

مکمل سازی خوراکی پودر تفاله انگور بر کیفیت منی، غلظت تستوسترون و درصد جوجه در آوری در گله مادر گوشتی

- وحید واحدی*: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- فرهاد صمدیان: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- روشنک نوراحمدی: گروه علوم دامی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
- مرتضی بهروزلک: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر پودر تفاله انگور بر خصوصیات منی، سطح سرمی تستوسترون و باروری خروس های گله مادر گوشتی بررسی شد. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ مادر و ۲۴ قطعه خروس از سویه راس ۳۰۸ با سن ۳۱ هفتگی، در قالب طرح کاملاً تصادفی به سه گروه آزمایشی در ۱۰ تکرار (۸ قطعه مرغ و ۱ قطعه خروس در هر تکرار) تقسیم بندی شد. پرندگان از هفته ۳۲ تا هفته ۴۱ در گروه شاهد از جیره استاندارد و در گروه های تیماری با جیره های دارای ۱/۵٪ و ۳٪ تفاله خشک انگور (برحسب ماده خشک) تغذیه شدند. در انتهای آزمایش (هفته ۴۱) برخی خصوصیات کیفی منی، مقادیر تستوسترون سرمی خروس ها و میزان جوجه در آوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مکمل سازی تفاله انگور اثر معنی داری بر حجم منی و غلظت اسپرم خروس ها نداشت ($P > 0/05$). جنبایی کل، جنبایی پیش رونده و درصد زنده مانده اسپرم در پرندگان دریافت کننده ۱/۵ و ۳ درصد تفاله انگور خوراکی نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($P < 0/05$)، اما ریخت شناسی و یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم ها تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. علاوه بر این، مکمل سازی سه درصد تفاله انگور، به طور مؤثری ($P < 0/05$) باعث افزایش تستوسترون سرمی و درصد جوجه در آوری نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0/05$). در نتیجه افزودن خوراکی فیبرهای آنتی اکسیدان مثل پودر تفاله انگور، ممکن است باعث بهبود کیفیت اسپرم و درصد جوجه در آوری در گله های مادر گوشتی شود.

کلمات کلیدی: خروس گله مادر، تفاله انگور، سطح سرمی تستوسترون، خصوصیات منی



مقدمه

شده است (Jakubcova و همکاران، ۲۰۱۵). در پژوهش‌های قبلی افزودن پودر دانه انگور به جیره خروس‌های گله مادر گوشتی، موجب بهبود فراسنجه‌های منی گردید (Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲). هم‌چنین مکمل‌سازی پودر هسته انگور به جیره خروس‌های گوشتی، منجر به افزایش معنی‌دار غلظت تستوسترون پلاسمایی در هفته دوم و سوم مکمل‌سازی نسبت به گروه شاهد می‌شود (Priya و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که مکمل‌سازی یک درصد پودر دانه انگور به جیره خروس‌های مادر گوشتی، موجب افزایش حجم منی و بهبود کیفیت اسپرم می‌شود (Manju و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مکمل‌سازی پودر هسته انگور بر روی خصوصیات منی و غلظت تستوسترون پلاسمایی در خروس‌های گوشتی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تفاله انگور از کارخانه آبمیوه‌گیری سارونه واقع در کیلومتر ۱۰ جاده ارومیه مهاباد خریداری شد و آزمایش در شرکت مرغ مادر آذر شباهنگ ارومیه واقع در اول جاده مهاباد ارومیه انجام گرفت. تفاله‌های انگور که شامل هسته، دانه، پوسته و ساقه میوه انگور بود، در مقابل نور خورشید روی زمین پهن شد تا کاملاً خشک شوند. ترکیب شیمیایی تفاله خشک انگور با روش‌های AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد که حاوی ۹۳/۴ درصد ماده خشک، ۱۰/۵ درصد پروتئین خام، ۹/۵ درصد چربی خام، ۵/۳ درصد خاکستر بود. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ و ۲۴ قطعه خروس نژاد راس (۳۰۸) به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ تکرار (پن) و ۸ قطعه مرغ در هر تکرار بود. یک قطعه خروس بالغ (با سن ۳۱ هفته) نیز به منظور بررسی خصوصیات اسپرم و میزان تستوسترون در هر کدام از پن‌ها به طور کاملاً تصادفی قرار داده شد. پرندگان در هر سه تیمار، جیره‌های مشابه اما سطوح مختلف صفر، ۱/۵ درصد و ۳ درصد پودر خشک تفاله انگور را از سن ۳۲ هفتگی تا ۴۱ هفتگی دریافت کردند. جیره‌های آزمایشی با انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسان طبق احتیاجات مرغ‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ با استفاده از نرم‌افزار WUFFDA تنظیم شدند. اجزای تشکیل‌دهنده جیره در جدول ۱ آورده شده است. تغذیه پرندگان با جیره‌های آزمایشی به مدت نه هفته از سن ۳۲ تا ۴۱ هفتگی انجام شد. بستر تمامی پن‌ها با پوشال چوب پوشانده شد و غذادهی به صورت دستی انجام می‌شد. دوره نوری مورد استفاده شامل ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی بود و دمای سالن در محدوده ۲۲ درجه سلسیوس حفظ شد. مرغ‌ها در داخل لانه‌های تخم‌گذاری که در داخل هر پن تعبیه شده بود تخم‌گذاری می‌کردند.

