

راهکارهای فناورانه به منظور تعیین جنسیت تخم مرغ

محمد علیزاده^۱، مهدی زین‌الدینی^{۲*}، زهرا مردشتی^۱، نرگس تنها^۱

۱- دانش آموخته، مجتمع پدافند غیرعامل، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، گروه علوم زیستی، تهران، ایران

۲- دانشیار، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، گروه علوم زیستی، تهران، ایران

* صندوق پستی ۱۵۸۷۵۱۷۷۴، تهران، ایران

zeinoddini52@mut.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۲

چکیده

فناوری‌های نوین در تعیین جنسیت تخم مرغ، کمک زیادی به پایان معدوم‌سازی جوجه‌های نر خواهد کرد که این امر سبب صرفه‌جویی زیادی در صنعت مرغداری می‌شود. این فناوری‌ها به اندازه‌ای ارزشمند و با اهمیت است که شرکت‌ها و مراکز تحقیقاتی زیادی حاضر به سرمایه‌گذاری‌های کلان برای پیشرفت در این حوزه بوده و هستند. امروزه از دو روش تهاجمی و غیرتهاجمی جهت تعیین جنسیت تخم مرغ استفاده می‌شود. روش‌های تشخیصی تهاجمی اغلب منجر به کاهش زنده ماندن نمونه‌ها می‌شود، در حالی‌که روش‌های غیرتهاجمی با دقت بالا و زنده‌مانی نمونه‌ها، قابلیت توسعه زیادی را بین محققین ایجاد کرده است. به بیان دیگر روش‌های تشخیصی تهاجمی با درصد بالایی تعیین جنسیت جنین‌های درون تخم مرغ را انجام می‌دهند اما می‌تواند سبب به خطر انداختن ادامه فرایند جوجه‌کشی شده و امنیت غذایی را به خطر اندازد. اما کاربرد روش‌های غیرتهاجمی برای استفاده صنعتی به واسطه عدم ایجاد مخاطره برای جنین جوجه در روند تشخیص جنسیت، دارای اولویت است. در این مقاله مروری، ضمن بررسی اهمیت تعیین جنسیت در زمان جوجه‌کشی برای صنایع مرغداری، تلاش شده است تا تمامی فناوری‌های نوین استفاده شده برای تعیین جنسیت در مرحله تخم‌ریزی و جوجه‌کشی بررسی شود و همچنین، مقایسه‌ای بین آنها از نظر فواید و معایب انجام شود.

کلید واژگان: تعیین جنسیت، مرغداری، فناوری، شناسایی، جوجه‌کشی.

۱- مقدمه

امروزه در اکثر کشورها تولید غذا وابسته به صنایع مهمی همچون کشاورزی، دامپروری، مرغداری و شیلات است. بر این اساس، صنعت مرغداری^۱ را نیز می‌توان به‌عنوان یکی از قطب‌های مهم اقتصادی کشورها در نظر گرفت که در چند دهه گذشته به یک صنعت بزرگ و سودآور در جهان مبدل شده است. به‌طوری‌که، این صنعت پس از صنعت نفت، از مهم‌ترین صنایع فعال داخلی محسوب می‌شود [۱ و ۲]. در سطح جهانی نیز این صنعت ضمن آن که نقش مهمی در تأمین پروتئین حیوانی مورد نیاز انسان با کیفیت بالا و مقرون به صرفه دارد، منبع درآمدزای قابل توجهی را در کشورهای در حال توسعه فراهم می‌کند [۳]. مطابق آخرین آمار ارائه شده توسط مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی ایران، در سال ۱۴۰۰ میزان تولید گوشت مرغ ۲۶۷۹ هزار تن بوده است که میزان سرانه مصرف آن در کشور ۳۳/۱۰ کیلوگرم گزارش شده که نسبت به سال قبل از آن رشد ۸/۲۸ درصد داشته است و استان مازندران رتبه اول را در تولید گوشت مرغ در همان سال کسب کرده است [۴]. محصولات صنعت طیور حاوی پروتئین و ریزمغذی‌هایی مانند ویتامین‌های B، آهن و روی هستند که نقش مهمی در سلامت و تغذیه مصرف‌کنندگان دارند. سهم محصولات طیور از کل حجم پروتئین حیوانی بیش از ۴۰ درصد است. کشورهای آسیایی در صنعت تولید تخم‌مرغ پیشناز هستند، به‌طوری‌که چین بزرگترین تولیدکننده تخم مرغ در آسیا و جهان در ۳۰ سال گذشته است و در سال ۲۰۱۹ میزان تولید آن ۳۳ میلیون تن بوده است (بیش از ۴۰ درصد کل تولید جهانی) که به‌دلیل سرمایه‌گذاری‌های کلان در این صنعت بوده است. لازم به ذکر است که تقریباً تمامی محصولات در بازار داخلی مصرف می‌شود و تنها کمتر از ۰٫۳ درصد از حجم کل، صادر می‌شود [۵ و ۶].

توسعه روزافزون صنعت طیور و افزایش تقاضا برای محصولات آن در بازار جهانی سبب افزایش میزان صادرات آنها در سالیان اخیر شده است. به‌طوری‌که در سال ۲۰۱۱ نسبت به سال ۲۰۱۰، صادرات گوشت طیور ۱۸ درصد افزایش یافته و به ۱۲٫۴ میلیون تن رسیده است [۶]. تخمین میزان تولید گوشت مرغ در ده کشور پیشرو در جهان تا سال ۲۰۲۵ نشان داده است که آمریکا با تولید ۲۰٫۷۸۷/۳ هزار تن از میان ۱۲۸٫۵۰۹/۵ هزار تن تولید جهانی در رتبه اول و کشورهای برزیل، چین، هند، مکزیک، اندونزی، ژاپن، ایران، ترکیه و روسیه به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند [۷]. با توجه به افزایش قابل ملاحظه جمعیت جهانی و کمبود منابع غذایی و نیز مطابق پیش‌بینی انجام شده توسط سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (فائو)^۲ مبنی بر افزایش ۱۶ درصدی میزان مصرف گوشت جهانی در سال ۲۰۲۵، افزایش سرعت رشد در توسعه صنعت پرورش طیور مورد نیاز است [۸]. این صنعت به واسطه رشد جمعیت و افزایش میزان تقاضای محصولات پروتئینی در سالیان اخیر مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است که به دلایل متعددی در مقایسه با سایر صنایع دامپروری نیز از جایگاه خاصی برخوردار است [۹]. از جمله دلایل برتری این صنعت می‌توان به گردش سریع مالی، دوره رشد کوتاه، پرورش در فضای متراکم و سهولت در تغذیه اشاره کرد [۱۰]. در حال حاضر، طیور و فراورده‌های آن نقش مهمی در زنجیره غذایی انسان بازی می‌کنند. صنایع طیور در ایران با برخورداری از بیشترین منابع نیروی انسانی، یکی از منابع اقتصادی با اهمیت کشور است. بنابراین، توسعه و پیشرفت این صنعت برای کسب بازارهای منطقه دارای اهمیت است. و بسترسازی و برنامه‌ریزی مناسب و نیز شناسایی مشکلات و چالش‌های موجود برای ارائه راهکارهای موثر، می‌تواند در توسعه این صنعت مفید باشد [۸].

^۲ FAO^۱ Poultry industry

۲- مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری، مطالعات انجام شده تا سال ۲۰۲۳ در زمینه انواع روش‌های تشخیص جنسیت آزمایشگاهی و صنعتی تخم‌مرغ، بررسی شده است. این مقالات با جستجوی کلمات کلیدی در پایگاه‌های اطلاعاتی، PubMed، Scopus و همچنین موتور جستجوی گوگل حاصل شدند و مطالعاتی که در زمینه کاربرد روش‌ها در مراکز تحقیقاتی و صنعتی، استفاده شده است، بررسی شد و مقالات تکراری از مطالعه حذف شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اهمیت تعیین جنسیت تخم‌مرغ در مراحل

جوجه‌ریزی

در صنعت مرغداری و جوجه‌کشی، بسیاری از مقاصد اقتصادی از قبیل هزینه‌های تولید، میزان نیروی کار و تخصص‌های لازم و نیز جنسیت جوجه‌ها تأثیر قابل توجهی بر عملکرد تولید و منافع اقتصادی دارد. از نظر تولید تخم، پرندگان نر قادر به تخم‌گذاری نیستند و همچنین اغلب در مقایسه با جوجه‌های گوشتی نسبت گوشت به خوراک کمتری دارند. از این‌رو، جوجه‌های نر برای تولید تخم یا تولید گوشت مناسب نبوده و معمولاً در صنعت مربوطه زائد محسوب می‌شوند و بلافاصله پس از شناسایی کشته می‌شوند. حداقل ۲۰-۱۵ درصد هزینه‌های مربوط به پرورش مرغ به تامین جوجه‌های یک روزه اختصاص دارد [۱۱ و ۱]. پس از خروج جوجه‌ها از تخم و شناسایی و انتخاب، جوجه‌های نر با استفاده از روش‌های مختلف نظیر خفه‌کردن با گاز آرگون یا دی اکسید کربن یا قراردادن در محیط‌های بدون اکسیژن، به‌طور غیراخلاقی معدوم می‌شوند. تعدادی از آنها نیز رنگ‌آمیزی شده و به‌عنوان حیوانات زینتی فروخته می‌شوند [۱۲]. با وجود توسعه این صنعت در سال‌های اخیر، نگرانی‌های اخلاقی و اقتصادی مربوط به معدوم‌سازی جوجه‌های نر (تقریباً ۷ میلیارد جوجه در هر سال در

