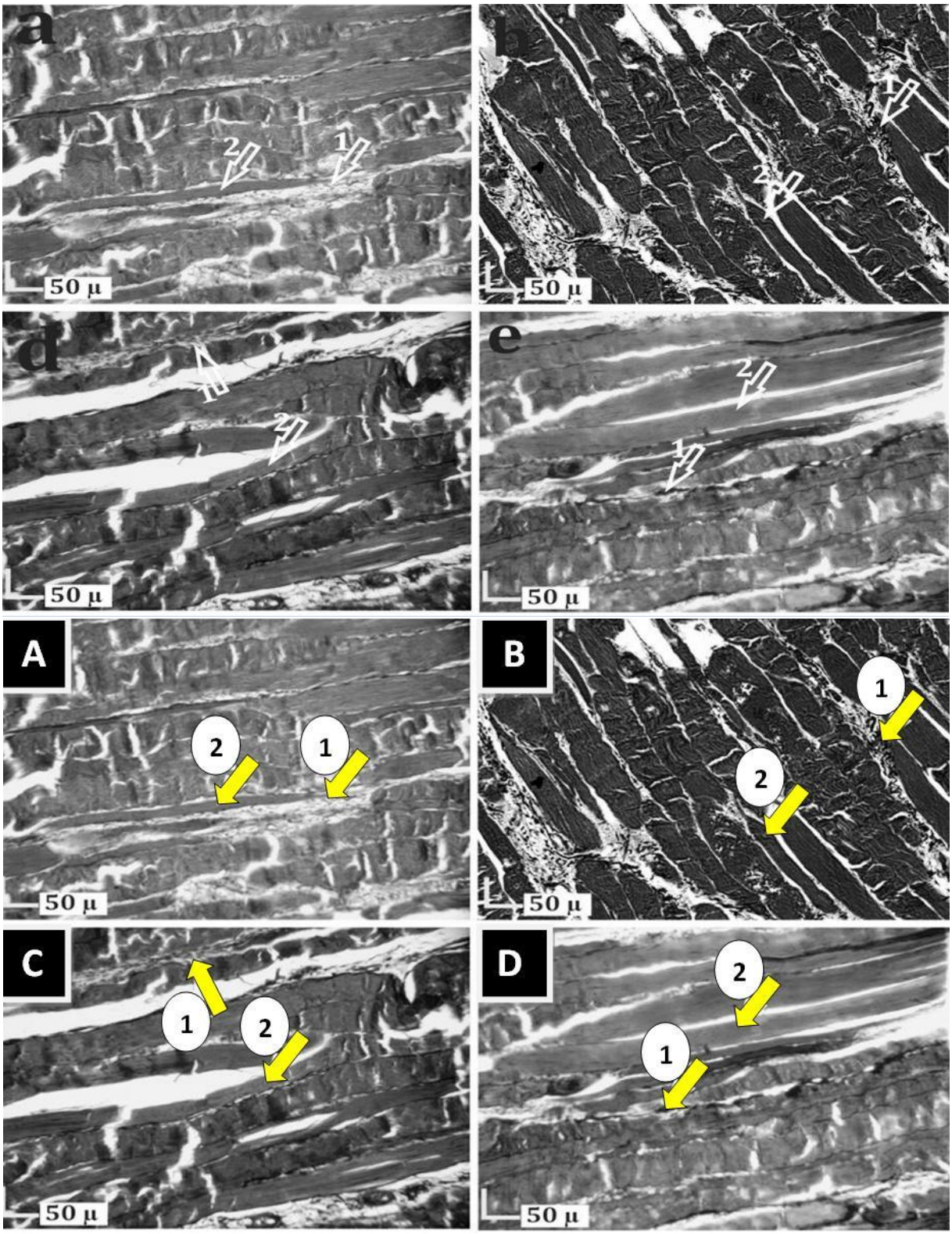
در بررسی میکرومتری با استفاده از میکروسکوپ نوری و لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم افزار Dino Capture 2، (A.423; Dino-Lite, Hsinchu, Taiwan) شمارش تعداد رشته‌های عضلانی در مقیاس ثابت (دایره‌ای با قطر ۱۰۰ میکرومتر) و قطر رشته‌های عضلانی نیز برحسب میکرومتر در ۱۰ زمینه از هر مقطع بافتی لام برای هر گروه اندازه‌گیری شدند (۱۸).