باروری در مرغ‌مادر عبارت است از نسبتی از تخم‌مرغ‌های تولیدی نطفه‌دار که به جوجه تبدیل می‌شوند. به آن سهم از تخم‌مرغ‌های بارور که به جوجه تبدیل می‌شوند، به اصطلاح درصد هچ یا جوجه‌درآوری گفته می‌شود (Bramwell و همکاران، ۱۹۹۶). یکی از مهم‌ترین زبان‌های اقتصادی مربوط به تولید در صنعت طیور، ناباروری است، به طوری که در گله‌های مادر گوشتی، کاهش شدید باروری به‌ویژه پس از ۵۰ هفتگی به‌عنوان یک نارسایی مهم مطرح است (Romero-Sanchez و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش باروری در گله‌های مرغ‌مادر بیش‌تر به پرندگان نر مربوط می‌شود. حجم بدنی بالا و عدم تناسب اندام خروس‌ها، موجب عدم انتقال مطلوب اسپرم در حین آمیزش می‌شود. هم‌چنین با بالاتر رفتن سن، از کیفیت منی خروس‌ها و حتی میل جنسی آن‌ها کاسته می‌شود. علاوه بر این، طیور در صنعت در سامانه‌های فشرده و بسته پرورش داده می‌شوند و از این‌رو شرایط تنش‌زای محیطی و نرخ سریع رشد، منجر به حساسیت بیش‌تر پرندگان به تنش می‌شود. تنش با تولید رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS)، منجر به برخی تغییرات نامطلوب فیزیولوژیکی در خصوصیات اسپرم خروس‌ها می‌شود که مشکلات ناباروری و کم‌باروری را در گله‌های مادر گوشتی به‌همراه دارد (Karaca و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این، غشاهای سلولی اسپرم پرندگان حاوی سطوح بالایی از اسیدهای چرب چندغیراشباع طولی زنجیر است که در مقابل تنش اکسیداتیو آسیب‌پذیرتر می‌باشند و این امر علت اصلی ناباروری در پرندگان عنوان شده است (Bakst و Cecil، ۱۹۹۳). تنش اکسیداتیو هم‌چنین با کاهش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در سلول‌های لایدیگ، موجب کاهش ترشح تستوسترون در جنس نر می‌شود (Cao و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از راهکارهای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در جیره طیور است. تفاله انگور یک پسماند لیگنوسولوزی و باقی‌مانده فرآیند آبیگری از میوه انگور است که حاوی خواص قوی آنتی‌اکسیدانی است. وارپته‌های مختلف انگور منبع غنی از ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند و حدود ۷۵ درصد از این ترکیبات، در پوست و دانه انگور موجود می‌باشند (Sanchez-Alonso و همکاران، ۲۰۰۸). تفاله انگور هم‌چنین حاوی مقادیر نسبتاً زیادی قند (عمدتاً گلوکز، فروکتوز و ساکارز)، تارتارات، آنتوسیانین و فیبر خام است (Sanchez-Alonso و همکاران، ۲۰۰۸). تحقیقات نشان می‌دهد فلاونوئیدها و پروآنتوسیانین‌های موجود در تفاله انگور، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی عمل نموده و موجب پاکسازی رادیکال‌های آزاد و خاتمه دادن به تنش اکسیداتیو می‌شوند (González-Paramás و همکاران، ۲۰۰۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاله انگور در جیره و ماهیچه سینه پرندگان در اثر مکمل‌سازی خوراکی آن تأیید



جدول ۱: اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

| اجزای جیره (%) | جیره شاهد (%۰) | ۱/۵٪ تفاله | ۲٪ تفاله |
|--|----------------|------------|----------|
| | تفاله انگور) | انگور | انگور |
| ذرت | ۵۶/۱۱ | ۵۸/۱۰ | ۵۶/۱۶ |
| کنجاله سویا | ۲۴/۵۱ | ۲۴/۰۲ | ۲۴/۲۹ |
| سبوس گندم | ۲/۵ | ۱ | ۱ |
| پودر صدف | ۱۱/۴۳ | ۱۰/۴۵ | ۱۰/۴۳ |
| روغن سویا | ۲/۰۱ | ۱/۳۴ | ۱/۸۹ |
| دی‌کلسیم فسفات | ۲/۰ | ۲/۰ | ۲/۱ |
| بی‌کربنات سدیم | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ |
| تفاله انگور | ۰ | ۱/۵ | ۳ |
| نمک | ۰/۲۴ | ۰/۲۴ | ۰/۲۴ |
| متیونین | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ | ۰/۱۶ |
| لیزین | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۴ |
| مکمل ویتامینی و معدنی | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ |
| مواد مغذی محاسبه شده | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) | ۲۷۰۵ | ۲۷۱۱ | ۲۷۰۸ |
| پروتئین خام (%) | ۱۵/۹ | ۱۵/۹ | ۱۵/۹ |
| فیبر خام (%) | ۳/۱ | ۳/۹ | ۴/۵ |
| کلسیم (%) | ۴/۴ | ۴/۴ | ۴/۴ |
| فسفر (%) | ۰/۶۵ | ۰/۶۸ | ۰/۶۶ |
| متیونین + سیستین (%) | ۰/۷۲ | ۰/۷۲ | ۰/۷۲ |

