

The effect of garlic and fennel extracts on performance and reproductive system morphology in layer breeder hens

Zeinab Bardel¹, Ali Asghar Saki^{2*}, Asghar Mirzaie-Asl³, Zahra gholami mahmoudian^{4, 5}

1- Ph.D candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

2-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

3-Associate Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

4- Assistant Professor of Anatomical Sciences, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

5-Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Science, Kermanshah, Iran

* Corresponding authors: alisaki34@yahoo.com and asaki@basu.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.93284.1246>

Introduction: Garlic (*Allium sativum*) is a well-known aromatic herb that has been used for centuries due to its therapeutic properties, primarily attributed to its bioactive compounds such as allicin. These compounds have been shown to support immune function, reduce oxidative stress, and improve overall health in poultry. Similarly, fennel (*Foeniculum vulgare*), an aromatic perennial herb from the Apiaceae family, is valued for its seeds containing antioxidants and phytoestrogens that can positively influence ovarian morphology and reproductive efficiency. The poultry industry is increasingly turning to medicinal plants as natural alternatives to synthetic additives, aiming to boost productivity and promote bird health. Scientific research has demonstrated that supplementation with garlic and fennel extracts can significantly improve productive parameters, including egg production and reproductive health. The specific mechanisms and effects on ovarian histomorphology require more study. The main aim of this study is to evaluate the effects of garlic and fennel extracts administered separately on the performance traits and ovarian morphology of layer breeder hens, with the goal of understanding how these natural supplements can enhance reproductive health and egg production. The findings of this research could support the use of medicinal plants as natural alternatives for improving reproductive functions and productivity in poultry, contributing to more sustainable and welfare-oriented poultry farming practices.

Material and Methods: In this study, six layer breeders of the Hy-Line W80 strain in Sixty-five weeks of age were allocated into three treatment groups, with Five replicates and four hens per replicate. The experimental treatments included: 1- Control (corn, soy bean meal) 2- Control + 400 mg/kg diet of dried fennel extract 3- Control + 400 mg/kg diet of dried garlic extract. The experimental treatments were managed for 10 weeks, and performance traits such as feed intake, egg mass, feed conversion ratio, egg weight, and egg mass were evaluated as a weekly. The experimental diets were formulated using UFFDA software. At the end of the experimental period at 75 weeks of age, one hen per replicate, totaling five hens per treatment were euthanized and the ovarian and magnum tissues were fixed in formalin for microscopic examination. In this study, large ovarian follicles—defined as those with a diameter exceeding 10 mm—were counted, the weight and diameter of each follicle were measured individually.

The performance data and follicle characteristics were analyzed by SAS software version 8.9 using the GLM procedure and microscopic data were analyzed by Graph Pad Prism software.

Results and Discussion: The results indicated that garlic and fennel extracts did not have a significant effect on the performance of laying hen breeders ($P>0.05$). These results are not consistent with multiple prior studies, which have reported positive impacts of these phyto-genic additives on poultry performance. This discrepancy may stem from differences in experimental design, dosages, or the specific strains of poultry used in different studies, highlighting the complexity of integrating herbal supplements into poultry nutrition.

Despite the lack of significant effect on overall performance, noteworthy observations were made regarding the reproductive parameters of the hens. The number of growing follicles in the fennel treatment increased compared to the control ($P<0.05$). This increase in follicular development could be attributed to the bioactive compounds present in fennel, which are known to influence hormonal activities and ovarian function in poultry. Enhanced follicular growth is crucial for improving egg production potential, suggesting that fennel may play a beneficial role in reproductive health.

Additionally, the thickness of the granulosa layer in the ovaries of hens that received garlic and fennel treatments was significantly higher compared to the control group ($P<0.05$), indicating potential enhancements in reproductive health. The granulosa layer is vital for the proper development and maturation of oocytes, as it provides necessary support and nutrients. An increase in granulosa layer thickness may contribute to better egg quality parameters.

Conclusions: The overall findings of the present study can be a suggestion for slowing down the process of reducing antioxidant capacity and consequently reducing fertility by using fennel and garlic extracts in the diet of laying hens. In future, more research is needed to clarify the effect of the extracts in laying hens. Also, a more detailed study of the molecular mechanisms and evaluation of the effects of these compounds on other fertility indicators can provide new paths for increasing reproductive performance in laying hens.