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM، توسط نرم افزار آماری SAS, 9.03 تجزیه و میانگین‌ها تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. از آزمون مربع کای برای بررسی میزان تغییر جنسیت ماده به نر در سطح احتمال معنی دار یک درصد استفاده شد.

نتایج

تأثیر تزریق داخل تخم‌مرغی تیمارهای مختلف بر میزان برگشتگی جنسی جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ آورده شده است. آزمون مربع کای در سطح احتمال ۱ درصد، نشان‌دهنده برگشتگی جنسی معنی‌داری بود (X^2 = ۱۹/۷۲۵)، به طوری‌که داروی هیدروکلراید فدرازول باعث ۱۰۰ درصد برگشتگی جنسی ماده به نر شد، حال آنکه عصاره قارچ تکمه‌ای و عصاره گزنه به ترتیب باعث ایجاد ۶۶/۶۷ و ۳۷/۵ درصد تغییر جنسیت ماده به نر شدند (P<۰/۰۱).

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی: تأثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره گزنه و داروی فدرازول بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ ارائه شده است. در دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)، از لحاظ خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)، اختلاف معنی‌داری در خوراک مصرفی بین تیمارهای مختلف وجود نداشت (P>۰/۰۵). افزایش وزن روزانه در جوجه‌های حاصل از تخم‌مرغ‌هایی که مورد تزریق هیدروکلراید فدرازول و عصاره قارچ تکمه‌ای قرار گرفته بودند نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (P<۰/۰۵)،



تصویر ۱. تصویر برش طولی ساختار بافتی عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. افزایش تراکم دستجات (۲) و رشته‌های عضلانی و متعاقباً فشرده شدن و کاهش نسبی بافت همبند بین آن‌ها (۱) در گروه عصاره قارچ (B) در مقایسه با گروه‌های شاهد (A)، گزنه (C) و فدرازول (D) قابل توجه است. رشته‌های تیره رنگ محتوای کلاژن بافت همبندی در عضله را نشان می‌دهد.

اما تفاوتی در ضریب تبدیل غذایی تیمارها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) بیشترین خوراک مصرفی مربوط به گروه‌های هیدروکلراید فدرازول و عصاره قارچ بود ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان افزایش وزن روزانه طی دوره پایانی در گروه‌های هیدروکلراید فدرازول مشاهده شد و اختلاف مشاهده شده با گروه گزنه و شاهد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). گروه عصاره قارچ تکمه‌ای نیز در دوره پایانی افزایش وزن بالاتری نسبت به گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$) ولی با گروه عصاره گزنه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. ضریب تبدیل غذایی در دوره پایانی بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). در کل دوره پرورش (۰ تا ۴۲ روزگی)، بیشترین مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه در تیمارهای هیدروکلراید فدرازول و عصاره قارچ ثبت شد ($P<۰/۰۵$)، اما ضریب تبدیل غذایی تیمارهای مختلف در کل دوره با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند ($P>۰/۰۵$).

اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی: تأثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ، عصاره گزنه و داروی هیدروکلراید فدرازول بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ آورده شده است. اثرات فیزیولوژیکی ناشی از تغییر جنسیت جنین با تزریق داروی فدرازول در دوره جنینی، باعث کاهش میزان تری‌گلیسرید و VLDL سرم جوجه‌ها شد ($P<۰/۰۵$)، ولی در مورد کلسترول، HDL و LDL اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت ($P>۰/۰۵$).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر گلبول‌های سفید و هماتوکریت خون: اثر تزریق داخل تخم‌مرغی تزریق فدرازول هیدروکلراید، عصاره برگ گزنه و عصاره قارچ تکمه‌ای بر گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ نشان داده شده است. بر اساس یافته‌های این آزمایش، در اثر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره گزنه و هیدروکلراید فدرازول تفاوت معنی‌داری از نظر گلبول‌های سفید و هماتوکریت خون مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

تأثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره گیاه گزنه و داروی هیدروکلراید فدرازول بر تعداد و قطر رشته‌های عضلانی بافت سینه: تأثیر تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای، عصاره گیاه گزنه و هیدروکلراید فدرازول بر تعداد رشته‌های عضلانی، تعداد رشته‌های عضلانی و قطر رشته‌ی عضلانی برحسب میکرومتر، در جدول ۷ آورده شده است. بر این اساس، تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای باعث افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد رشته‌های عضلانی نسبت به سایر تیمارها شده است ($P<۰/۰۵$). همچنین میانگین قطر رشته‌های عضلانی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و جوجه‌های ماده حاصل از تزریق درون تخم‌مرغی عصاره قارچ قطر رشته‌های عضلانی بزرگتری نسبت به سایر گروه‌های آزمایش داشتند ($P<۰/۰۵$). تزریق درون تخم‌مرغی عصاره گیاه گزنه نیز اندازه قطر رشته‌های عضلانی جوجه‌های ماده را افزایش داد، به طوری‌که پس از تیمار عصاره قارچ، دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P<۰/۰۵$).

نتایج رنگ‌آمیزی تری‌کروماسون نشان داد که میزان بافت همبند بین دستجات عضلانی و بین رشته‌های عضلانی (پری‌میزیوم و اندومیزیوم) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه متفاوت می‌باشد. همان‌طور که در تصویر ۱ مشاهده می‌شود ساختار عضلانی گروه عصاره قارچ تکمه‌ای در مقایسه با سایر گروه‌ها تراکم دستجات عضلانی بیشتری را نشان داد. با این افزایش، بافت همبند بین دستجات عضلانی با تراکم کمتری مشاهده شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین برگشتگی جنسی به ترتیب با تزریق داخل تخم‌مرغی هیدروکلراید فدرازول، عصاره قارچ تکمه‌ای و عصاره گزنه حاصل گردید. از آنجا که در اکثر پژوهش‌های انجام گرفته در مورد برگشتگی جنسی از هیدروکلرید فدرازول به عنوان گروه شاهد مثبت استفاده شده است، مطالعات زیادی در مورد اثر آن در دست است، اما در مورد اثرات مهار کننده آروماتازی ترکیبات با منشاء گیاهی مطالعات محدود هستند.

گزارش شده است که تزریق داخل تخم‌مرغی هیدروکلرید فدرازول و هیدروکلرید فدرازول به همراه فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۱ به میزان ۱۰۰ نانوگرم در هر تخم‌مرغ در روز چهارم انکوباسیون به ترتیب منجر به تولید جوجه‌هایی با فنوتیپ ۹۵/۸۳ و ۱۰۰ درصد خروس می‌شود (۱۹). این مطالعه موافق با اثر مشاهده شده با تزریق داخل تخم‌مرغی هیدروکلراید فدرازول در مطالعه حاضر است که منجر به صد در صد برگشتگی جنسی شد. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که تزریق ۰/۱ میلی‌گرم هیدروکلراید فدرازول در مقایسه با سطوح دیگر و نیز آنتی‌آروماتاز

استروئیدی α-۱۴ هیدروکسی ۱۷،۶،۳، آندرواستون‌تریون (NKSO1) به صورت معنی‌داری موجب افزایش درصد جوجه‌های نر می‌شود (۲۰). در هر دو مطالعه، مصرف هیدروکلراید فدرازول باعث بهبود افزایش وزن زنده گردید (۱۹،۲۰). در مطالعه حاضر نیز در کل دوره پرورش در دو گروه با تزریق درون تخم‌مرغی هیدروکلراید فدرازول و نیز عصاره قارچ تکمه‌ای بهبود رشد مشاهده شد.