به منظور بررسی میزان جوجه درآوری تخم‌مرغ‌ها از همه پن‌ها در دو مرحله جمع‌آوری شد: ۱- در فاصله بین ۳۱ تا ۳۲ هفته‌ای (قبل از دوره مکمل‌سازی تفاله انگور به گروه‌های تیماری)، ۲- در فاصله بین ۴۰ تا ۴۱ هفته‌ای (هفته پایانی آزمایش). تخم‌مرغ‌ها بعد از جمع‌آوری به سالن جوجه‌کشی انتقال داده شدند و آن‌هایی که در مسیر انتقال شکسته یا معیوب شده بود حذف شدند. پس از درجه‌بندی، تخم‌مرغ‌ها ضدعفونی شدند سپس تخم‌مرغ‌های مربوط به تکرارهای هر تیمار به صورت جداگانه در سبدهای مخصوص جوجه‌کشی قرار گرفتند و در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. تخم‌مرغ‌های سالم به مدت ۱۸ روز در درون دستگاه ستر (جیمزوی مدل میکروپی‌تی-۱۰۰) با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار گرفتند و از روز نوزدهم تخم‌مرغ‌ها به سینی‌های هچری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد منتقل شدند. در روز بیست و یکم جوجه‌کشی، جوجه‌های هچ شده در هر گروه به منظور تعیین نرخ جوجه‌درآوری شمارش شدند. در پایان ۴۱ هفته‌ای از خروس‌های موجود در هر پن خونگیری به عمل آمد. خونگیری با استفاده از سرنگ از رگ وداجی زیر بال صورت گرفت و برای جلوگیری از انعقاد خون

از لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA استفاده شد. لوله‌های حاوی خون با استفاده از فلاسک سیار حاوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ارومیه منتقل شدند و پلاسماي نمونه‌های خون به وسیله سانتریفیوژ با ۱۵۰۰ دور در دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند. غلظت هورمون تستوسترون به وسیله دستگاه الیزا ریدر (Stat Fax® 3200) با استفاده از کیت تجاری مونوبایند (Monobind Inc. Lake Forest CA 92630, USA) اندازه‌گیری شد. حدود دو هفته قبل از اتمام دوره آزمایش، خروس‌ها با مالش شکمی برای اسپرم‌دهی عادت‌دهی شدند. اسپرم‌گیری در ۴۱ هفته‌ای از همه خروس‌ها صورت گرفت. جهت نمونه‌گیری اسپرم، پس از مالش شکمی و در زمان انزال یک میکروتیوب مدرج زیر مجرای دفران قرار گرفته و اسپرم داخل آن جمع‌آوری شد و حجم منی آن‌ها تعیین گردید. برای تعیین فراسنجه‌های تحرک کل و تحرک پیش‌رونده، یک قطره از منی رقیق‌سازی شده با سدیم سترات ۲/۹ درصد (به نسبت ۱ به ۱۰۰) روی لام قرار داده شد. برای جلوگیری از شوک سرمایی به اسپرم، محلول سترات سدیم قبل از استفاده در حمام بن ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. تحرک کل و تحرک پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed Inc., Los Angeles, USA) با بزرگ‌نمایی $\times 400$ و به شیوه چشمی تعیین شد (Akhlaghi و همکاران، ۲۰۱۴). برای تعیین غلظت اسپرمی مقدار ۱۰ میکرولیتر از منی با ۹۹۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق شد. سپس با استفاده از یک سمپلر مقدار ۹ میکرولیتر از مخلوط آب مقطر و منی در فضای بین لامل و لام هماسیتومتر قرار داده شد. با شمارش اسپرم‌های موجود در حداقل چهار مربع اصلی لامل غلظت اسپرمی در منی محاسبه شد. برای ارزیابی زنده‌مانی اسپرم، یک قطره از مایع منی رقیق شده روی لام قرار داده شد و سپس با یک قطره کوچک از رنگ اتوزین-نیگروزین مخلوط شد. سپس گسترش تهیه شده با میکروسکوپ فاز کنتراست و بزرگ‌نمایی $\times 400$ بررسی شد. در این رنگ‌آمیزی سر اسپرم‌های مرده به دلیل نقص در غشا، رنگ را جذب کرده و به رنگ قرمز مایل به بنفش دیده می‌شوند در حالی که اسپرم‌های زنده رنگی را به خود نمی‌گیرند. از هر اسلاید ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های زنده و مرده مشخص شدند (Lukaszewicz و همکاران ۲۰۰۸). برای بررسی ریخت‌شناسی اسپرم و تعیین درصد اسپرم‌های غیرطبیعی از اسلایدهای تهیه شده برای ارزیابی زنده‌مانی استفاده شد. به طوری که با شمردن ۲۰۰ اسپرم در هر اسلاید اسپرم‌های با دم پیچیده، دم دوتایی، دم‌های غیرطبیعی، سرهای بدون دم و سر دوتایی به عنوان اسپرم ناهنجار و غیرطبیعی در نظر گرفته شدند. جهت اندازه‌گیری یکپارچگی غشای