Keywords: Egg production, Fennel, Garlic, Layer hen, Ovary

اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر عملکرد و ریخت‌شناسی دستگاه تولیدمثل در مرغ‌های مادر تخم‌گذار

زینب باردل^۱، علی اصغر ساکی^{۲*}، اصغر میرزایی اصل^۳، زهرا غلامی محمودیان^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۳- دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۴- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۵- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران

نویسنده مسئول: alisaki34@yahoo.com/ asaki@basu.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.93284.1246>

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر عملکرد تولیدی و ریخت‌شناسی تخمدان مرغ‌های مادر تخم‌گذار انجام شد. در این مطالعه از ۶۰ قطعه مرغ مادر تخم‌گذار سویه‌های لاین W80 در سه تیمار، پنج تکرار و چهار قطعه مرغ در هر تکرار در سن ۶۵ هفتگی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (ذرت، کنجاله‌سویا) ۲- شاهد + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره خشک رازیانه ۳- شاهد + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک خشک سیر بودند. تیمارهای آزمایشی به مدت ۱۰ هفته در اختیار مرغ‌ها قرار گرفتند و صفات عملکردی شامل: خوراک مصرفی، توده تخم‌مرغ تولیدی، ضریب تبدیل غذایی، وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ به‌صورت هفتگی بررسی شد. در پایان دوره، ریخت‌شناسی بافت تخمدان بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره سیر و رازیانه تأثیر معنی‌داری بر عملکرد مرغ‌های مادر تخم‌گذار نشان ندادند. تعداد فولیکول‌های در حال رشد در تیمار رازیانه در مقایسه با شاهد افزایش یافت و قطر لایه گرانولوزا در تیمارهای سیر و رازیانه در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری بیشتر شد. نتایج کلی این آزمایش نشان داد گرچه عصاره‌های سیر و رازیانه تأثیر مستقیمی بر عملکرد تخم‌گذاری مرغ‌های مادر نداشتند، اما افزایش قابل توجه در تعداد فولیکول‌های در حال رشد و قطر لایه گرانولوزا، می‌تواند نشان‌دهنده پتانسیل این ترکیبات در بهبود سلامت تخمدان، فولیکول و در نتیجه کیفیت و تولید تخم‌مرغ باشد. با توجه به اینکه عصاره‌های استفاده شده در آزمایش حاضر تأثیری بر عملکرد تولیدی نداشتند، پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های بیشتری با نمونه‌های بزرگ‌تر و مقادیرهای مختلف انجام شود تا کاربرد این عصاره‌ها در صنعت مرغ مادر بهتر مشخص شود.

کلمات کلیدی: تخمدان، تولید تخم‌مرغ، رازیانه، سیر، مرغ تخم‌گذار

مقدمه

صنعت پرورش مرغ‌های مادر تخم‌گذار یکی از مهم‌ترین صنایع طیور است که سرمایه‌گذاری قابل توجهی در سراسر جهان را به خود اختصاص می‌دهد در نتیجه، نیاز شدید وجود دارد تا با راهکارهای طبیعی مانند افزودنی‌های گیاهی به جیره‌ی غذایی، میزان تولید و سلامت این پرندگان را بهبود بخشیم (Lim et al., 2023). در صنعت مرغداری استفاده از گیاهان دارویی جهت افزایش عملکرد و سلامت طیور مورد توجه قرار گرفته است.

سیر و رازیانه دو گیاه با خاصیت‌های تغذیه‌ای و درمانی منحصربه‌فرد هستند که در تحقیقات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. سیر با نام علمی *Allium sativum L* یک گیاه علفی معطر و یک‌ساله است که از دیرباز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین گیاهان دارویی مورد استفاده قرار گرفته است. تحقیقات نشان می‌دهد که انواع مختلف سیر و ترکیبات فعال موجود در آن می‌توانند خطر ابتلا به دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش دهند، همچنین با تقویت سیستم ایمنی، بدن را در برابر عفونت‌ها محافظت کرده و دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد پیری و همچنین ضد سرطان هستند؛ این ادعاها از طریق داده‌های همه‌گیرشناسی بالینی انسانی تأیید شده‌اند (Rahman, 2001). گزارش شده است که سیر حاوی ویتامین‌های E و C، مواد معدنی مثل سلنیوم، پلی فنول‌ها و ترکیبات سولفوردار با قدرت آنتی اکسیدانی است (Filomeni, 2003). سیر حاوی چندین ترکیب ارگانوسولفور، S-آلیل‌سیستئین، آلیسین و آلیین به‌عنوان مواد شیمیایی گیاهی است، سیر تازه حاوی آلیین، یک سولفوکسید است که از سیستئین تولید می‌شود. سیر همچنین حاوی بخش‌های مجزایی است که حاوی آنزیم آلییناز هستند که هنگام خرد شدن، آلیین را به آلیسین تبدیل می‌کند و بوی