شاید مطالعه حاضر یکی از اولین مطالعات در مورد اثر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای بر برگشتگی جنسی جوجه‌های گوشتی باشد. اثرات مهارکنندگی آروماتاز قارچ تکمه‌ای ناشی از اسیدلینولئیک (C18:2) و اسید لینولئیک کانژوگه (CLA) موجود در آن، پیش از این در انسان مشخص شده است (۷). گزنه نیز دارای ترکیبات مهار کننده آروماتاز مانند اسید ارسولیک و اکتادکادی‌انوئیک اسید است (۱۳). در مطالعه حاضر تزریق درون تخم‌مرغی عصاره برگ گزنه باعث ۳۷/۵ درصد برگشتگی جنسی شد.

با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که تزریق داخل تخم‌مرغی مهار کننده‌های آروماتازی قبل از آغاز تمایز جنسیت جنین در سن ۵ روزگی جنینی با مهار آنزیم آروماتاز از تکوین تخمدان در جنین ماده جلوگیری کرده و باعث ایجاد بیضه در جنین ماده ژنتیکی می‌شود و میزان تغییر جنسیت ماده به نر به مقدار اثر گذاری ترکیب مهارکننده آروماتاز مورد استفاده بستگی دارد. تغییر جنسیت ایجاد شده در اثر تیمار تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار در روز پنجم انکوباسیون با هیدروکلراید فدرازول و عصاره قارچ تکمه‌ای منجر به افزایش معنی‌دار تعداد خروس‌ها در این تیمارها شد که با افزایش میزان خوراک مصرفی روزانه و همچنین افزایش وزن روزانه همراه بود.

در جوجه‌های گوشتی، ذخایر چربی بدن تحت تأثیر هورمون‌های جنسی بوده و چربی ذخیره شده در محوطه شکمی در جنس ماده بیشتر است و نظر به نقش شناخته شده VLDL در انتقال چربی سنتز شده از کبد به بافت چربی، مشاهده سطوح بالاتر این لیپوپروتئین در خون جنس ماده تعجب‌آور نخواهد بود (۶). در مطالعه حاضر اگر چه اختلاف معنی‌داری بین سطح VLDL سرم گروه شاهد و تیمارهای تحت تأثیر عصاره گزنه و عصاره قارچ تکمه‌ای مشاهده نشد، اما سطح پایین‌تر VLDL در گروه تزریق شده با هیدروکلراید فدرازول که بالاترین میزان برگشتگی جنس ماده به نر را نیز نشان داد، می‌تواند تأیید کننده تغییر متابولیسم چربی در بدن پرندگانی باشد که متحمل برگشتگی جنسی شده‌اند.