بر این اساس سطوح مختلف تفاله انگور، پارامترهای حجم منی و غلظت اسپرم را تحت تاثیر قرار ندادند ($P > 0.05$). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تحرک کل اسپرماتوزئیدها در خروس‌هایی که ۱/۵ و ۳ درصد تفاله (به ترتیب $85/96 \pm 3/41$ و $88/47 \pm 3/13$) دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد ($75/2 \pm 36/43$) افزایش معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). هم‌چنین میانگین درصد تحرک پیش‌رونده در گروه شاهد معادل $63/92 \pm 2/59$ ، در سطح ۱/۵ درصد معادل $75/60 \pm 2/63$ و در سطح ۲ درصد معادل $77/79 \pm 2/84$ می‌باشد. به طوری که مصرف تفاله انگور در سطح ۱/۵ و ۳ درصد، تحرک پیش‌رونده را به طور معنی دار نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$). افزودن سطوح ۱/۵ و ۳ درصد تفاله به جیره، به طور معنی داری ($P < 0.05$) باعث افزایش زنده‌مانی اسپرم‌ها نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0.05$). به طوری که بالاترین درصد زنده‌مانی مربوط به تیمار ۳ درصد ($82/35$) و پایین‌ترین درصد مربوط به تیمار شاهد ($74/20$) می‌باشد. هم‌چنین استفاده از سطوح مختلف تفاله خشک انگور در تغذیه خروس‌ها تاثیری بر ویژگی‌های یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نداشت ($P > 0.05$). میانگین غلظت تستوسترون در سطوح مختلف تفاله انگور در جدول ۲ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیش‌ترین غلظت این هورمون ($5/06 \pm 0/27$) نانوگرم/میلی لیتر) در خروس‌هایی که با جیره حاوی ۳ درصد تفاله انگور تغذیه شده بودند به دست آمد که نسبت به گروه شاهد ($3/78 \pm 0/26$) نانوگرم/میلی لیتر) اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد ($P < 0.05$). اما بین سطح ۱/۵ درصد ($4/0 \pm 36/32$) نانوگرم/میلی لیتر) و سطوح صفر و ۳ درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

پلاسمایی اسپرم از تست HOST استفاده شد. ترکیبات محلول این تست شامل فروکتوز (۹ گرم در لیتر) و سیترات سدیم ($4/9$ گرم در لیتر) می‌باشد که اسمولاریته این محلول ۱۰۰ میلی اسمول است. برای انجام این تست ابتدا ۵۰ میکرولیتر از نمونه منی به آرامی با ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیپواسموتیک مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب گرم (37 درجه سانتی‌گراد) انکوبه شد. سپس مقدار ۵ میکرو لیتر از این نمونه روی لام قرار داده شد و با لامل پوشانده شد و به وسیله میکروسکوپ فاز کنتراست تعداد ۲۰۰ اسپرم با بزرگ‌نمایی $\times 400$ شمارش شد. اسپرم‌های با دم متورم و تاب خورده به عنوان اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم در نظر گرفته شدند. این مطالعه با ۳ تیمار و در ۱۰ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌های حاصل از فراسنجه‌های حرکتی اسپرم، زنده‌مانی، ریخت‌شناسی اسپرم و تست HOST ابتدا با Arcsin به عدد واحد تبدیل شده و سپس تجزیه واریانس تمامی پارامترهای مورد ارزیابی توسط برنامه SAS 9.2 و با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال $\alpha = 0.05$ استفاده شد. مدل آماری به کار رفته در این آزمایش عبارت است از $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ که در آن Y_{ij} مشاهدات، μ میانگین مشاهدات، T_i اثر تیمارها و e_{ij} اثر اشتباه آزمایشی بود. هم‌چنین آزمون کای اسکوئر برای مقایسه نرخ جوجه درآوری مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

اثر سطوح مختلف تفاله خشک انگور (شاهد، ۱/۵ و ۳ درصد) بر برخی فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر خصوصیات منی و سطوح تستوسترون در خروس‌های سویه راس ۳۰۸ مادر گوشتی (میانگین \pm خطای استاندارد)

| P-Value | سطوح تفاله انگور (%) | | | صفات |
|------------|----------------------|------------------|------------------|---|
| | ۳ | ۱/۵ | صفر (گروه شاهد) | |
| ۰/۰۹ | $0/43 \pm 0/09$ | $0/39 \pm 0/08$ | $0/38 \pm 0/08$ | حجم منی (میلی لیتر) |
| ۰/۱۱ | $3/53 \pm 0/15$ | $3/29 \pm 0/13$ | $3/21 \pm 0/12$ | غلظت اسپرم ($\times 10^9$ اسپرم/میلی لیتر) |
| ۰/۰۰۱ | $88/47 \pm 3/13$ | $85/96 \pm 3/41$ | $75/36 \pm 2/43$ | تحرک کل (%) |
| < 0.0001 | $77/79 \pm 2/84$ | $75/60 \pm 2/63$ | $63/92 \pm 2/59$ | تحرک پیش‌رونده (%) |
| ۰/۰۰۷ | $82/35 \pm 3/65$ | $81/62 \pm 3/27$ | $74/20 \pm 2/68$ | زنده‌مانی (%) |
| ۰/۲۱ | $68/21 \pm 2/11$ | $66/65 \pm 2/28$ | $65/13 \pm 1/84$ | یکپارچگی غشای پلاسمایی (%) |
| ۰/۳۴ | $8/51 \pm 0/73$ | $9/54 \pm 0/56$ | $9/32 \pm 0/64$ | اسپرم غیرطبیعی (%) |
| < 0.0001 | $5/06 \pm 0/27$ | $4/36 \pm 0/32$ | $3/78 \pm 0/26$ | غلظت تستوسترون (نانوگرم/میلی لیتر) |

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین سطوح است ($P < 0.05$).



درصد) بود به طوری که افزودن سطح ۳ درصد تفاله به جیره، نرخ جوجه درآوری را نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری بهبود داد ($P < 0.05$). اما بین سطح ۱/۵ درصد و سایر تیمارها اختلاف معنی داری در این صفت مشاهده نشد ($P > 0.05$).

تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر درصد جوجه درآوری در جدول ۳ نشان داده شده است. در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱) بالاترین درصد جوجه درآوری مربوط به تیمار ۳ درصد تفاله ($74/5 \pm 3/02$ درصد) و پایین ترین درصد آن مربوط به گروه شاهد ($66/4 \pm 2/65$ درصد) بود.

جدول ۳: تأثیر مکمل سازی خوراکی پودر تفاله انگور بر درصد جوجه درآوری (میانگین \pm خطای استاندارد)

| P-Value | سطوح تفاله انگور (%) | | | جوجه درآوری (%) |
|---------|----------------------|----------------------|-------------------|--|
| | ۳ | ۱/۵ | صفر (گروه شاهد) | |
| - | ۲۷۰ | ۲۸۲ | ۲۷۶ | تعداد تخم مرغ در شروع آزمایش (هفته ۳۱-۳۲) |
| ۰/۸۲ | $68/9 \pm 2/44$ | $70/5 \pm 2/32$ | $68/4 \pm 2/53$ | درصد جوجه درآوری در شروع آزمایش (هفته ۳۱-۳۲) |
| - | ۲۷۳ | ۲۹۳ | ۲۶۸ | تعداد تخم مرغ در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱) |
| ۰/۰۲۳ | $74/5^a \pm 3/02$ | $71/8^{ab} \pm 3/13$ | $66/4^b \pm 2/65$ | درصد جوجه درآوری در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱) |

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین سطوح است ($P < 0.05$).

بحث

قبیل *Sitoindosides* و *acylsterylglucosides* می باشد، این عوامل با بروز اثر مشابه تستوسترون بر روی لوله های اسپرم ساز موش های آزمایشگاهی نابالغ، تأثیر مستقیم اسپرماتوزنیکی بر جای می گذارد. (Abdel-Magied و همکاران، ۲۰۰۱). نتایج نشان می دهد که حجم منی در اثر تیمار خوراکی معنی دار نبود هر چند از نظر عددی حجم منی در ۳ درصد تفاله افزایش یافته است. در مطالعه ای گزارش شده است که افزودن پودر دانه انگور به جیره خروس های گوشتی، با تحریک شدن سنتز تستوسترون، موجب افزایش ترشحات غدد ضمیمه جنسی و افزایش حجم منی می شود که به نوبه خود ممکن است موجب بهبود باروری گردد. اثرات مثبت ترکیبات آنتی اکسیدانی مثل پودر دانه انگور بر خصوصیات اسپرم، به کاهش تنش اکسیداتیو و حفظ یکپارچگی غشای سلول اسپرم نسبت داده شده است (Manju و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج درصد جوجه درآوری در مطالعه حاضر در جدول ۳ ارائه شده است. در مطالعه حاضر پودر تفاله انگور باعث افزایش جوجه درآوری در گله مادر گوشتی شده است. بهبود باروری می تواند به افزایش تستوسترون و بهبود کیفیت منی خروس ها نسبت داده شود. در گله های مادر، باروری در اوایل شروع تولید در حدود ۹۵ درصد و یا حتی بالاتر است، اما باروری به سرعت و به ویژه پس از ۵۰ هفتگی کاهش پیدا می کند. با این حال، روند کاهشی متناسب با بالاتر رفتن سن در گله مورد مطالعه، اندکی بالاتر از حد استاندارد بود که ممکن است به روش های مدیریتی مرتبط باشد. اثر مثبت تفاله انگور بر باروری به تأثیر ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در آن نسبت داده شده است (Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲).

ماده *Trans-reveratrol* یک فنل طبیعی است که در دانه انگور موجود است. این فنل می تواند از غشای اسپرم در مقابل پروکسیداسیون

نتایج نشان داد که مکمل سازی خوراکی پودر تفاله انگور به طور معنی داری ($P < 0.05$) موجب افزایش سطوح سرمی تستوسترون در خروس های گله مادر گوشتی در مقایسه با شاهد گردید. نتایج پژوهش حاضر با مطالعات قبلی (Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲) در انطباق است که گزارش کردند که افزودن پودر تفاله انگور موجب افزایش سطوح تستوسترون و بهبود کیفیت منی و باروری خروس های گوشتی می شود. نشان داده شده است که مکمل سازی یک درصد پودر هسته انگور موجب افزایش غلظت تستوسترون پلاسمایی می شود (Priya و همکاران، ۲۰۱۲)، به طوری که غلظت تستوسترون در طول هفته دوم و سوم دوره مکمل سازی افزایش یافت و در طول دوره پس از آن کاهش نشان داد. این محققین چنین عنوان کردند که اسید اسکوربیک موجود در پودر هسته انگور می تواند بر فعالیت آنزیم استروئید دهیدروژناز بیضه ای (3β HSD) اثر تحریک کنندگی داشته باشد (Biswas و همکاران، ۱۹۹۶)، به طوری که به نظر می رسد استروئیدوزن به ویژه در مراحل هیدروکسیلاسیون، وابسته به اسید اسکوربیک باشد. هم چنین گزارش شده است که اسید اسکوربیک توسط تحریک آزادسازی نیتریک اکساید، آزادسازی LH از هیپوفیز قدامی را فعال می سازد، هورمون LH نیز به نوبه خود موجب آزادسازی تستوسترون از سلول های لایدیگ می شود (Karaca و همکاران، ۲۰۰۲). گزارش شده است که ماده *Trans-reveratrol* موجود در تفاله انگور، موجب افزایش غلظت سرمی تستوسترون در موش های آزمایشگاهی شده است (Juan و همکاران، ۲۰۰۵). گیاهان دیگری نیز بر ترشح تستوسترون اثرگذار گزارش شده است. برای مثال نشان داده شده است که عصاره گیاه *Withania somnifera* حاوی عوامل ضدتنشی از