جهان، معادل ضرر ۱/۴ میلیارد دلاری) به یک مسئله فزاینده در صنعت تخم‌مرغ تبدیل شده است. بر این اساس، لزوم توجه به رفتار اخلاقی، به مفهوم اتخاذ راهبردهای مدیریتی مناسب در جهت ایجاد رابطه‌ای مناسب میان عملکرد اقتصادی سازمان، عملکرد اجتماعی آنان با کل جامعه و محیط زیست، حائز اهمیت است [۱]. در حال حاضر، متداول‌ترین و اولین روش تشخیصی برای تعیین جنسیت جوجه‌های متولد شده بررسی مورفولوژی پر و کلوک^۳ جوجه‌ها است. اما این شیوه نمی‌تواند از بسیاری از مشکلات اخلاقی و اقتصادی جلوگیری کند و رضایت حامیان حقوق و رفاه حیوانات را تامین کند [۱۳]. تا به امروز، هیچ رویکرد اقتصادی امکان‌پذیر در تعیین جنسیت تخم‌مرغ برای کاربردهای در مقیاس صنعتی توسعه داده نشده است [۱۵ و ۱۴]. نگهداری جوجه‌های نر سبب مصرف زیاد مواد غذایی و کاهش بسیار زیاد درآمد دریافتی پس از کشتار خواهد شد. همچنین، سایر ضررهای اقتصادی از قبیل استفاده از دستگاه‌های جوجه‌کشی اضافی، انرژی الکتریکی اضافی صرف شده برای دستگاه‌های جوجه‌کشی و افزایش تعداد کارکنان، رخ خواهد داد که بر این اساس درآمد دریافتی پس از کشتار بسیار کمتر از هزینه خواهد بود [۱۶]. به‌عنوان مثال، در مزرعه‌ای که ۱۰۰ هزار قطعه جوجه نر دارد، میزان وزن غذای روزانه مصرفی آن تا ۱۰ هزار کیلوگرم مورد نیاز است. بنابراین، اگر قیمت هر کیلو خوراک آنها یک دلار در نظر گرفته شود، ۱۰ هزار دلار در روز صرفاً هزینه تامین خوراک آنها خواهد بود. در حالی‌که، قیمت هر کیلو گوشت آنها حداکثر ۲ دلار می‌باشد که عموماً وزن آنها نیز بیشتر از ۲ کیلوگرم نخواهد بود. بر اساس فرض فوق، میزان درآمد حاصله طی یک دوره شش ماهه، ۴۰۰ هزار دلار خواهد بود. در حالی‌که، هزینه ۱۸۰۰ هزار دلاری را در همان مدت زمان به همراه خواهد داشت. بنابراین، با

^۳ Cloak

امکان شناسایی جنسیت جنین جوجه در مراحل اولیه جنینی و یا حتی پیش از انکوباسیون، ضمن استفاده از آنها به عنوان اجزای خوراک طیور، م‌توان هزینه‌های مربوطه، فضای مورد استفاده و مصرف انرژی را کاهش داد. این امر، کاهش میزان انتشار CO₂ را در بر خواهد داشت و علاوه بر آنکه از نظر اقتصادی حائز اهمیت است، از دیدگاه زیست محیطی نیز ارزشمند است [۱۶].

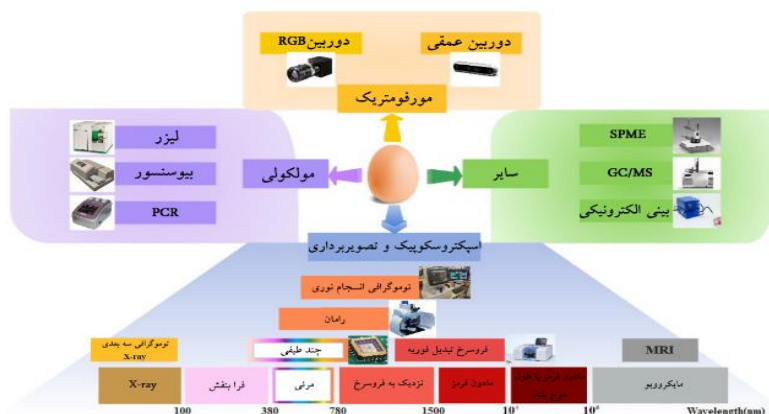
۲-۳- فناوری‌های نوین بکارگیری شده در تعیین جنسیت تخم مرغ

روش‌های تعیین جنسیت زود هنگام در صنعت طیور در سراسر جهان امری مهم تلقی می‌شود. چرا که فارغ از

تاثیر شگرف آن در بهبود عملکرد اقتصادی، می‌تواند راهکاری موثر در جهت حل مسائل اخلاقی مربوط به آنها، ارائه کند [۱۷]. تاکنون روش‌های فناورانه تهاجمی و غیرتهاجمی متفاوتی جهت تعیین جنسیت جنین‌های جوجه ابداع شده است (جدول ۱ و شکل ۱). از آنجایی که، روش‌های تشخیصی تهاجمی علاوه بر آن که می‌تواند با خطا همراه باشد، اغلب منجر به کاهش زنده ماندن نمونه‌ها می‌شود، تمرکز بیشتر بر توسعه روش‌های غیرتهاجمی برای افزایش دقت و زنده‌مانی نمونه‌ها، بوده است [۱۵ و ۱۳].

جدول ۱ دسته بندی انواع روش‌های کاربردی در زمینه تعیین جنسیت تخم مرغ [۱۵]

روش‌های غیرتهاجمی	روش‌های تهاجمی
روش‌های مبتنی بر مورفولوژی شامل بررسی شکل بیرونی پوسته تخم مرغ و میزان توزیع عروق خونی	روش‌های مولکولی شامل بررسی محتویات کروموزومی درون هسته سلول، بررسی غلظت های هورمونی در مایع آلتوتویک، PCR، آنالیزهای ژنتیکی سلول‌های بلاستودرم.
روش‌های مبتنی بر طیف شامل تصویربرداری فراطیفی (HSI)، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI)	روش‌های مبتنی بر طیف شامل FTIR، اسپکتروسکوپی رامان، توموگرافی سه بعدی X-ray، توموگرافی انسجام نوری (OCT)



شکل ۱ تصویری از روش‌های مختلف مورد استفاده در تعیین جنسیت تخم مرغ [۱۵]

مشاهده می‌شود. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از این روش به چهار ساعت زمان نیاز دارد. با این حال می‌تواند جنسیت جنین را تا روز نهم جوجه‌کشی با دقت بیش از ۹۸ درصد تشخیص دهد. استفاده از این روش سبب کاهش معنادار نرخ جوجه‌ریزی شده است [۱۸]. در این راستا، شرکت آلمانی SELEGGT در نهمین روز انکوباسیون از لیزر جهت ایجاد سوراخی به قطر ۰,۳۳ میلی‌متر در پوسته تخم مرغ برای دریافت نمونه از مایع آلتوتوئیک استفاده کرده است تا با اندازه‌گیری سطح استروژن سولفات که تنها در جنین‌های جوجه ماده وجود دارد، با دقت ۹۸/۵ درصد و با توان عملیاتی ۱ تا ۳۰۰۰ تخم در ساعت به صورت خودکار، جنین‌های جوجه را تعیین جنسیت کند [۱۹]. شرکت هلندی In Ovo در شهر لیدن نیز با ایجاد و توسعه دستگاهی به نام Ella، قادر به تجزیه و تحلیل میزان استرادیول موجود در مایع آلتوتوئیک تخم مرغ‌ها، در نهمین روز انکوباسیون است که بر این اساس ۱ تا ۱۵۰۰ تخم در ساعت را می‌تواند تعیین جنسیت کند [۲۰].

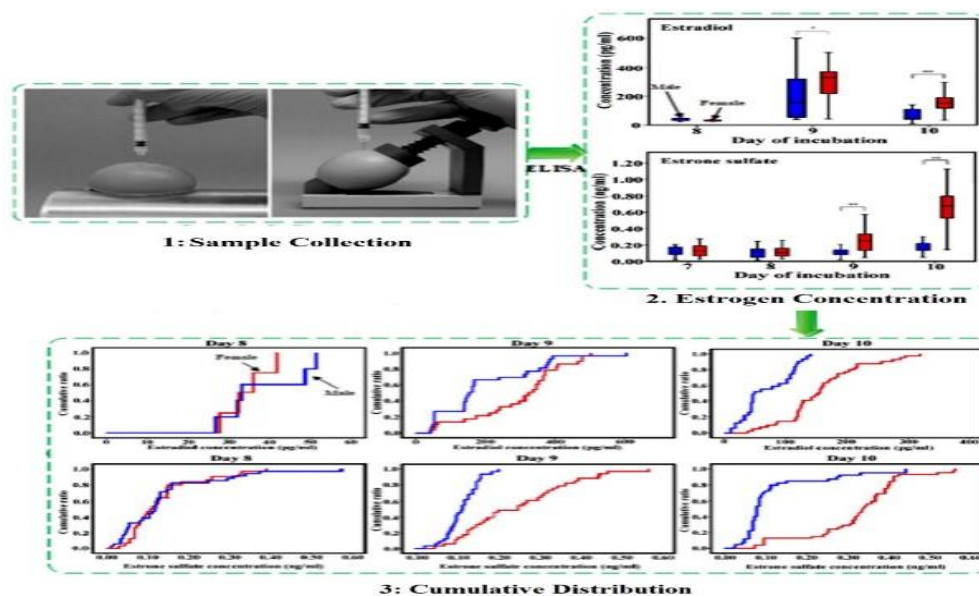
به‌طور کلی، از آنجایی که روش‌های تعیین جنسیت غیرتهاجمی، معمولاً نیاز به نمونه‌گیری از خون، مایعات و ژنوم جنین‌ها ندارد و می‌تواند در مدت زمان معقولی بدون تجزیه و تحلیل‌های شیمیایی و ژنتیکی جنسیت تخم مرغ را مشخص کند، قابلیت در نظر گرفتن به‌عنوان رویکردی مناسب‌تر برای استفاده در صنعت مرغداری و طیور را دارد [۱۳]. در ادامه به تشریح بیشتر این فناوری پرداخته می‌شود.

۱-۲-۳ روش‌های تشخیصی تهاجمی

۱-۱-۲-۳ بررسی بیوشیمیایی غلظت‌های استروژن

سولفات در مایع آلتوتوئیک

هورمون استروژن سولفات موجود در مایع آلتوتوئیک را می‌توان برای تعیین جنسیت تخم مرغ در روز نهم انکوباسیون اندازه‌گیری کرد. تحقیقات نشان داده است که سطح هورمون فوق در تخم مرغ نر به‌طور قابل توجهی کمتر از تخم ماده است. به‌طوری‌که، مطابق شکل ۲، اختلاف معناداری میان سطوح استروژن سولفات در نهمین و دهمین روز انکوباسیون (با استفاده از روش الایزا)



شکل ۲ ارزیابی غلظت هورمون استروژن سولفات به روش الایزا در روزهای ۸، ۹ و ۱۰ انکوباسیون در مایع آلتوتوئیک. نمودار آبی رنگ نشانگر جنسیت نر و نمودار قرمز رنگ نشانگر جنسیت ماده می‌باشد [۱۸].