نتایج حاصل از بافت‌شناسی عضله سینه نشان داد که تزریق داخل تخم‌مرغی عصاره قارچ تکمه‌ای باعث افزایش معنی‌دار در میانگین تعداد رشته‌های عضلانی نسبت به سایر تیمارها شده است. همچنین میانگین قطر رشته‌های عضلانی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و تیمار عصاره قارچ و عصاره گزنه دارای رشته‌های عضلانی با قطر بزرگتری بودند. تغییرات ژنتیکی در ماهیچه سینه جوجه‌های گوشتی حاصل تغییر در تعداد و اندازه سلول‌های ماهیچه‌ای یا میوفیبریل‌ها است و وزن بدون چربی بدن حیوانات به تعداد میوفیبریل‌ها در ماهیچه‌ها بستگی دارد (۱۲). جوجه‌های گوشتی از سویه‌های با رشد سریع ۱۵ تا ۲۰ درصد میوفیبریل بیشتری در مقایسه با جوجه‌های از نژادهای با رشد کند دارند (۳،۴،۱۵،۲۳) که باعث تفاوت در تراکم میوفیبریل‌ها در واحد سطح مقطع ماهیچه می‌شود. علاوه بر اثر ژنتیک بر ساختار ماهیچه‌ای مرغ، گزارشات متعددی نیز در مورد اثر جنسیت بر ویژگی‌های ماهیچه‌ای جوجه‌های گوشتی در دست است که مؤید نتایج مشاهده شده در این مطالعه است. گزارش شده است که پرنده‌های نر دارای فیبرهای عضلانی بزرگتری در مقایسه با پرنده‌های ماده یا نرهای عقیم شده هستند (۳۰). به نظر می‌رسد تفاوت‌هایی در تعداد کل فیبرهای ماهیچه‌ای بین پرنده‌های ماده و نر وجود دارد و ماهیچه در پرنده‌های نر دارای تعداد بیشتری فیبر عضلانی در مقایسه با پرنده‌های ماده است. چنین تفاوت‌هایی در تعداد فیبرهای ماهیچه‌ای دراز بازکننده انگشت پا در مرغ گزارش شده است (۳۰). جوجه‌های گوشتی نر تراکم فیبرهای ماهیچه‌ای بالاتری در عضله سینه خود در مقایسه با جوجه‌های گوشتی ماده دارند (۲۴).

تفاوت‌ها در تعداد و اندازه فیبرهای ماهیچه‌ای عمدتاً تحت کنترل هورمون‌های جنسی است و به ویژه به نظر می‌رسد که تفاوت در تعداد فیبر ماهیچه‌ای بین جنس نر و ماده در صورتی معنی‌دار خواهد بود که پیش از تولد، تفاوت‌ها در سطح هورمون‌های آندروژنی طی دوره‌های شکل‌گیری فیبرهای ماهیچه‌ای، به حد کافی بالا باشد (۸،۲۳). همچنین، مصرف تستوسترون در دوره‌های پس از تولد به صورت مستقیم و یا غیر مستقیم می‌تواند باعث تحریک هایپرتروفی عضله شود و علاوه بر آن، تفاوت‌ها در تعداد و اندازه فیبرهای عضلانی به تفاوت‌ها در فعالیت فیزیکی بین دو جنس نسبت داده شده است (۳۰). با این حال نتایج گاه ضد و نقیضی نیز در مورد اثر جنس بر تعداد