داده است (Su و همکاران، ۲۰۱۱). خوراندن یک ترکیب دیگر مشتق از انگور (Resveratol) از آسیب‌های بافتی ناشی از تنش مزمن بی‌حرکی بر روی بیضه موش‌های آزمایشگاهی جلوگیری نموده است (Bitgul و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه‌ای مشخص شد که تغذیه ۱۰ و ۲۰ درصد تفاله انگور به خرگوش‌های نر نیوزیلندی به مدت ده هفته، با تأثیر مثبت آنتی‌اکسیدانی بر منی منجر به افزایش معنی‌دار حجم منی و جنبایی اسپرم و کاهش درصد اسپرم‌های مرده گردید (Eid، ۲۰۱۰). در این مطالعه افزایش جنبایی اسپرم خرگوش در اثر تغذیه تفاله انگور با افزایش میزان فروکتوز در پلاسما منی در اثر مکمل سازی با تفاله انگور مرتبط دانسته شده است (Eid، ۲۰۱۰). گزارش شده است که تغذیه تفاله انگور به قوچ‌های نگهداری شده در شرایط تنش‌زای محصور در جایگاه، با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش جنبایی، غلظت و یک‌پارچگی آکروزومی اسپرم شده و بدشکلی‌های اسپرمی را کاهش می‌دهد (Zhao و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این، آنتی‌اکسیدان‌ها از اثر مضر رادیکال‌های فعال اکسیژنی حاصل از لوکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئار بر جنبایی اسپرم جلوگیری نمودند (Baker و همکاران، ۱۹۹۶). گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها با اتصال به اندوپروکسیدها و جلوگیری از آسیب‌های غشایی موجب بهبود جنبایی و ریخت‌شناسی اسپرم می‌شوند (Marin-Guzman و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین گزارش شده است که بین شاخص پروکسیداسیون لیپیدی (TBARs) و زنده‌مانی اسپرم ارتباط مثبت معنی‌داری وجود دارد و بنابراین پروکسیداسیون لیپیدی یکی از عوامل اصلی تخریب سلول اسپرم محسوب می‌شود (Eid، ۲۰۱۰). در کل آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی مثل تفاله انگور می‌توانند با روش‌های مختلفی موجب کاهش آسیب به اسپرم شوند: ۱- مداخله در واکنش‌های اولیه دخیل در تولید ROS، ۲- جاروب یا حذف مولکول‌های آزاد اکسیژنی که برای شروع تولید ROS ضروری هستند، ۳- کلاسه نمودن فلزاتی که منجر به سرعت بخشیدن به فرایندهای اکسیداتیو می‌شوند (Sgorlon و همکاران، ۲۰۰۵).

فنل‌های طبیعی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، علاوه بر محافظت از غشا و DNA اسپرم، ممکن است با سازوکار متمایزی موجب بهبود باروری شوند، به‌طوری‌که گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها با تحریک بیان ژن GIUT-5 موجب تسهیل انتقال گلوکز به سلول در طی تنش اکسیداتیو می‌شوند. ناقل تسهیل‌کننده انتقال گلوکز موجود در غشای اسپرم (GLUT-5) به انتقال گلوکز به سلول اسپرم کمک می‌کند که سپس گلوکز به‌عنوان سوبسترای برای تولید انرژی به کار می‌رود. بیان GLUT-5 به‌عوامل هورمونی و محیطی مثل تنش اکسیداتیو حساس و آسیب‌پذیر است. شایان ذکر است که بیان متمایز این ناقل در پاسخ به عوامل مخرب تأثیرگذار مثل حضور رادیکال‌های