۳-۲-۱ روش‌های مولکولی در تعیین جنسیت تخم‌مرغ

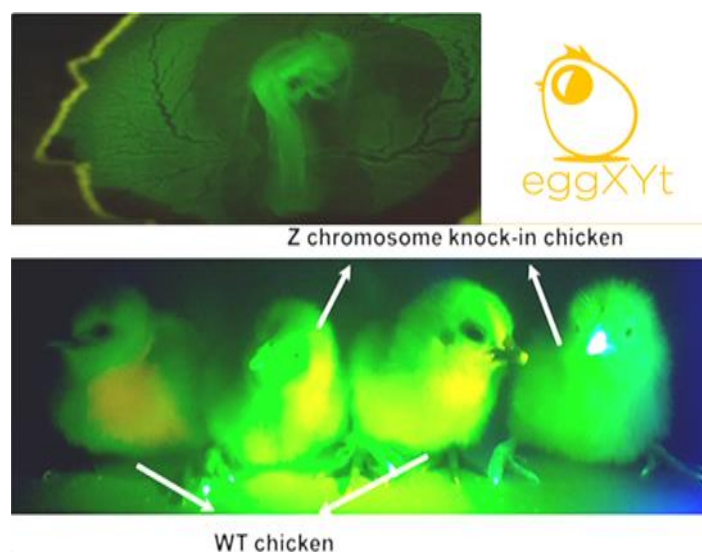
روش‌های تشخیصی مبتنی بر ژنوم دارای استاندارد کافی برای تعیین دقیق جنسیت جنین‌های جوجه است، به‌طوری‌که، در میان سایر روش‌های تعیین جنسیت، دارای بیشترین دقت و حساسیت است. اما برای استخراج محتویات تخم‌مرغ نیاز به کارکنان ماهر در آزمایشگاه‌های تایید شده دارند. در ادامه به انواع متداول روش‌های تشخیصی مبتنی بر ژنوم در تعیین جنسیت تخم‌مرغ اشاره می‌شود [۱۵].

۳-۲-۱-۲ بهره‌گیری از فناوری کریسپر

کریسپر-Cas به‌عنوان یک روش کارآمد برای ویرایش دقیق ژن و اصلاح ژنوم در موجودات مختلف از جمله گونه‌های پرندگان مورد توجه قرار گرفته است. فناوری کریسپر کارایی فرایند ویرایش ژن را در مقایسه با سایر فرایندهای مدرن موجود در نوترکیبی همولوگ به‌طور قابل توجهی افزایش داده است. ویرایش ژن با واسطه کریسپر-Cas در پستانداران کوچک مانند موش و پستانداران بزرگ مانند خوک نسبت به گونه‌های پرندگان نظیر جوجه‌ها پیشرفته‌تر است، اما به زودی ویرایش ژنوم در طیور وارد دوره بسیار رقابتی خواهد شد. توسعه و بهبود فناوری کریسپر، امکان تولید طیور تراریخته را برای افزایش تولید گوشت یا تخم‌مرغ، فراهم کرده است. تأثیر فناوری کریسپر به‌طور بالقوه می‌تواند منجر به بهبود کارآمد و پایداری محصولات طیور شود که به رفع چالش‌های مرتبط با امنیت غذایی در جهان کمک می‌کند. پرندگانی که با استفاده از این فناوری برای تولید گوشت و تخم‌مرغ پرورش می‌یابند، می‌توانند تأثیر زیادی بر پیشرفت صفات مربوط به آنها مانند بهبود قابلیت هضم، افزایش تولید تخم‌مرغ، رشد و بهبود عملکرد کلی پرندگان داشته باشند. نوآوری‌های حاصل از فناوری کریسپر، همچنین می‌تواند به پیشرفت‌هایی در زمینه‌هایی

مانند مقاومت در برابر بیماری، عملکرد سیستم ایمنی و تحویل واکسن منجر شود که به نوبه خود باعث افزایش سلامت طیور، افزایش ایمنی واکسن‌های تولید شده با استفاده از تخم‌مرغ و افزایش ایمنی و تولید مواد غذایی می‌شود [۲۱]. از دیگر کاربردهای فناوری کریسپر، استفاده از آن در جهت تعیین جنسیت جنین‌های جوجه در روزهای ابتدایی انکوباسیون می‌باشد. شرکتی از رژیم صهیونیستی بنام eggXYt، توانسته است با بهره‌گیری از روش فوق و ویرایش دقیق ژن‌های مرغ و افزودن قطعه‌ای از DNA که نشانگر زیستی فلورسنت را به کروموزوم‌های جنسی نر می‌دهد، این امکان را ایجاد کند که تخم‌های دارای جنین نر زیر اسکنر الکترواپتیکال بدرخشند و به راحتی از تخم‌های ماده جدا شوند (شکل ۳). در این روش جنین‌های ماده تحت تأثیر این ویرایش قرار نمی‌گیرند. بنابراین، زمانی‌که، از تخم بیرون می‌آیند از نظر زیستی با مرغ‌های ویرایش نشده یکسان هستند. تخم‌های ماده هیچ سیگنالی از خود نشان نمی‌دهند، اما نشانگرهای زیستی در تخم‌های نر به رنگ سبز روشن می‌درخشند. بنابراین، از ورود تخم‌های حاوی جنین نر به مرحله جوجه‌ریزی جلوگیری شده و در عوض می‌توان از آنها در صنایع داروسازی و آرایشی استفاده کرد [۲۲ و ۲۱]. استفاده از روش‌های ویرایش ژنی می‌تواند معایبی مانند، ایجاد جهش و ناهنجاری‌های ناخواسته را نیز به همراه داشته باشد. بنابراین، انجام مطالعات بیشتری در خصوص ارزیابی تعادل میان فواید و مضرات آن، حائز اهمیت است [۲۳].

به‌طور کلی، روش‌هایی که امکان شناسایی جنین‌های ماده و نر با استفاده از مهندسی ژنتیک را فراهم می‌کند، به‌طور عمومی مورد انتقاد قرار می‌گیرند و احتمالاً به دلیل عدم پذیرش مصرف‌کننده، حداقل در کشورهای اروپای غربی، استفاده نخواهند شد [۲۴].



شکل ۳ تصویری شماتیک از تعیین جنسیت تخم مرغ با فناوری کریسپر. جنین ۲,۵ روزه نر که تحت تابش نور فلوروسنت به رنگ سبز می درخشد (بالا- چپ)، لوگوی شرکت مربوطه (بالا- راست)، تفکیک جوجه‌های نر ترانس ژنیک از جوجه‌های ماده طبیعی که با درخشش تحت تابش نور فلوروسنت، قابل تشخیص است (پایین).

کروموزوم Z می‌باشد. بر این اساس، این اختلاف در طول بر روی ژل آگارز قابل مشاهده است. این روش دارای دقت بالایی است، با این وجود گران‌تر و زمان‌بر تر از سایر روش‌ها می‌باشد [۲۵]. در این راستا شرکت آلمانی PLANT egg نیز موفق به توسعه استفاده از PCR در راستای ارزیابی تفاوت‌های ژنتیکی موجود در DNA مایع آلتوتئیک و در نتیجه تشخیص جنسیت جنین‌های جوجه شده است. بنابراین، جنسیت را می‌توان در مراحل اولیه انکوباسیون با دقت بالا و بسیار سریع (در عرض یک ساعت) تعیین کرد. تخم‌هایی که جوجه‌های نر از آنها بیرون می‌آیند را می‌توان زودتر جدا کرده و برای مقاصد دیگر استفاده کرد [۲۶]. علاوه بر این، یک رویکرد متفاوت از PCR معمول، برای برش اسیدهای نوکلئیک در مکان‌های خاص و بر اساس ساختار به جای توالی استفاده، وجود دارد. به طوری که، با طراحی دو پروب الیگونوکلئوتیدی (شامل یک پروب اولیه و یک پروب ثانویه) که به صورت پشت سر هم با DNA هدف هیبرید

با این حال، کاربردهای آتی فناوری کریسپر در طیور دارای پتانسیل‌های امیدوارکننده و فوق‌العاده‌ای در تحقیقات زیست‌پزشکی است که به دلیل فرصت‌های گسترده جهت درمان و پیشگیری از بیماری‌ها می‌تواند برای بشر مفید واقع شود. به این ترتیب، آخرین پیشرفت‌ها در فناوری ویرایش ژنی کریسپر ممکن است به کاهش یا حذف موانع موجود در جهت توسعه آن منجر شود و درک عمومی و مقبولیت این فناوری را ارتقا دهد [۲۱].

۲-۳-۲-۱-۲-۲ بهره‌گیری از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

استفاده از PCR به عنوان یک روش متداول برای تشخیص جنسیت جوجه‌های پرندگان با هدف تکثیر ژن‌های وابسته به جنس، مانند، ژن CHD واقع در کروموزوم‌های جنسی Z و W، یکی دیگر از تکنیک‌های مرسوم است. این ژن از لحاظ طول و نوع بازها در پرندگان کوچک جنسه و در نواحی ایترونی دارای اختلاف طول هستند. به طوری که، این ژن در کروموزوم W طویل‌تر از

ژن‌ها ارزیابی و آنالیز می‌شود. سپس، برای دستیابی به نتیجه نهایی از نرم‌افزارهای آماری و بیوانفورماتیکی استفاده می‌شود. مشاهده شده است بیان برخی ژن‌ها در ماده‌ها نسبت به نرها بیشتر است و برخی دیگر از ژن‌ها نیز در نرها بیشتر بیان می‌شوند. روش آنالیز RNA-seq با سنجش این مقادیر نسبت به تعیین جنسیت اقدام می‌کند. در این زمینه با بررسی ژن‌های مربوط به سلول‌های زایایی اولیه در مراحل مختلف جنین جوجه، می‌توان جنسیت آنها را شناسایی کرد. هزینه‌بر و زمان‌بر بودن این روش، از جمله محدودیت‌های این روش است [۲۹].

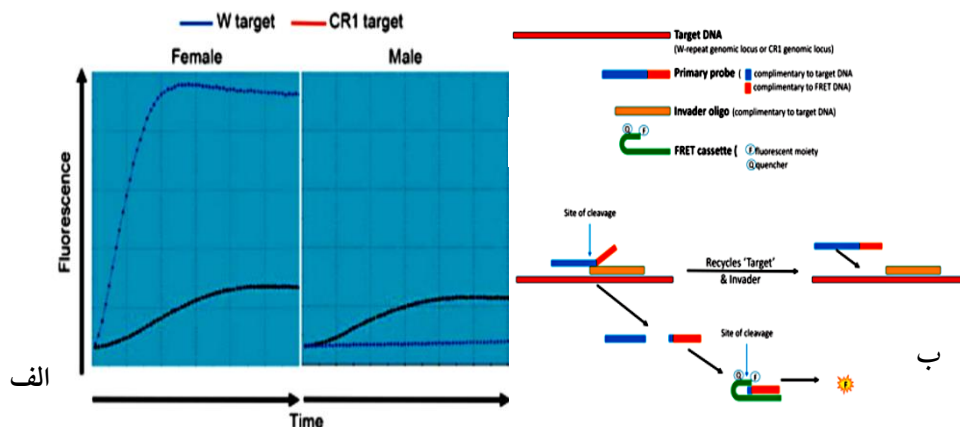
۳-۲-۱-۳ روش‌های مبتنی بر طیف‌سنجی

این روش مبتنی بر ارزیابی ترکیبات بیوشیمیایی بوده که می‌تواند تفاوت‌های ژنتیکی و متابولیکی را نمایان کند. در اکثر حیوانات از جمله پرندگان، اطلاعات جنسی به صورت کدهای ژنتیکی رمزگذاری شده است. به عنوان مثال سلول‌های جوجه نر دارای کروموزوم‌های بزرگ‌تر است، که امکان تعیین جنسیت توسط طیف‌سنجی نوری بر اساس مقادیر مختلف DNA را فراهم می‌کند [۳۰].