فیبرهای عضلانی گزارش شده است و مطالعاتی نیز وجود دارد مبنی بر اینکه جنسیت مرغ اثری بر نسبت نوع فیبر ماهیچه‌ای یا اندازه آن‌ها ندارد (۷).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تغییر جنسیت جوجه‌های گوشتی با استفاده از مهار کننده‌های آروماتازی باعث بهبود افزایش وزن و نیز ساختار عضلانی جوجه‌های گوشتی شد. عصاره قارچ تکمه‌ای در مقایسه با عصاره گیاه گزنه در این زمینه مؤثرتر بود و نتایج حاصل از عصاره قارچ دکمه‌ای با اثر داروی آنتی‌آروماتاز فدرازول هیدروکلراید قابل مقایسه است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی به دلیل تأمین هزینه‌های انجام این پروژه، قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Abinawanto, K., Shimada, K., Yoshida, K., Satio, N. (1996). Effects of aromatase inhibitor on sex differentiation and levels of P450 aromatase and P45017α messenger ribonucleic acid of gonads in chicken embryos. J General Comp Endocrinol, 102, 241-246. https://doi.org/10.1006/gcen. 1996.0065 PMID: 8998968
2. Azwanida, N.N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. J Med Arom Plants, 4, 196. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196
3. Burke, W.H., Henry M.H. (1997). Characteristics of the Pectoralis superficialis and Semimembranosus of broiler strain chickens, Bantam chickens, and the reciprocal crosses. J Poult Sci, 76, 767–773. https://doi.org/10.1093/ps/76.5.767 PMID: 9154632
4. Burke, W.H., Henry, M.H. (1999). The effects of in ovo administration of testosterone or an antiandrogen on growth of chick embryos and embryonic muscle characteristics. J Poult Sci, 78, 1006-1013. https://doi.org/10.1093/ps/78.7.1006 PMID: 10404681
5. Chen, K.L., Hsieh, T.U., Chiou, P.W.S. (2006). Caponization effects on growth performance and lipid metabolism in taiwan country chicken cockerels. Asian-Aust J Anim Sci, 19, 438-443. https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11210 PMID: 25049655
6. Chaurasia, N., Wichtl, M. (1987). Flavonoglycosides from Urtica dioica. J Plant Med, 53, 432-434. https://doi.org/10.1055/s-2006-962765 PMID: 17269062
7. Chen, S., Oh, S., Phuny, S., Hur, G., Jingye, l., Lingkwok, S., Gayle, E., Belury, M., S.Adams, L., Dudley, W. (2006). Anti-Aromatase activity of phytochemicals in White Buttom Mushrooms (Agaricusbisporus). J Cancer Res, 66, 12026-12034. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2206 PMID: 17178902
8. Chiang, W., Solomon, M.B., Kotula, K.L. (1995). Muscle fiber types of selected muscles from broiler chickens in relation to age and sex. J Mus Food, 6, 197–210.
9. Choi, Y.M., Kim, B.C. (2009). Skeletal muscle fibre characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. Livest Sci, 122, 105–118. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.040 PMID: 20605337
10. Clinton, M. (1998). Sex determination and gonadal development: A bird's eye view. J Exp Zool, 281, 457–465. PMID: 9662832
11. Dein, F.J. (1982). Avian hematology. The basics.. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 14, 223-248. https://doi.org/10.1016/s0195-5616(84)50031-x PMID: 6610969
12. Dwyer, C.M., Fletcher, J.M., Stickland, N.C. (1993). Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. J Anim Sci, 71, 3343-3339. https://doi.org/10.2527/1993.71123339x PMID: 8294285
13. Gansser, D., Spiteller, G. (1995). Aromatase inhibitors from Urticadioica roots. J Plant Med, 61, 138-140. https://doi.org/10.1055/s-2006-958033 PMID: 17238068
14. Grove, J.F. (1981). Volatile compounds from the mycelium of the mushroom *Agaricus bisporus*. J Phytochem, 20, 2021-2022. https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)84057-5
15. Iwamoto, H., Hara, Y., Ono, Y., Takahara, H. (1993). Breed differences in the histochemical properties of the M. Pubo- ischeo-femoralis Pars Medialis myofibre of domestic cocks. Br Poult Sci, 34, 309–322. https://doi.org/10.1080/00071669308417587 PMID: 8513409
16. Koba, N., Mori, M., Ha, Y., Mizushima, S., Tsulada, A., Saito, N., Ono, T. (2008). Effects of aromatase inhibitor (Fedrozole)-induced sex-reversal on gonadal differentiation and mRNA expression of P450arom. AMH and Era in embryos and growth in posthatching quail. J Poult Sci, 45, 116-124. https://doi.org/10.2141/jpsa.45.116
17. Lee, G., Luna, H.T. (1998). Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. (3rd ed.) McGraw Hill Book Com. New York. p. 32-45.
18. Mazzoni, M., Petracci, M., Meluzzi, A., Cavani, C., Clavenzani, P., Sirri, F. (2015). Relationship between pectoralis major muscle histology and quality traits of chicken meat. Poult Sci, 94,123-130. https://doi.org/10.3382/ps/peu043 PMID: 25577799
19. Mohammadrezaei, M., Toghyani, M., Gheisari, A., Toghyani, M., Eghbalsaied, S. (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, e103570. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103570 PMID: 25075864
20. Mottaghitalab, M., Razani, K. (2005). Egg treatment with anti-aromatase: Effects on the chicks male: female ratio,