لیپیدی و آسیب‌های ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) به DNA محافظت به‌عمل‌بیورد (Roemar و Roemar، ۲۰۰۲). رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) محصولات جانبی متابولیسم هوازی می‌باشند که نقش‌های مهمی در پیام‌رسانی سلولی و هوموستازی ایفا می‌کنند (Devasagayam و همکاران، ۲۰۰۴). کنش طبیعی اسپرم نیز به سطوح پایینی از ROS برای تحریک مسیرهای انتقال پیام مرتبط با کاپاسیتاسیون وابسته است (Mahat و همکاران، ۲۰۱۵). ولی اسپرم به‌علت فقدان حفاظت آنتی‌اکسیدانی لازم بسیار به تنش اکسیداتیو آسیب‌پذیر است. علت کمبود حفاظت آنتی‌اکسیدانی اسپرم فضای محدود سیتوپلاسمی آن برای جای دادن آنزیم‌های دفاعی عنوان شده است (Bansal و Bilaspuri، ۲۰۱۱). سطوح ROS به‌طور چشمگیری در طول تنش محیطی افزایش می‌یابد و فزونی ROS با راه‌اندازی آسیب اکسیداتیو و اختلال در کنش سلول‌ها به سلامت حیوانات و انسان آسیب می‌رسانند (Chandel و Schiebe، ۲۰۱۴). هم‌چنین فزونی ROS در اسپرم باعث آسیب اندامکی آن شده و موجب آغاز آبشار آپوپتوزی ذاتی در سلول اسپرم می‌شود که در نتیجه اسپرماتوزوآ جنبایی، یک‌پارچگی DNA و زنده‌مانی خود را از دست داده و رخنمای اپی‌ژنتیک آن تغییر می‌یابد (Aitken و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه بر این، رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS) می‌توانند با تغییر و تبدیل اسکلت سلولی و اکسونم اسپرم موجب کاهش جنبایی اسپرم شوند (De Lamirande و Gagnon، ۱۹۹۲). رادیکال‌های آزاد هم‌چنین با القای آسیب به ژنوم منجر به کاهش عملکرد تولیدمثلی دام و طیور می‌شوند. در مطالعات مختلف گزارش شده است که بین بالا بودن سطوح ROS و پایین بودن سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول اسپرم و ضعف جنبایی و پایین بودن جنبایی اسپرم ارتباط معنی‌داری وجود دارد (Baumber و همکاران، ۲۰۰۰). به‌نظر می‌رسد دفاع آنتی‌اکسیدانی بر علیه ROS به‌شدت با تغذیه تحت تأثیر قرار گیرد و آنتی‌اکسیدان‌های بسیاری برای به‌کمینه رساندن تنش اکسیداتیو و بهبود کیفیت منی مورد استفاده قرار گرفته است. گزارش شده است که خوراندن ویتامین E به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو موجب بهبود کمی و کیفی اسپرم خروس شده است (Eid و همکاران، ۲۰۰۶). در انسان‌ها مصرف کارتنوئید خوراکی با افزایش جنبایی اسپرم همراه بوده و مصرف لیکوپن نیز منجر به بهبود ریخت‌شناسی اسپرمی شده است (Zareba و همکاران، ۲۰۱۳). عصاره‌های چای سبز و سفید با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسپرم و کاهش پروکسیداسیون لیپیدی در اسپرم‌ها منجر به بهبود زنده‌مانی اسپرم موش‌های آزمایشگاهی شده است (Dias و همکاران، ۲۰۱۴). در موش‌های آزمایشگاهی عصاره پروسیانیدین دانه‌انگور تنش اکسیداتیو القا شده با سولفات نیکل را خفیف نموده و جنبایی اسپرم‌ها را افزایش



triphosphate (ATP) plays an important role in the inhibition of sperm motility. *Journal of Andrology*. Vol. 13, No. 5, pp: 379-386.

۱۳. **Devasagayam, T.; Tilak, J.; Boloor, K.; Sane, K.S.; Ghaskadbi, S.S. and Lele, R., 2004.** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of Association Physicians India*. Vol. 52, pp: 4.
۱۴. **Dias, T.R.; Alves, M.G.; Tomás, G.D.; Socorro, S.; Silva, B.M. and Oliveira, P.F., 2014.** White tea as a promising antioxidant medium additive for sperm storage at room temperature: a comparative study with green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 62, No. 3, pp: 608-617.
۱۵. **Eid, Y.; Ebeid, T. and Younis, H., 2006.** Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*. Vol. 47, pp: 350-356.
۱۶. **Eid, Y.Z., 2010.** Dietary grape pomace affects lipid peroxidation and antioxidative status in rabbit semen. *World Rabbit Science*. Vol. 16, No. 3, pp: 157-164.
۱۷. **González-Paramás, A.M.; Esteban-Ruano, S.; Santos Buelga, C.; de Pascual-Teresa, S. and Rivas-Gonzalo, J.C., 2004.** Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 52, No. 2, pp: 234-8.
۱۸. **Jakubcova, Z.; Horky, P.; Dostalova, L.; Sochor, J.; Tomaskova, L. and Baron, M., 2015.** Study of antioxidant and antimicrobial properties of grapevines seeds, grape and rosehip pressings. *Potravinarstvo® Scientific Journal for Food Industry*. Vol. 9, No. 1, pp: 382-387.
۱۹. **Juan, M.E.; Gonzalez-Pons, E.G.; Munuera, T.; Ballester, J.; Rodriguez-Gil, J.E. and Planas, J.M., 2005.** Trans Resveratrol a natural antioxidant from grapes increases sperm output in healthy rats. *Journal of Nutrition*. Vol. 135, pp: 757-760.
۲۰. **Karaca, A.G.; Parke, H.M. and McDaniel, C.D., 2002.** Elevated body temperature directly contributes to heat stress infertility of broiler breeder males. *Poultry Science*. Vol. 81, pp: 1892-1897.
۲۱. **Lukaszewicz, E.; Jersey, A.; Partyka, A. and Siudzinska, A., 2008.** Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. *Research of Veterinary Science*. Vol. 85, pp: 583-588.
۲۲. **Mahat, R.K.; Kumar, S.; Arora, M.; Bhale, D.V.; Mehta, R. and Batra, J., 2015.** Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Int J Health Sci Res*. Vol. 5, No. 3, pp: 324-33.
۲۳. **Manju, D.K.E.; Thangave, A.; Leela, V. and Kalatharan, J., 2010.** Effect of dietary supplementation of amla and grape seed on semen characteristics of broiler breeder cocks. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*. Vol. 6, No. 2, pp: 65-70.
۲۴. **Marin-Guzman, J.; Mahan, D.C. and Pate, J.L., 2000.** Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *Journal of Animal Science*. Vol. 78, pp: 1537-1543.
۲۵. **Priya, K.T.; Manju, D.K.E.; Thangave, A. and Leela, V., 2012.** Dietary supplementation of amla and grape seed on testosterone concentration and semen characteristics in broiler breeders. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*. Vol. 8, No. 5, pp: 253-258.
۲۶. **Roemer, K. and Roemar, M.M., 2002.** The basis for the chemopreventive action of resveratrol. *Drugs Today*. Vol. 38, pp: 571-580.