می‌شوند، سبب ایجاد یک ساختار می‌شود. انتهای ۵' پروب اولیه با DNA هدف غیرمکمل است و بنابراین قابل هیبرید شدن با توالی هدف نیست. با این حال، انتهای ۳' پروب ثانویه، مکمل آن است و با آن هیبرید می‌شود. سپس، یک آنزیم، ساختار همپوشانی ایجاد شده را شناسایی کرده و سبب ایجاد برش در آن ناحیه می‌شود. ناحیه ۵' پروب اولیه متصل به پروب ثانویه آزاد شده و سپس در یک واکنش ثانویه (انتقال انرژی رزونانس فلورسانس (FRET)) شرکت می‌کنند که سبب نشر یک سیگنال فلورسانس می‌شود که قابلیت تشخیص یک ناحیه خاص را ممکن می‌کند (شکل ۴) [۲۷].

۳-۲-۱-۳ بهره‌گیری از آنالیز RNA-seq

با استفاده از این روش ژن‌های احتمالی دخیل در تمایز گنادها شناسایی می‌شود. به طوری که، تاکنون بیش از هزار ژن وابسته به جنس شناسایی شده است [۲۸]. ارزیابی‌های حاصل از این روش قادر است که جنس‌های مختلف را از هم متمایز کند. این تکنیک نوعی روش تهاجمی است که پس از دریافت نمونه از گنادها و خون جنینی، میزان بیان

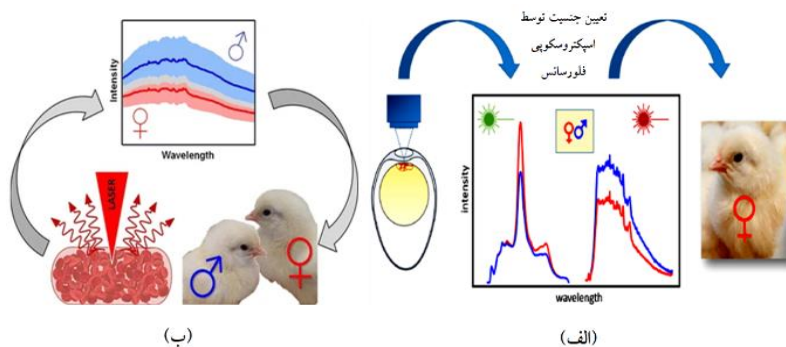


شکل ۴ راست - تصویری از مکانیسم تشخیص جنسیت جنین‌های جوجه. (الف) اجزای نوکلئیک اسیدی مورد نیاز در سنجش جنسیت، (ب) ایجاد سیگنال فلورسانس. چپ - نمودارهای فلورسانس نشر شده برای توالی تکراری W (توالی ویژه کروموزوم جنسی ماده) به رنگ آبی و توالی تکراری CR1 (توالی مشترک کروموزوم جنسی نر و ماده) به رنگ قرمز [۲۷].

طیف سنجی فلورسانس این مزیت را دارد که جنسیت جنین جوجه را در مراحل اولیه انکوباسیون با دقت بیش از ۹۳ درصد در مدت زمان ۵ ثانیه تشخیص دهد. با این حال، نیاز به ایجاد یک پنجره کوچک در سطح تخم مرغ برای دریافت نمونه از آن، وجود دارد که این امر می تواند ادامه فرایند جوجه کشی را به خطر بیندازد. در یک مطالعه بیش از ۱۶۰۰ تخم مرغ در دو طول موج ۵۳۲ و ۷۸۵ نانومتر توسط روشی مبتنی بر فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر آن بوده است که شدت فلورسانس ساطع شده از هموگلوبین های جنینی در دو جنس نر و ماده با یکدیگر اختلاف معناداری داشته است. به طوری که توانسته است جنسیت را با دقت درصد در هر دو جنس تشخیص دهد [۳۱]. در پژوهش مشابه دیگر، ۳۸۰ تخم مرغ در طول موج ۹۱۰ نانومتر بررسی شد که بر اساس نتایج به دست آمده با دقت ۹۳ درصد جنین های جوجه تعیین جنسیت شده اند (شکل ۵) [۳۲].

طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) یکی دیگر از روش های تعیین جنسیت در تخم مرغ مبتنی بر طیف سنجی است که تفاوت های در میزان DNA را می تواند اندازه گیری کند.

روش های مبتنی بر طیف نیز پتانسیل بالایی را نشان می دهند، اما نیاز به پردازش و مدل سازی پیچیده داده ها دارند. در پرندگان، نرها دو کروموزوم جنسی یکسان (ZZ) دارند، در حالی که، ماده ها کروموزوم های هتروگامتیک (ZW) دارند. تفاوت در محتوای DNA بین جوجه های نر و ماده تقریباً دو درصد است. بر این اساس استفاده از فلوسیتومتری به عنوان یک ابزار مناسب برای ارزیابی محتوای DNA می تواند مفید واقع شود. چراکه شدت فلورسانس ساطع شده توسط هر هسته مستقیماً با مقدار DNA موجود در آن، متناسب است. این امر می تواند اختلافات محتوای DNA میان کروموزوم های جنسی نر و ماده را شناسایی کند اما فلوسیتومتری علی رغم دقیق بودن آن، راندمان پایینی دارد. به طوری که، برای تحقیقات آزمایشگاهی مناسب تر از کاربردهای صنعتی آن است [۱۵]. استفاده از سایر روش های طیف سنجی از قبیل طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) [۳۰]، اسپکتروسکوپی رامان [۳۰]، توموگرافی سه بعدی X-ray (Micro-CT) [۱۵] و توموگرافی انسجام نوری (OCT) [۳۱] نیز در تعیین جنسیت جنین های جوجه می تواند موثر واقع شود که در ادامه به بررسی آنها پرداخته می شود.



شکل ۵ (الف) تصویری از تعیین جنسیت جنین های جوجه با لیزر در دو طول موج مختلف. در نمودار سمت چپ با طول موج ۵۳۲ نانومتر، نرها دارای پیک بلندتری بوده اند ولی در نمودار سمت راست، ماده ها در طول موج ۷۵۸ نانومتر، پیک جذب بلندتری را نشان داده است (۳۲). (ب) تعیین جنسیت جنین های جوجه در طول موج ۹۱۰ نانومتر. مطابق آن، نرها پیک جذب بلندتری را نشان داده است (۳۰). نمودارهای آبی رنگ بیانگر جنس نر و نمودارهای قرمز رنگ بیانگر جنس ماده است.

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) از یک فرایند ریاضی (تبدیل فوریه) برای تبدیل داده‌های خام (اینترفروگرام) به طیف‌های واقعی استفاده می‌کند. طیف‌های انتقال و جذب فروسرخ می‌توانند اطلاعات مولکولی را در مورد جنسیت پرندگان در اختیار قرار دهد [۳۳]. پس از تخم‌گذاری، یک دیسک ژرمینال کوچک (۴-۵ میلی‌متر) از وزیکول ژرمینال تخمک و سیتوپلاسم اطراف آن تشکیل شده است و جنسیت تخمک را می‌توان با طیف‌سنجی فوق و روش‌های دیگر در این ناحیه در حالت انکوبه نشده تعیین کرد [۳۴]. در روز دوم انکوباسیون، ناحیه بلاستودرم رشد می‌کند و سیستم عروقی را تشکیل می‌دهند. در حالی که، قلب در محل دیگری تشکیل می‌شود. پس از ۳ روز انکوباسیون، جنین‌ها ضربان قلب دارند و عروق خونی کوچکی ایجاد می‌کنند که می‌توان از آنها برای تشخیص جنین‌های نر و ماده استفاده کرد. از این روش فوق، مبتنی بر تعیین محل بلاستودرم و بررسی ترکیبات شیمیایی سلول‌های آن است. با این حال، استفاده از روش فوق می‌تواند منجر به آسیب رسیدن به سلول‌های بلاستودرم شود و بنابراین، نرخ جوجه‌کشی را کاهش دهد [۱۵]. در طیف‌سنجی رامان بر خلاف طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه از امواج دارای طول موج نزدیک به فروسرخ^۴ (NIR) (مانند طول موج ۷۸۵ نانومتر) استفاده می‌شود. از آنجایی که، این امواج انرژی کافی برای ایجاد تغییرات مولکولی ندارند، در نتیجه توانایی ایجاد آسیب به سلول‌های زنده را ندارند. تجزیه و تحلیل طیف‌سنجی سیگنال‌های فلورسانس NIR جریان خون در عروق خارج جنینی می‌تواند تخم‌مرغ‌های نر و ماده را با دقت ۹۱ درصد متمایز کند. به طوری که، جنین‌های نر سیگنال فلورسانس قوی‌تری نسبت به جنین‌های ماده دارند، که ممکن است به دلیل تراکم بالاتر سلول‌های خونی در آنها باشد [۳۰ و ۱۵]. با این وجود، از

آنجایی که نیاز به شکافتن پوسته تخم‌مرغ برای دسترسی به عروق خونی جنین دارد، می‌تواند با ایجاد خطر آلودگی جنین و کاهش میزان جوجه‌ریزی، همراه باشد [۱۳]. توموگرافی سه بعدی اشعه ایکس^۵ (Micro-CT) یک فناوری تصویربرداری سه بعدی است که از اشعه ایکس برای تجسم قسمت داخلی یک جسم به صورت تکه تکه استفاده می‌کند. تجزیه و تحلیل ژنتیکی مولکولی بلاستوسیسست‌های پوستی را می‌توان برای جنسیت تخم‌مرغ‌های انکوبه نشده استفاده کرد. با این حال، آگاهی از محل دقیق دیسک ژرمینال برای تهیه بیوپسی سلولی با هدایت دقیق بسیار مهم است. در واقع روش فوق، روشی مناسب برای تعیین موقعیت دیسک ژرمینال در تخمک‌های انکوبه نشده بدون ایجاد آسیب به پوسته تخم‌مرغ است. در روش فوق هیچ اثر منفی بر رشد جنین یا سرعت جوجه‌کشی تخم‌های جوجه‌کشی تحت تابش، شناسایی نشده است [۱۵]. توموگرافی انسجام نوری (OCT) نیز یک روش تصویربرداری نوری است که امکان ایجاد یک تصویر سه بعدی از ساختارهای بافتی را در ابعاد میکرون، ممکن می‌کند. این روش برای تصویربرداری و تعیین موقعیت دقیق دیسک ژرمینال در تخم‌مرغ‌ها موثر واقع شده است. علاوه بر آن از دوربین‌های OCT میکروسکوپی برای مکان‌یابی دقیق عروق خونی خارج جنینی بدون ایجاد آسیب به غشای داخلی پوسته تخم‌مرغ نیز استفاده شده است [۳۰].