and their economic performance. Iranian J Agric Sci, 36, 375-383.
21. Nakabayashi, O., Kikuchi, H., Kikuchi, T., Mizuno, S. (1998). Differential expression of genes for aromatase and estrogen receptor during the gonadal development in chicken embryos. J Mol Endocrinol, 20, 193–202. https://doi.org/10.1677/jme.0.0200193 PMID: 9584834
22. Rehfhldt, C., Fiedler, I., Stickland, N.C. (2004). Number and size of muscle fibres in relation to meat production. In: Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics and Meat Quality. Te Pas, M.F.W., Everts, M.E., Haagsman, H.P. (eds.). Cambridge, MA, CABI Publisher. p. 1–38.
23. Remignon, H., Lefaucheur, L., Blum, J.C., Ricard, F. H. (1994). Effects of divergent selection for body weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. Br Poult Sci, 35, 65–76. https://doi.org/10.1080/00071669408417671 PMID: 8199892
24. Scheuermann, G.N., Bilgili, S.F., Tuzun, S., Mulvaney, D.R. (2004). Comparison of chicken genotypes: myofibre number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. Poult Sci, 83, 1404–1412. https://doi.org/10.1093/ps/83.8.1404 PMID: 15339017
25. Shimada, K. (1998). Gene expression of steroidogenic enzymes in chicken embryonic gonads. J Exp Zool, 281, 450–456. PMID: 9662831
26. Shimada, K. (2002). Sex determination and sex differentiation. J Avi Poult Biol Rev, 13, 1–14. https://doi.org/10.3184/147020602783698449
27. Shimada, K., Saito, N. (2000). Molecular mechanisms of sex determination and sex differentiation. Jap Poult Sci, 37, 3-11.
28. Smith, R.G., Elbrecht, A. (1992). Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. J Poult Sci, 255, 467-70. https://doi.org/10.1126/science.1734525 PMID: 1734525
29. Sumpter, J.P., Fostier, A. (1996). Effects of flavonoids on aromatase activity an in vitro study. J Steroid Biochem Mol Biol, 57, 215-23. https://doi.org/10.1016/0960-0760(95)00261-8 PMID: 8645631
30. Tůmová, E., Teimouri, A. (2009). Chicken muscle fibres characteristics and meat quality: a review. Sci Agr Boh, 40, 253–258.
31. Wabeck, C.J. (1972). Feed and water withdrawal time relationship to processing yield and potential fecal contamination of broilers. Poult Sci, 51, 1119-1121.
32. Wartenberg, H., Lenz, H., Schweikert, R.D. (1992). Sexual differentiation and the germ cell in sex reversed gonads after aromatase inhibition in the chicken embryo. J Poult Sci, 24, 1-6. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02599.x PMID: 1387766
33. Wibbels, T. (1992). Steroid hormone–induced male sex determination is anaminiotic vertebrate. J Exp Zool, 262, 454-457. https://doi.org/10.1677/joe.0.1330121 PMID: 1517701
34. Yoshida, K., Shimada, K., Saito, N. (1996). Expression of P450 (17α) hydroxylase and P450 aromatase genes in the chicken gonad before and after sexual differentiation. J General Comp Endocrinol, 102, 233–240. https://doi.org/10.1006/gcen.1996.0064 PMID: 8998967

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 76, Number 1, 2021
Original Article

The Effect of In Ovo Injection of Fadrozole Hydrochloride, Nettle Extract and Mushroom Extracts on Sex Reversal, Performance Traits, Blood Lipids and White Blood Cells and Muscle Structure of Broiler Chicks

Tohid Mokarrami[1], Bahman Navidshad[2], Nemat Hedayat Evrigh[2], Farzad Mirzaei Aghjegheshlagh[2]

[1] *Graduated from the Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*
[2] *Department of Animal Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*

10.22059/jvr.2020.251193.2759
Received: *19 September 2020,* ***Accepted:*** *22 November 2020*

Abstract

BACKGROUND: It is possible for Sex reversal of eggs with female embryo using anti-aromatase agents, and the hatchlings have an improved performance.