فعال اکسیژنی، با چندین اختلال فیزیولوژیکی دیگر همراه می‌گردد (Vaze, ۲۰۰۷).

در پایان نتیجه‌گیری می‌شود که مکمل‌سازی خوراکی پودر تفاله انگور، به دلیل ارزان بودن قیمت آن و خصوصیات مثبت نشان داده شده در پژوهش حاضر، در مزارع پرورش مرغ مادر گوشتی قابل توصیه می‌باشد.

منابع

۱. **Abdel-Magied, E.M.; Abdel-Rahman, H.A. and Harraz, F.M., 2001.** The effect of aqueous extracts of *Cynomorium coccineum* and *Withania somnifera* on testicular development in immature Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 75, pp: 1-4.
۲. **Aitken, R.J.; Jones, K.T. and Robertson, S.A., 2012.** Reactive oxygen species and sperm function-in sickness and in health. *Journal of Andrology*. Vol. 33, No. 6, pp: 1096-1106.
۳. **Akhlaghi, A.; Jafari Ahangari, Y.; Zhandi, M. and Peebles, E.D., 2014.** Reproductive performance, semen quality, and fatty acid profile of spermatozoa in senescent broiler breeder roosters as enhanced by the long-term feeding of dried apple pomace. *Animal Reproduction Science*. Vol. 147, pp: 64-73.
۴. **Baker, H.W.; Brindle, J.; Irvine, D.S. and Aitken, R.J., 1996.** Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes. *Fertility and sterility*. Vol. 65, No. 2, pp: 411-419.
۵. **Bansal, A.K. and Bilaspuri, G., 2011.** Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*. pp: 1-7.
۶. **Baumber, J.; Ball, B.A.; Gravance, C.G.; Medina, V. and Davies-Morel, M.C., 2000.** The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. *Journal of Andrology*. Vol. 21, No. 6, pp: 895-902.
۷. **Biswas, N.M.; Chaudhuri, A.; Sarkar M. and Biswas, R., 1996.** Effect of ascorbic acid on *in vitro* synthesis of testosterone in rat's testis. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol. 34, pp: 612-613.
۸. **Bitgul, G.; Tekmen, I.; Keles, D. and Oktay, G., 2013.** Protective effects of resveratrol against chronic immobilization stress on testis. *ISRN urology*.
۹. **Bramwell, R.K.; McDaniel, C.D.; Wilson, J.L. and Howarth, B., 1996.** Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the privity layer overlaying the germinal disc. *Poultry Science*. Vol. 75, pp: 755-76.
۱۰. **Cao, L.; Leer Suchetha, S. and Azhar, S., 2004.** Aging alters the functional expression of enzymatic antioxidant defense systems in testicular rat Leydig cell. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 88, pp: 61-67.
۱۱. **Cecil, H.C. and Bakst, M.R., 1993.** In vitro lipid peroxidation of turkey spermatozoa. *Poultry Science*. Vol. 72, pp: 1370-1378.
۱۲. **De Lamirande, E. and Gagnon, C., 1992.** Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine



۲۷. **Romero-Sanchez, H.; Plumstead, P.W.; Lekrisompong, N.; Brannan, K.E. and Brake, J., 2008.** Feeding broiler breeder males. Deficient feed allocation reduces fertility and broiler progeny body weight. *Poultry Science*. Vol. 87, pp: 805-811.
۲۸. **Sanchez-Alonso, I.; Jimenez-Escrig, A.; Saura-Calixto, F. and Borderias, A.J., 2008.** Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *LWT-Food Science and Technology*. Vol. 41, pp: 42-50.
۲۹. **Schieber, M. and Chandel, N.S., 2014.** ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*. Vol. 24, pp: R453-R462.
۳۰. **Sgorlon, S.; Stradaoli, G.; Stefanon, B.; Altimer, G. and Della-Loggia, R., 2005.** Dietary grape polyphenols modulate oxidative stress in ageing rabbits. In Proc. 16th Nat. Congr. Aspa, Torino, Italy, *Italian Journal of Animal Science*. Vol. ۴, No. ۲, pp: ۵۴۱-۵۴۳.
۳۱. **Su, L.; Deng, Y.; Zhang, Y.; Li, C.; Zhang, R. and Sun, Y., 2011.** Protective effects of grape seed procyanidin extract against nickel sulfate-induced apoptosis and oxidative stress in rat testes. *Toxicology Mechanisms and Methods*. Vol. 21, No. 6, pp: 487-494.
۳۲. **Vaze, A., 2007.** Double-blind comparative trial of herbomineral antioxidant formulation with ubiquinone in oligoasthenospermia. *Lancet Infectious Disease*. Vol. 7, pp: 1057-1058.
۳۳. **Zareba, P.; Colaci, D.S.; Afeiche, M.; Gaskins, A.J.; Jørgensen, N.; Mendiola, J.; Swan, S.H. and Chavarro, J.E., 2013.** Semen quality in relation to antioxidant intake in a healthy male population. *Fertility and sterility*. Vol. 100, No. 6, pp: 1572-1579.
۳۴. **Zhao, J.; Jin, Y.; Du, M.; Liu, W.; Ren, Y.; Zhang, C. and Zhang, J., 2017.** The effect of dietary grape pomace supplementation on epididymal sperm quality and testicular antioxidant ability in ram lambs. *Theriogenology*. Vol. 97, pp: 50-56.