۲-۲-۳ روش‌های تشخیصی غیرتهاجمی

این دسته از روش‌ها، عدم آسیب‌رسانی به جنین‌های جوجه را سبب شده و خطرات مربوط به کاهش درصد زنده‌مانی آنها را به دنبال ندارد. بر این اساس روش‌های مختلفی از قبیل تشخیص مبتنی بر مورفولوژی و روش‌های مبتنی بر طیف مانند تصویربرداری فراطیفی

^۴ Near-infrared (NIR) excitation wavelengths

^۵ 3D X-Ray Microcomputed Tomography

این دسته از روش‌ها را می‌توان برای تعیین جنسیت قبل از جوجه‌کشی استفاده نمود که هزینه‌های جوجه‌کشی را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. در یک تحقیق مشخص شده است که شاخص شکل، طول، عرض و حجم تخم‌مرغ بین تخم‌های نر و ماده تفاوت معنی‌داری داشته است. در حالی‌که، وزن تخم و تعداد آنها تفاوت معنی‌داری نداشته است [۳۵]. همچنین، در پژوهشی دیگر به تعیین جنسیت جنین‌های جوجه با دقت بالا با استفاده از شاخص شکل تخم‌مرغ پرداخته شده است. به طوری‌که، مشاهده شده است میان نسبت قطر کوچک به قطر بزرگ تخم‌مرغ‌ها با جنسیت جنین‌های جوجه همبستگی وجود دارد. این شیوه، منجر به طبقه‌بندی جنسیت جنین‌های جوجه با دقت حدود ۸۰ درصد شده است [۳۶]. با این حال، در مطالعه دیگری در همین زمینه، ۱۲۲۳ تخم‌مرغ ارزیابی شد که مطابق نتایج آن، تفاوت‌های شکل بیرونی را نمی‌توان با جنس مرتبط دانست. بنابراین، می‌توان مشاهده کرد که هیچ همبستگی معناداری میان مورفولوژی پوسته تخم‌مرغ و جنسیت جنین جوجه وجود نداشته است. در نتیجه تاکنون این روش توسط صنایع مرغداری پذیرفته نشده است [۱۵].

(HSI) و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی، قابل استفاده هستند که در ادامه به بررسی آنها پرداخته می‌شود [۱۵].

۳-۲-۱ روش‌های تشخیصی مبتنی بر مورفولوژی

این دسته از روش‌ها به طور کلی بر روی بررسی شکل بیرونی پوسته تخم‌مرغ، طول، عرض و حجم تخم‌مرغ‌ها و چگونگی توزیع عروق خونی تمرکز دارد که روش‌های جدیدی را برای تعیین جنسیت جنین جوجه در تخم‌مرغ ارائه می‌کند و قابلیت توسعه برای این هدف را نیز دارند. روش‌های تشخیصی مبتنی بر مورفولوژی، نسبت به سایر روش‌های تعیین جنسیت، ضمن غیرتهاجمی بودن، سریع‌تر و کم هزینه‌تر هستند. با این حال، دقت تشخیص آنها تقریباً ۸۰-۸۵ درصد است که کمتر از دقت روش‌های مولکولی و طیفی در روش‌های تشخیصی تهاجمی است. همچنین، آنها با چالش‌هایی مانند رنگ، ضخامت و صافی پوسته تخم‌مرغ روبه‌رو هستند که به کارگیری راهکارهایی (مانند ادغام چندین حسگر تشخیصی با یکدیگر) برای فائق آمدن بر آنها حائز اهمیت است [۱۵ و ۱۳]. تصویری از روند تکوینی جنین در تخم‌مرغ در شکل ۶ ارائه شده است.

۳-۲-۲-۱ روش‌های شناسایی مبتنی بر شکل بیرونی

پوسته تخم‌مرغ



شکل ۶ روند تکوین جنین تخم‌مرغ از لحاظ مورفولوژی [۱۵].

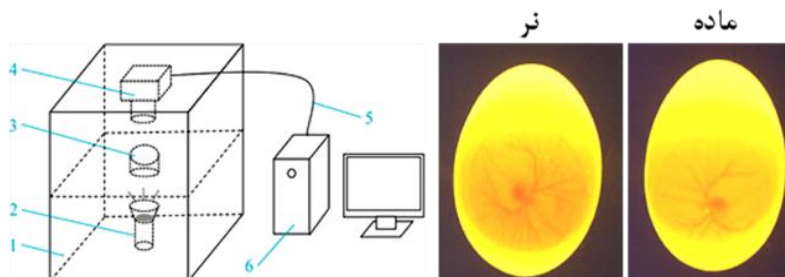
۳-۲-۲-۱-۲ روش‌های شناسایی مبتنی بر توزیع عروق خونی

توزیع عروق خونی می‌تواند برای شناسایی جنسیت جنین جوجه در روز چهارم جوجه‌کشی استفاده شود. مطابق بررسی‌های انجام شده، مشاهده شده است، جنین‌های نر دارای عروق خونی اصلی ضخیم با تعداد زیاد عروق جانبی و چند شاخه‌ای نازک بودند که توزیع یکنواختی داشتند. در مقابل ضمن آنکه عروق خونی اصلی جنین‌های ماده نازک‌تر، با عروق جانبی کمتر و شاخه‌های نازک‌تر بودند، توزیع نسبتاً نامنظمی نیز داشتند (شکل ۷-راست). در نتیجه احتمالاً توسعه روش‌های مربوط به آنالیز تصاویر به دست آمده برای تشخیص جنسیت جنین‌های جوجه در ابعاد صنعتی می‌تواند مفید واقع شود [۳۷]. در مطالعه موردی مشاهده شده که استفاده از روش‌های یادگیری عمیق در خصوص ارزیابی و تحلیل تصاویر به دست آمده می‌تواند مفید باشد. به طوری که، مطابق یافته‌های مربوطه، این روش توانسته است ۸۸٫۱۴ درصد از جنین‌های جوجه ماده و ۸۲٫۸۶ درصد از جنین‌های جوجه نر را در مرحله انکوباسیون درست تشخیص دهد. بر این اساس، از آنجایی که، روش فوق ضمن غیرتهاجمی بودن، هزینه پایین‌تری را در قیاس با سایر روش‌ها به همراه دارد، می‌تواند مورد توجه قرار گیرد [۳۸]. همچنین، یکی از روش‌های تصویربرداری استفاده از سامانه

تصویربرداری ماشینی است. در این خصوص Zhu و همکاران در سال ۲۰۲۱، از یک دوربین صنعتی RGB و یک LED به قدرت ۱ وات به‌عنوان منبع روشن کننده استفاده کردند که فاصله آن تا جسم ۲۱۸ میلی‌متر تعیین شد. در فرایند گرفتن تصویر، تخم‌هایی که باید شناسایی شوند از انکوباتور خارج شدند و به مدت ۲ دقیقه به صورت افقی قرار گرفتند تا عروق خونی به سمت بالای تخمک حرکت کند. سپس، نمونه‌ها به همان صورت افقی قرار می‌گیرند تا تصاویر توسط دوربین بالا به دست بیاید. در نهایت هنگامی که تصاویر گرفته شد، برای کاهش اثرات منفی احتمالی روی تخم مرغ در حال جوجه‌کشی، تخم تعیین جنسیت شده بلافاصله در انکوباتور قرار داده شد و سپس تصویربرداری از نمونه بعدی آغاز می‌شود (شکل ۷-چپ) [۳۷]. به‌طور کلی، روش‌های تعیین جنسیت تخم مرغ مبتنی بر مورفولوژی که از دوربین‌های معمولی استفاده می‌کند، مقرون به صرفه‌تر از روش‌هایی هستند که از ابزارهای آنالیز شیمیایی گران قیمت، استفاده می‌کند [۱۵].

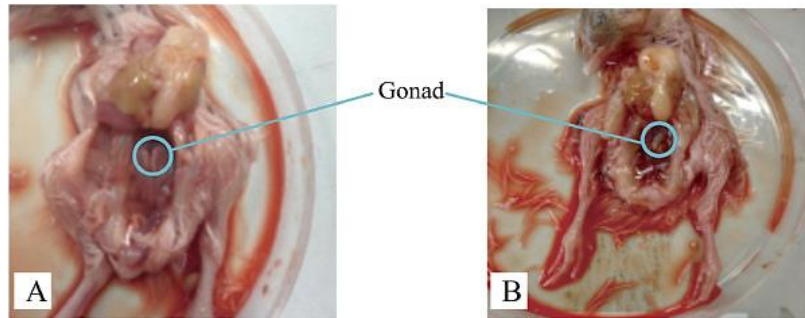
۳-۲-۲-۱-۳ بررسی تمایزات گناد جنسی جنین جوجه

تمایز مورفولوژیکی گناد جنینی مرغ از حدود روز ششم شروع می‌شود و در روز یازدهم خاتمه می‌یابد. تفاوت‌های مورفولوژیکی بین بیضه‌ها و تخمدان‌ها در روز نهم انکوباسیون قابل مشاهده است [۱۸].



شکل ۷ راست- تصاویر گرفته شده توسط دوربین که نشانگر جنین‌های نر و ماده است. چپ- تصویری از سامانه تصویربرداری ماشینی.

۱، اتاق تاریک؛ ۲، منبع نور؛ ۳، تخم مرغ؛ ۴، دوربین صنعتی؛ ۵، کابل داده و ۶، سیستم پردازشگر [۳۷].



شکل ۸ مورفولوژی گنادهای جنسی جنین‌های جوجه. جوجه نر در تصویر A و جوجه ماده در تصویر B قابل مشاهده است [۳۷].