OBJECTIVES: The present study was conducted to survey the effect of *in ovo* injection of 0.1 mL Nettle (*Urtica dioica*) and mushroom extracts and Fadrozole hydrochloride as anti-aromatase agents on sex differentiation of broiler chickens.

METHODS: 366 fertile eggs from Ross 308 strain broiler breeders were divided into 4 groups. At the beginning of the fifth day of incubation *in ovo* injection operation was carried out. A control group was injected with 0.1 mL distilled water. The hatched chickens were then reared in a completely randomized design with 4 treatments and 6 replicates for 42 days.

RESULTS: *In ovo* injection of 0.1 mL of fadrozole hydrochloride, mushroom and nettle extracts led to 100, 66.67 and 37.5 percent sex reversal, respectively ($P<0.05$). During the whole of the experimental period, daily feed intake and daily weight gain of chickens of fadrozole hydrochloride and mushroom extract groups were higher than those on the control and nettle extract ($P<0.05$). Fadrozole hydrochloride reduced levels of serum triglyceride and VLDL ($P<0.05$), but there was no significant difference in cholesterol, HDL-cholesterol and LDL cholesterol levels ($P> 0.05$). White blood cells and hematocrit percentage were not affected by experimental treatments ($P> 0.05$). Compared with other treatments, *in ovo* injection of mushroom extract caused a significant increase in the number and average diameter of muscle fibers ($P<0.05$).

CONCLUSIONS: The findings of this study confirm the significant anti-aramatogenic properties of the mushroom extract and the positive effect of *in ovo* injection of mushroom extract on the sexes reversal and improvement in performance of broiler chickens.

Keywords: Aromatase inhibitors, Sex differentiation, Mushroom extract, Nettle extract, Fadrozole hydrochloride

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: bnavidshad@uma.ac.ir Tel/Fax: 045-33510140/045-33512204

How to cite this article:

Mokarrami, T., Navidshad, B., Hedayat Evrigh, N., Mirzaei Aghjegheshlagh, F. (2021). The Effect of In Ovo Injection of Fadrozole Hydrochloride, Nettle Extract and Mushroom Extracts on Sex Reversal, Performance Traits, Blood Lipids and White Blood Cells and Muscle Structure of Broiler Chicks. J Vet Res, 76(1), 103-114. https://doi.org/10.22059/jvr.2020.251193.2759

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The hatchability of fertile eggs, *in ovo* injected with different dosages of mushroom and nettle extracts.
Table 2. The ingredients and chemical composition of experimental diets.
Table 3. The female to male sex reversal rate compared to the control group.
Table 4. The performance traits of broilers hatched from eggs *in ovo* injected with mushroom and nettle extracts.
Table 5. The effect of *in ovo* injection of mushroom and nettle extracts on the blood parameters of hatched broilers.
Table 6. The effect of *in ovo* injection of mushroom and nettle extracts on white blood cells and hematocrit of hatched broilers.
Table 7. The effect of *in ovo* injection of mushroom and nettle extracts on density and diameter of muscle fibers of hatched broilers.
Figure 1. Longitudinal image of the breast muscle tissue structure of broiler chickens at 42 days of age. Increasing density of bundles (2) and muscle fibers followed by compression and relative reduction of connective tissue between them (1) in the mushroom extract group (B), compared with control (A), nettle (C) and fadrazol (D) is significant. The dark strands indicate the collagen content of the connective tissue in the muscle.