هموگلوبین‌های جنینی مربوط به دو جنس نر و ماده، جنسیت آن به‌طور معناداری تشخیص داده می‌شود [۱۵]. همچنین، مشاهده شده است که جنین‌های نر درون تخم مرغ، اندازه بزرگتری نسبت به جنین‌های ماده دارند و از این رو امواج مادون قرمز بیشتری را نسبت به جنین‌های ماده جذب می‌کنند. در مطالعه‌ای که از امواج مادون قرمز برای بررسی میزان حرکات دینامیکی جنین درون تخم استفاده شد، مشخص شد که جنین‌های ماده فعالیت کمتری نسبت به نرها دارند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که امواج مادون قرمز با بررسی موارد مختلفی می‌تواند برای تعیین جنسیت جنین‌ها موثر واقع شود [۱۳]. استفاده از طیف‌های مرئی-نزدیک به فرسرخ (VIS/NIR) سبب شده است که جنسیت جنین‌های جوجه ۱۴ روزه را با دقت ۹۷ درصد تشخیص دهد [۳۹]. در مطالعه مشابه محدود به طیف مرئی-نزدیک فرسرخ (visNIR) از ۳۰۰ تا ۱۱۴۵ نانومتر جهت تعیین جنسیت جنین‌های جوجه، در روز هشتم تا چهاردهم جوجه‌کشی، استفاده شد که باعث تشخیص با دقت ۹۹٫۵۲ درصد در روز ۱۴ شد [۴۰]. در پژوهشی دیگر نیز، از امواج ۵۰۰-۹۰۰ نانومتر به همین منظور استفاده شد که بهترین اثر تشخیصی خود را در روز هفتم جوجه‌کشی از خود نشان داده است [۳۹]. شرکت آلمانی Agri Advanced Technologies GmbH، با ایجاد و توسعه دستگاهی به نام CHEGGY که مبتنی بر تصویربرداری فراطیفی می‌باشد،

در مطالعه‌ای برای به‌دست آوردن اطلاعات مربوط به جنسیت جوجه به‌صورت دقیق، تخم‌ها در روز ۱۵ جوجه‌کشی به‌صورت دستی تشریح شدند که نتیجه آن به‌عنوان معیار در نظر گرفته شد. بر این اساس، تفاوت بین بافت‌های جنین نر و ماده در این است که تخمدان راست جنین ماده تحلیل رفته و تخمدان‌ها را به‌صورت دو طرفه نامتقارن می‌کند. در حالی که، بیضه‌ها در دو طرف جنین نر متقارن هستند (شکل ۸). در نتیجه احتمالاً توسعه روش‌های تعیین جنسیت غیرتهاجمی مبتنی بر شناسایی تمایز مورفولوژیکی گناد جنینی جوجه از حدود روز ششم انکوباسیون به بعد ممکن می‌باشد [۳۷].

۳-۲-۲ روش‌های تشخیصی مبتنی بر طیف سنجی

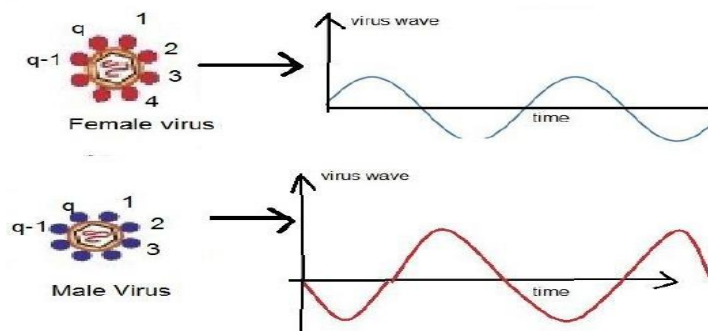
تصویربرداری فراطیفی^۶ (HSI) و رزونانس مغناطیسی^۷ (MRI) از جمله روش‌های غیرتهاجمی تشخیص جنسیت مبتنی بر طیف سنجی می‌باشد. روش‌های تصویربرداری فراطیفی از سیستم‌های سنجشی استفاده می‌کنند که قادر به ترسیم طول موج‌های نزدیک به هم هستند. روش‌های مبتنی بر فراطیفی برای تعیین جنسیت جنین جوجه در تخم مرغ، ناحیه نزدیک به فرابنفش (۳۰۰-۳۸۰ نانومتر)، ناحیه مرئی (۳۸۰-۷۸۰ نانومتر) و ناحیه نزدیک مادون قرمز (۷۸۰-۱۵۰۰ نانومتر) را پوشش می‌دهد. بر این اساس با ارزیابی تفاوت شدت فلورسانس ساطع شده از

^۶ Hyperspectral Imaging

^۷ Magnetic resonance imaging

علاوه بر آن، مشاهده شده است که ویروس‌ها نیز می‌توانند با DNA ارتباط برقرار کنند. در نتیجه می‌تواند مانند گیرنده یا فرستنده امواج الکترونیکی عمل کند. نوع امواج الکترومغناطیسی که بین ویروس‌ها و DNA مربوط به جنین‌های نر مبادله می‌شود، با جنین‌های ماده تفاوت دارد (شکل ۹). در واقع، ویروس‌های موجود در پوسته تخم‌مرغ گیرنده سلول‌های ناحیه داخلی پوسته تخم‌مرغ بوده و به محقق این اجازه را می‌دهد که تکامل جنین را بررسی کند. طبق بررسی‌های انجام شده، مشخص شده است که سیگنال‌های ساطع شده توسط جنین‌های ماده، با سیگنال‌های ارسالی از جنین‌های نر متفاوت می‌باشد. دما فاکتوری است که می‌تواند روی رابطه بین سیگنال‌ها با ویروس اثر بگذارد [۱۳]. بر این اساس می‌توان از تکنیک فوق به‌عنوان تعیین جنسیت جنین‌های جوجه بهره برد. روش ذکر شده می‌تواند به دو طریق تهاجمی (برداشتن پوسته طبیعی تخم‌مرغ) و غیرتهاجمی (حفظ پوسته طبیعی تخم‌مرغ)، استفاده شود [۴۳].

توانسته است در روز سیزدهم جوجه‌کشی، جنسیت جنین‌های جوجه را بر اساس رنگ پر آنها، به‌عنوان یک صفت وابسته به جنس، با دقت ۹۸/۸ درصد و توان ۲۰۰۰۰ تخم‌مرغ در ساعت، تشخیص دهد [۴۱]. همچنین، روش تصویربرداری رزونانس مغناطیسی نیز به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی برای تعیین جنسیت تخم‌مرغ می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. از این‌رو، تصاویر با کیفیتی از کیسه زرده، کیسه آلانتوئیک و حفره آمینوتیک را می‌تواند ارائه دهد. مطابق این نوع تصویربرداری، می‌توان گنادهای جنسی جنین‌های جوجه را بررسی کرد [۴۲]. به‌طور کلی، روش‌های طیف‌سنجی غیرتهاجمی، می‌تواند جنسیت را در روز دهم جنینی نمایش دهند و از آنجایی‌که، جنین از روز هفتم به بعد می‌تواند درد را احساس کند، این روش‌ها همچنان نگرانی‌های اخلاقی در مورد معدوم کردن جنین‌های ده روزه را بر می‌انگیزند. اما به‌طور کلی، استفاده از روش‌های نوری غیرتهاجمی یکی از پرفرودارترین گزینه‌ها برای توسعه روش‌های تعیین جنسیت درون تخمی می‌باشد [۱۳].



شکل ۹ تفاوت طول موج ساطع شده میان ویروس‌ها و DNA دو جنس نر و ماده جنین‌های جوجه. طول موج قرمز رنگ مربوط به جنس نر و طول موج آبی رنگ مربوط به جنس ماده است [۴۳].

هیدراتاسیون، توده عضلانی و درصد چربی بدن را ارزیابی کنند. در نتیجه استفاده از الکترودها در موقعیت‌های مختلف، امکان اندازه‌گیری‌های ترکیبات مختلف بدن را فراهم کرده است. حال از آنجایی که تخم‌مرغ‌های دارای جنین‌های نر و ماده با هم تفاوت‌هایی دارند، از

آنالیز امپدانس بیوالکتریکی^۸ (BIA)، یک روش پرکاربرد برای تخمین کل آب بدن و محاسبه چربی و توده عضلانی بر اساس وزن کل است. روش‌های مختلف مبتنی بر آن می‌توانند اجزای مختلف ترکیب بدن مانند وضعیت

⁸ Bioelectrical impedance analysis

برای اندازه‌گیری سیگنال‌های ضربان قلب جنین در تخم‌مرغ به کار برد. تمامی این روش‌ها به نوبت محیطی حساس بوده و تاکنون امکان‌سنجی استفاده از این روش در مرغداری‌ها، بررسی نشده است. بنابراین، تعیین جنسیت تخم‌مرغ مبتنی بر آکوستیک در تخم‌مرغ هنوز فاصله زیادی تا کاربرد عملی آن در صنعت مرغداری دارد [۱۵ و ۴۵].

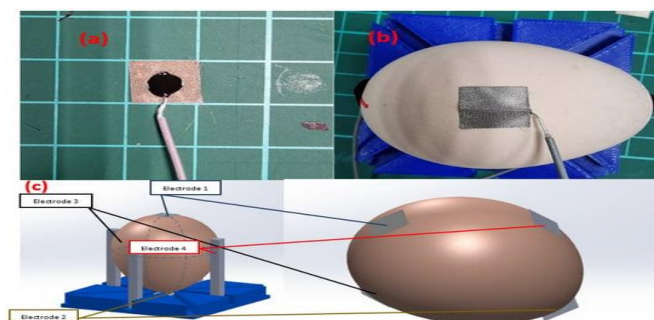
۳-۲-۲-۴ روش‌های تشخیصی مبتنی بر شناسایی ترکیبات آلی فرار

به‌طور معمول، تخم‌مرغ‌های دارای نطفه به‌صورت روزانه، ترکیبات آلی فرار را به‌عنوان محصولات فرعی فرایندهای فیزیولوژیکی آزاد می‌کنند. ترکیبات فوق، مانند ۲-آندکانون به‌عنوان یک کتون فرار، در تخم‌مرغ‌های دارای نطفه، در روزهای مختلف جوجه‌کشی تغییر می‌کند و تخم‌مرغ‌های دارای جنین‌های نر و ماده ترکیبات متفاوتی از آنها را دارا هستند. بر این اساس، می‌توان جنسیت جنین‌های جوجه را در اوایل روز ۱ جوجه‌کشی توسط حسگرهایی که به همین منظور توسعه یافته‌اند، پیش‌بینی کرد. روش فوق، یک رویکرد جدید و امیدوارکننده‌ای جهت ارائه اطلاعات زیستی بالقوه برای تعیین جنسیت جنین‌های جوجه است.

جمله زرده بزرگتر و وزن جنینی سنگین‌تر در جنین‌های جوجه نر، از این رو، مورد انتظار است که این تخم‌ها، امپدانس بیوالکتریکی متفاوتی داشته باشند. از آنجا که پوسته تخم‌مرغ را می‌توان به‌عنوان غشای سلولی، پروتئین را به‌عنوان سیتوپلاسم و زرده تخم‌مرغ را به‌عنوان هسته در نظر گرفت، طیف سنجی امپدانس را می‌توان به‌عنوان روشی جهت شناسایی جنسیت جنین جوجه در تخم‌مرغ معرفی کرد [۴۴] (شکل ۱۰).

۳-۲-۲-۳ روش‌های تشخیصی مبتنی بر صوت (آکوستیک)

روش‌های مبتنی بر صوت ضربان قلب جنین، از روزهای دوم تا سوم جوجه‌کشی شروع می‌شود. عموماً، فرکانس ضربان قلب جنین‌های جوجه پس از نهمین روز جوجه‌کشی ثابت نیست و از ۱ تا ۴ هرتز متغیر است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های ضربان قلب از ساعت ۸ تا ۱۲ روز ۱۵ تا ۱۹ انکوباسیون حاکی از آن بوده است که میانگین ضربان قلب جنین‌های ماده ۲ تا ۴ برابر در دقیقه بیشتر از تخم‌های نر پس از ۱۷ روز انکوباسیون بود. با این حال، به دلیل سفتی پوسته بیرونی تخم‌مرغ، سیگنال ضربان قلب که از پوسته تخم‌مرغ می‌گذرد، بسیار ضعیف است. با این وجود، از یکسری روش‌های تشخیص نوری، مانند انتقال نور قوی می‌توان



شکل ۱۰ (a) مراحل تعیین جنسیت جنین جوجه به روش طیف سنجی امپدانس. (b) اپوکسی کربن بر روی چسب پارچه‌ای رسانا به ابعاد ۱۰×۱۰ میلی‌متر ریخته می‌شود. (c) بر روی نقاط مشخص شده روی تخم‌مرغ با استفاده از کابل کوکسیال RG-13 1 میلی‌متری در موقعیت‌های تعیین شده برای الکترودها چسبانده می‌شود [۴۴].

در این پژوهش انواع روش‌های شناسایی جنسیت تخم‌مرغ در دو مسیر روش‌های تشخیصی تهاجمی و غیرتهاجمی بررسی شد که از مناظر متفاوت همچون میزان دقت، هزینه و سرعت تشخیص، با یکدیگر قابل مقایسه هستند. به‌طور کلی، روش‌های تشخیصی تهاجمی با درصد بالایی تعیین جنسیت جنین‌های درون تخم‌مرغ را انجام می‌دهند اما می‌تواند سبب به خطر انداختن ادامه فرایند جوجه‌کشی شده و امنیت غذایی را به خطر اندازد. همچنین، ضمن هزینه‌بر بودن، نیازمند تجهیزات پیشرفته و نیروی کار متخصص در این زمینه است. با این وجود، روش‌های تشخیصی تهاجمی مختلفی از قبیل ارزیابی غلظت‌های هورمونی در مایع آلتوتوئیک، ویرایش ژنومی کریسپر-Cas و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در ابعاد صنعتی به این منظور توسعه یافته‌اند، به‌طوری‌که، با دقت بیش از ۹۸ درصد توانایی تعیین جنسیت دارند. در روش‌های مبتنی بر سنجش غلظت‌های هورمونی و آنالیزهای ژنی مبتنی بر PCR، ایجاد یک پنجره کوچک در پوسته تخم‌مرغ به جهت دریافت نمونه، لازم است. از این‌رو ممکن است سلامت جنین جوجه را به خطر اندازد. در روش تشخیصی مبتنی بر ویرایش ژنومی کریسپر-Cas نیز نیازمند ایجاد دستکاری ژنتیکی در مرغ مولد، در راستای افزودن یک نشانگر ژنتیکی می‌باشد. در نتیجه می‌تواند به‌طور عمومی مورد انتقاد قرار گیرد و احتمالاً به دلیل عدم‌پذیرش مصرف‌کننده، حداقل در کشورهای دارای منع استفاده از محصولات دستکاری ژنتیکی شده، مورد اقبال قرار نخواهد گرفت. لازم به ذکر است موجودات تراریخته دارای ترکیب مواد ژنتیکی جدید از طریق استفاده از روش‌های مبتنی بر فناوری زیستی می‌باشد. از آنجایی‌که، دستکاری ژنتیکی انجام شده صرفاً در مرغ مولد انجام می‌شود و ژن نشانگر تنها در کروموزوم‌های جنسی نر در جنین‌های جوجه منتقل می‌شود (برای شناسایی و جداسازی زود هنگام آنها از

با این‌حال، این روش نیز می‌تواند مستعد خطا باشد و به‌دلیل وجود تنوع زیاد در ترکیبات فوق که تحت تأثیر عوامل بسیاری، مانند نژاد و رژیم غذایی قرار می‌گیرند، حساسیت آن برای برخی از ترکیبات بالا نیست. علاوه بر این، برای بهبود شناسایی ترکیبات فوق، نیاز به پیشرفت‌های سخت‌افزاری است که تحقیقات بیشتری در مورد چگونگی توسعه تجهیزات هوشمند مربوطه، مورد نیاز است [۱۵ و ۱۶]. با آنکه در حال حاضر تحقیقات قابل قبولی در مورد نقش این ترکیبات در تعیین جنسیت جنین‌های جوجه انجام نشده است، اما محققین پیش‌بینی می‌کنند که این روش می‌تواند یکی از موارد کمک‌کننده تشخیص جنسیت در نظر گرفته شود، ضمن آن که آسیبی به تخم و جنین وارد نمی‌کند [۱۳].

۴- جهت‌گیری‌ها و فناوری‌های آینده

در طول چند دهه اخیر، دانشمندان و محققان راهبردهای مختلفی را برای شناسایی جنسیت تخم‌مرغ قبل از جوجه‌ریزی یا حتی جوجه‌کشی انجام داده‌اند [۱۴]. علاوه بر تمامی روش‌های اشاره شده، بهره‌گیری از هوش مصنوعی و یادگیری عمیق نیز می‌تواند ما را قادر سازد تا بدون دخالت افراد یا با حداقل دخالت، الگوها را تشخیص داده و به این ترتیب بتوان، داده‌های بزرگ و پیچیده‌تر را با سرعت و دقت بالاتر در مقیاس وسیع‌تری بررسی کرد. با این روش می‌توان مدل‌های قابل اعتمادتری برای پیش‌بینی جنسیت جنین‌ها ارائه داد، به این صورت که با تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از روش‌های موجود و پردازش آنها، می‌توان الگوریتم‌هایی برای پیش‌بینی جنسیت جنین‌های جوجه طراحی کرد [۱۳ و ۱۷]. بنابراین، به‌نظر می‌رسد مطالعات مربوط به تعیین جنسیت جنین‌های جوجه در آینده، تلفیقی از تکنیک‌های مطرح شده و روش‌های مبتنی بر هوش مصنوعی باشد تا بتوان به برخی از محدودیت‌های معمول غلبه کرد [۱۷].

۵- نتیجه‌گیری

نر و مسائل اخلاقی مرتبط با آن، همچنین اخلاق در نظام طبیعت و امنیت غذایی را کاهش دهد.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچ تضاد منفعی را اعلام نمی‌کنند.

تشکر و قدردانی

مطالعات فوق در پژوهشکده علوم و فناوری زیستی دانشگاه صنعتی مالک اشتر انجام گرفته است. بنابراین، از زحمات مسئولین این دانشگاه، سپاسگزاری می‌شود.

۶-منابع

- [1] Moezi, F., Gholamhossain, Z., Rezaei moghadam, K. (2018) Causes and Effects of Ethical Challenges in the Poultry Industry and the Development of Moral Strategies: Managing the Behavior of Farmers (Persian). *Ethics in Science and Technology*. 13, 176–187.
- [2] Mehrabadi, M., Hosseini, S. (2020) Application of waste lemon plants on performance and improvement of health of broiler chicks (Persian). *Journal of Animal Environment*. 12, 95–104.
- [3] Attia, Y.A., Rahman, Md.T., Hossain, Md.J., Basiouni, S., Khafaga, A.F., Shehata, A.A., Hafez, H.M. (2022) Poultry Production and Sustainability in Developing Countries under the COVID-19 Crisis: Lessons Learned. *Animals (Basel)*. 12, 644.
- [4] Ministry of Agriculture. Available online: <https://amar.maj.ir/pageamar/FA/65/form/pId29443>.
- [5] Yang, N. (2021) Egg production in China: Current status and outlook. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*. 15, 25–34.
- [6] Efremova, A. (2018) Economic Sciences for Agribusiness and Rural Economy. *International Scientific Conference 'Economic Sciences for Agribusiness and Rural Economy'*. 2, 29–36.
- [7] Uzundumlu, A.S., Dilli, M. (2023) Estimating Chicken Meat Productions of Leader Countries for 2019-2025 Years. *Ciencia Rural*. 53.
- [8] Abdollahi Kalourazi, M., Baghersalimi, S., Seidavi, A. (2021) Analysis the Key Proponents of Poultry Industry Development

جنینهای با جنس ماده)، براین اساس جنین‌های جوجه دارای جنس ماده که پس از آن استفاده خواهند شد، هیچگونه ترکیب ژنتیکی جدیدی را دریافت نخواهند کرد و محصول تراریخته محسوب نمی‌شود و مخاطرات احتمالی حاصل از مصرف مواد غذایی تراریخته وجود نخواهد داشت. البته این امر منوط به آن است که استفاده از روش فوق سبب ایجاد جهش ناخواسته و یا اضافه کردن توالی خاص در ناحیه غیر هدف ژنتیکی نشود. از سوی دیگر، وجود ارزیابی‌های مختلف در زمینه سنجش پتانسیل روش‌های غیرتهاجمی برای استفاده صنعتی به واسطه عدم ایجاد مخاطره برای جنین جوجه در روند تشخیص جنسیت، حائز اهمیت و دارای اولویت است. تصویربرداری فراطیفی، با توانایی تشخیص جنسیت جنین‌های جوجه در سیزدهمین روز انکوباسیون با دقت ۹۸/۸ درصد، می‌تواند به‌عنوان یک روش تشخیصی غیرتهاجمی برای استفاده صنعتی توسعه یابد، که در مقایسه با روش‌های تهاجمی توسعه یافته، دارای مزیت رقابتی خواهد بود. با استناد به آزمایشات انجام شده روش غیرتهاجمی تصویربرداری فراطیفی HSI و رزونانس مغناطیسی MRI از جمله روش‌هایی با بیشترین دقت در تشخیص هستند که البته نیازمند صرف هزینه‌هایی نسبتاً بالا است و بنابراین، انجام مطالعات گسترده‌تری برای ارزیابی سایر مزایا و معایب آن مورد نیاز است. سایر روش‌های تشخیصی غیرتهاجمی، از قبیل، ارزیابی‌های مبتنی بر مورفولوژی، شکل بیرونی پوسته تخم‌مرغ، توزیع عروق خونی، تمایزات گندهای جنسی و غیره اشاره شده در قسمت‌های قبلی نیز وجود دارد که لزوم انجام بررسی‌های بیشتر ابعاد مختلف آن، برای بهبود عملکرد آنها و یا امکان‌سنجی استفاده صنعتی از آنها، مورد نیاز است. بدیهی است پیشروی در زمینه تشخیص‌های غیرتهاجمی تعیین جنسیت و انجام آزمایشات بیشتر در این خصوص، ممکن است نگرانی‌های مربوط به معدوم‌سازی جوجه‌های

- [18] Weissmann, A., Reitemeier, S., Hahn, A., Gottschalk, J., Einspanier, A. (2013) Sexing domestic chicken before hatch: A new method for in ovo gender identification. *Theriogenology*. 80, 199–205.
- [19] The SELEGGT Process. Available online: <https://www.seleggt.com/seleggt-process/> (accessed on 18 December 2022).
- [20] In Ovo. Available online: <https://inovo.nl/> (accessed on 18 December 2022).
- [21] Khwatenge, C.N., Nahashon, S.N. (2021) Recent Advances in the Application of CRISPR/Cas9 Gene Editing System in Poultry Species. *Front Genet*. 12. 627-714.
- [22] EggXYt. Available online: <https://www.eggxyt.com/> (accessed on 15 January 2021).
- [23] Gautron, J., Réhault-Godbert, S., Van de Braak, T.G.H., Dunn, I.C. (2021) Review: What are the challenges facing the table egg industry in the next decades and what can be done to address them? *Animal*. 15, 100-282.
- [24] Siebert, R., Herzig, C., Birringer, M. (2022) Strategic framing of genome editing in agriculture: an analysis of the debate in Germany in the run-up to the European Court of Justice ruling. *Agric Human Values*. 39, 617–632.
- [25] Abdollahi, H., Mehrabani Yeganeh, H., Moradi Shahrabak, H. (2018) Sex determination in the canary based on the CHD gene located at the sex chromosome using feather (Persian). *Iranian Journal of Animal Science*. 49, 265–257.
- [26] Plantegg. Available online: <https://www.plantegg.de/en/>.
- [27] Clinton, M., Nandi, S., Zhao, D., Olson, S., Peterson, P., Burdon, T., McBride, D. (2016) Real-Time Sexing of Chicken Embryos and Compatibility with in ovo Protocols. *Sexual Development*. 10, 210–216.
- [28] Ayers, K.L., Lambeth, L.S., Davidson, N.M., Sinclair, A.H., Oshlack, A., Smith, C.A. (2015) Identification of candidate gonadal sex differentiation genes in the chicken embryo using RNA-seq. *BMC Genomics*. 16, 1-19.
- [29] Ichikawa, K., Nakamura, Y., Bono, H., Ezaki, R., Matsuzaki, M., Horiuchi, H. (2022) Prediction of sex-determination mechanisms in avian primordial germ cells using RNA-seq analysis. *Sci Rep*. 12. Using Forecasting Approach. *Iranian journal of animal science research*. 12, 529–548.
- [9] Sahneh B, K.M. (2022) Analysis of Development of Poultry Industry on Improving the Sustainable Livelihood of Rural Families in Aq Qala County (Persian). *Village and Development*. 2, 23–25.
- [10] Allahveisi, M.E., Zarafshani, K., Rahimi, M. (2017) Determining the bio-security measures of poultry farms in Ravansar Township (Persian). *Iranian Agricultural Extension and Education Journal*. 13, 145–159.
- [11] Naji Zavareh, A., Yaghobfar, A., Hosseini, S. (2018) Investigation of economic situation of hatchery factories in Tehran province (Persian). *Applied Animal Science Research Journal*. 7, 3–20.
- [12] Neethirajan, S. (2022) Big Data Enabled Non-Invasive Rapid Sex Detection of Incubated Chicken Eggs.
- [13] Rahman, A., Khaliduzzaman, A., Suzuki, T., & Kondo, N. (2022). Non-destructive Technologies for Embryo Gender Prediction. In *Informatics in Poultry Production: A Technical Guidebook for Egg and Poultry Education, Research and Industry* (pp. 77-95). Singapore: Springer Nature Singapore.
- [14] Krautwald-Junghanns, M.E., Cramer, K., Fischer, B., Förster, A., Galli, R., Kremer, F., Mapesa, E.U., Meissner, S., Preisinger, R., Preusse, G., Schnabel, C., Steiner, G., Bartels, T. (2018) Current approaches to avoid the culling of day-old male chicks in the layer industry, with special reference to spectroscopic methods. *Poult Sci*. 97, 749–757.
- [15] Jia, N., Li, B., Zhu, J., Wang, H., Zhao, Y., & Zhao, W. (2023) A Review of Key Techniques for in Ovo Sexing of Chicken Eggs. *Agriculture*. 13, 677.
- [16] Kayadan, M., Uzun, Y. (2023) High accuracy gender determination using the egg shape index. *Scientific Reports*. 13, 1–10.
- [17] Salgado Pardo, J.I., Navas González, F.J., González Ariza, A., Arando Arbulu, A., León Jurado, J.M., Delgado Bermejo, J. V., Camacho Vallejo, M.E. (2022) Traditional sexing methods and external egg characteristics combination allow highly accurate early sex determination in an endangered native turkey breed. *Front Vet Sci*. 9.

- Embryos Based on Visible/Near Infrared Spectroscopy and Deep Learning. *Spectroscopy and Spectral Analysis*. 41, 1800–1805.
- [40] Corion, M., Keresztes, J., De Ketelaere, B., Saey, W. (2022) In ovo sexing of eggs from brown breeds with a gender-specific color using visible-near-infrared spectroscopy: effect of incubation day and measurement configuration. *Poult Sci*. 101, 101782.
- [41] CHEGGY. Available online: <https://www.agri-at.com/en/products/in-ovo-sex-determination/cheggy/70-cheggy-is-ready-for-practical-use?rCH=2> (accessed on 8 February 2023).
- [42] Davenel, A., Eliat, P., Quéllec, S., Nys, Y. (2015) Attempts for early gender determination of chick... - Google Scholar. In: the XXII European Symposium on the Quality of Poultry Meat & XVI European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Nantes, France.
- [43] Fioranelli, M., Sepehri, A., Rocchia, M.G., Rossi, C., Vojvodic, P., Lotti, J., Barygina, V., Vojvodic, A., Wollina, U., Tirant, M., Van Thuong, N., Dimitrijevic, S., Sijan, G., Peric-Hajzler, Z., Matovic, D., Vlaskovic-Jovicevic, T., Lotti, T. (2019) In Ovo Sexing of Chicken Eggs by Virus Spectroscopy. *Open Access Maced J Med Sci*. 7, 3106.
- [44] Ching, C.T.S., Wang, C.K., Tang, P.C., Ha, M.K., Li, C., Chiu, H.N., Yao, F.Y.D., Nhan, N.C., Hieu, N. Van, Phan, T.L. (2023) Bioimpedance-Measurement-Based Non-Invasive Method for In Ovo Chicken Egg Sexing. *Biosensors*. 13, 440.
- [45] Geng, L., Hu, Y., Xi, J., Liu, Y. (2019) Detection on the Fertility of Hatching Eggs Based on Heart Rate Threshold. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*. 53, 49–63.
- [46] Gouda, M., Ma, M., Sheng, L., Xiang, X. (2019) SPME-GC-MS & metal oxide E-Nose 18 sensors to validate the possible interactions between bio-active terpenes and egg yolk volatiles. *Food Research International*. 125, 108611.
- [47] Jia, N., Li, B., Zhao, Y., Fan, S., Zhu, J., Wang, H., & Zhao, W. (2023). Exploratory Study of Sex Identification for Chicken
- [30] Galli, R., Koch, E., Preusse, G., Schnabel, C., Bartels, T., Krautwald-Junghanns, M.E., Steiner, G. (2017) Contactless in ovo sex determination of chicken eggs. *Current Directions in Biomedical Engineering*. 3, 131–134.
- [31] Galli, R., Preusse, G., Schnabel, C., Bartels, T., Cramer, K., Krautwald-Junghanns, M.E., Koch, E., Steiner, G. (2018) Sexing of chicken eggs by fluorescence and Raman spectroscopy through the shell membrane. *PLoS One*. 13.
- [32] Preuße, G., Porstmann, V., Bartels, T., Schnabel, C., Galli, R., Koch, E., Oelschlägel, M., Uckermann, O., Steiner, G. (2023) Highly sensitive and quick in ovo sexing of domestic chicken eggs by two-wavelength fluorescence spectroscopy. *Anal Bioanal Chem*. 415, 603–613.
- [33] Steiner, G., Bartels, T., Krautwald-Junghanns, M.E., Boos, A., Koch, E. (2010) Sexing of turkey poults by Fourier transform infrared spectroscopy. *Anal Bioanal Chem*. 396, 465–470.
- [34] Burkhardt, A., Geissler, S., Koch, E. (2010) Optical coherence tomography as approach for the minimal invasive localization of the germinal disc in ovo before chicken sexing. *SPIE Photonics Europe*. 7715, 364–371.
- [35] Imholt, D. (2010) Morphometrische Studien an Eiern von Hybrid- und Rassehühnern mit Versuchen zur Detektion einer Beziehung zwischen der Form von Eiern und dem Geschlecht.
- [36] Kayadan, M., & Uzun, Y. (2023). High accuracy gender determination using the egg shape index. *Scientific Reports*, 13(1), 504.
- [37] Zhu, Z.H., Ye, Z.F., Tang, Y. (2021) Nondestructive identification for gender of chicken eggs based on GA-BPNN with double hidden layers. *Journal of Applied Poultry Research*. 30, 100203.
- [38] Alin, K., Fujitani, S., Kashimori, A., Suzuki, T., Ogawa, Y., Kondo, N. (2019) Non-invasive broiler chick embryo sexing based on opacity value of incubated eggs. *Comput Electron Agric*. 158, 30–35.
- [39] Qing-xu, L., Qiao-hua, W., Mei-hu, M., Shi-jie, X. (2021) Non-Destructive Detection of Male and Female Information of Early Duck

Technological strategies to determine the gender of eggs

Mohammad Alizadeh¹, Mehdi Zeinoddini², Zahra Mardashti¹, Narges Tanha¹

1. MSc, Faculty of Pasive Defense, Malek-Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.

2. PhD, Faculty of Pasive Defense, Malek-Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.

zeinoddini52@mut.ac.ir

Receipt: 2023/07/24

Accepted: 2024/06/16

Abstract

New technologies in determining the gender of eggs will greatly help to end the extermination of male chickens, which will save a lot in the poultry industry. These technologies are so valuable and important that many companies and research centers are willing to make large investments to progress in this field. Today, two invasive and non-invasive methods are used to determine the gender of the egg. Invasive diagnostic methods often lead to a decrease in the viability of samples, while non-invasive methods with high accuracy and viability of samples have created a great development capability among researchers. In other words, invasive diagnostic methods determine the gender of the embryos inside the egg with a high percentage, but it can endanger the continuation of the hatching process and jeopardize food safety. However, the use of non-invasive methods in line with industrial use has priority due to the fact that there is no danger to the chick embryo in the process of sex determination. In this review study, while examining the importance of gender determination during hatching for the poultry industry, an attempt has been made to examine and compare all the new technologies used to determine gender in the egg-laying and hatching stages and compare its advantages and disadvantages.

Keywords: Gender determination, Poultry farming, Technology, Identification, Hatching.