خاص سیر و همچنین تعدادی از خواص دارویی را به آن می‌دهد (Hidayatik et al., 2024) همچنین حاوی ترکیبات شیمیایی آنتی بیوتیکی از جمله فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها و فنول‌ها است (Nandhini et al., 2024). از سوی دیگر رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare*، گیاهی دو یا چندساله از خانواده‌ی چتریان است، دانه‌ی این گیاه به‌عنوان یک ترکیب معطر و دارویی از گذشته مورد استفاده قرار گرفته است. گزارش شده است که رازیانه دارای اثرات دارویی متعدد از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (Kooti et al., 2015; Al-Amoudi, 2017) همچنین گزارش شده است مصرف عصاره‌ی دانه‌ی رازیانه موجب کاهش قند خون، کاهش چربی و کاهش فعالیت‌های اکسیداتیو در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین شد و مشکلات کبدی ناشی از دیابت نیز برطرف شد (Parsaeyan, 2016). اثرات مثبتی از این گیاه بر کبد و کلیه نیز گزارش شده است (Al-Amoudi, 2017). ترکیبات اصلی رازیانه شامل ترانس آنتول، لیمون و فینچون است، آنتول خواص استروژنی را فعال می‌کند، همچنین رازیانه به‌عنوان منبع غنی از فیتواستروژن‌ها به‌خصوص ایزوفالون می‌باشد (Krychman, 2011). در بررسی اثر رازیانه به عنوان یک گیاه فیتواستروژن بر رت‌های نر بیان شد که فلاونوئیدها و آنتول از ترکیبات استروژنی موجود در رازیانه هستند (Helal et al., 2019).

در گزارش‌های مختلف اثرات مثبت این دو گیاه بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار نشان داده شده است. گزارش شده است که مکمل کردن جیره با ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، رازیانه، باعث افزایش تولید تخم، افزایش جوجه‌های قابل فروش و حفظ تیترا آنتی‌بادی نیوکاسل شد با این حال، تنها افزودن ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به جیره باعث کاهش تخم‌مرغ‌های دو زرده، افزایش ضخامت پوسته، تعداد تخم‌های متوسط، بهبود عملکرد، بهبود جوجه‌کشی و پاسخ ایمنی در مرغ‌های مادر گوشتی پس از تولد بزرگ شد. با این حال تحقیقات بیشتری برای درک سازوکارهایی که توسط آن رازیانه عملکرد کلی طیور را بهبود می‌بخشد، پیشنهاد شده است (Kazemi fard et al., 2013). دانه رازیانه دارای اثرات بیولوژیکی مختلفی در پرندگان است، از جمله بهبود عملکرد، تکثیر سلول‌های ایمنی، کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش تیترا آنتی‌بادی در برابر بیماری‌های عفونی. گزارش شده است که اثربخشی این گیاه بر اساس سن، فرآیند استخراج، موقعیت جغرافیایی، گونه‌های مرغ، شیوه‌های مدیریتی و غلظت‌های استفاده شده تعیین می‌شود (Khan et al., 2022).

بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از سیر و مشتقات آن در طیور باعث بهبود شاخص‌های تولید، کیفیت لاشه و یکپارچگی روده و تعدیل پاسخ ایمنی در برابر برخی از بیماری‌های مهم ویروسی شد، علاوه بر این، سیر از طریق فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد انگلی، سلامت روده را بهبود می‌بخشد. استفاده از سیر همچنین می‌تواند تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. کاهش سطح کلسترول و بهبود برخی از شاخص‌های کبدی و خونی نیز توسط جیره حاوی سیر گزارش شده است (Abd El-Ghany, 2024). همچنین استفاده از پودر سیر تخمیر شده به میزان ۲ گرم در کیلوگرم خوراک مرغ‌های مادر تخم‌گذار، عملکرد تولیدی را بهبود بخشید (Lim et al., 2023). یافته‌های متا-آنالیز تأثیر مثبت سیر در مرغ‌های تخم‌گذار را نشان داده است؛ مرغ‌هایی که جیره حاوی سیر مصرف کردند نسبت به گروه شاهد، تولید تخم‌مرغ و معیارهای کیفی تخم‌مرغ بهتری داشتند، اگرچه مقادیر مشاهده شده در محدوده داده‌های مربوط به نژاد، سویه و لاین‌های مورد استفاده در این متا-آنالیز بود. این محققین گزارش کردند که تولید و کیفیت تخم‌مرغ در جوجه‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر عواملی مانند نژاد، سن، روش‌نایی و دما قرار دارد، این محققین پیشنهاد کردند تحقیقات آینده باید بر تأثیر بلند مدت تغذیه با سیر بر تولید و کیفیت تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار متمرکز شود، زیرا بیشتر مرغ‌های تخم‌گذار مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل در اولین چرخه تولید خود بودند (Ogbuewu et al., 2021).

از طرفی بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که عملکرد تولیدمثل به‌طور قابل‌توجهی به رشد مؤثر فولیکول‌های تخمدان وابسته است. این فرآیند تحت تأثیر هورمون‌های جنسی است که توسط محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان برای تنظیم تخم‌گذاری ترشح می‌شوند ([Brady et al., 2020](#); [Tan et al., 2021](#)). اثر گیاهان دارویی همانند سیر و رازیانه بر هورمون‌های جنسی (استروژن) نشان داده شده است ([Kazemi fard et al., 2013](#); [Taherkhani et al., 2018](#); [Pourjafari et al., 2020](#)).

تحقیقات زیادی درباره اثر سیر و رازیانه بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار انجام شده است که اکثر آن‌ها به اثر مثبت این گیاهان دارویی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار اشاره کرده‌اند، اما جهت بررسی بیشتر لازم است اثر آن‌ها در سنین مختلف بررسی شود و همچنین اثر آن‌ها بر ریخت‌شناسی تخمدان نادیده گرفته شده است. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر عملکرد تخم‌گذاری و ریخت‌شناسی تخمدان در مرغ‌های مادر تخم‌گذار در آخر دوره تولید طراحی شد.

مواد و روش:

پرندگان و تیمارهای آزمایشی: در این مطالعه از ۶۰ قطعه مرغ مادر تخم‌گذار سویه‌های لاین W80 در سن ۶۵ هفتگی به‌صورت ۳ تیمار، ۵ تکرار و ۴ قطعه مرغ در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (دانه ذرت و کنجاله سویا) ۲- شاهد + عصاره خشک رازیانه (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) ۳- شاهد + عصاره خشک سیر (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) بودند. جیره‌های آزمایشی به مدت ۱۰ هفته در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. عصاره خشک سیر و عصاره خشک رازیانه از شرکت توسعه شیمیایی جهاد دانشگاهی کرج خریداری شدند. در کل دوره آزمایش، دمای محیط توسط سه عدد دماسنج در قسمت‌های مختلف سالن، ۲۰-۱۸ درجه ثابت نگه‌داشته شد و رطوبت سالن بین ۳۰ تا ۴۰ درصد با رطوبت‌سنج کنترل شد. برنامه نوردهی سالن در دوره تخم‌گذاری مرغ‌ها شامل ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی بود که توسط تایمر کنترل شد.

جیره‌های آزمایشی: مواد خوراکی استفاده‌شده در این آزمایش طبق توصیه شرکت مرغک استفاده شدند و جیره‌های آزمایشی مورد استفاده با استفاده از نرم‌افزار جیره نویسی UFFDA، طبق توصیه جداول راهنمای هایلاین W80 (۲۰۱۶) بر اساس اسید آمینه قابل هضم فرموله شدند. عصاره‌ها به صورت سرک به جیره‌ها اضافه شد. آماده‌سازی جیره‌ها به صورت دستی انجام گرفت.

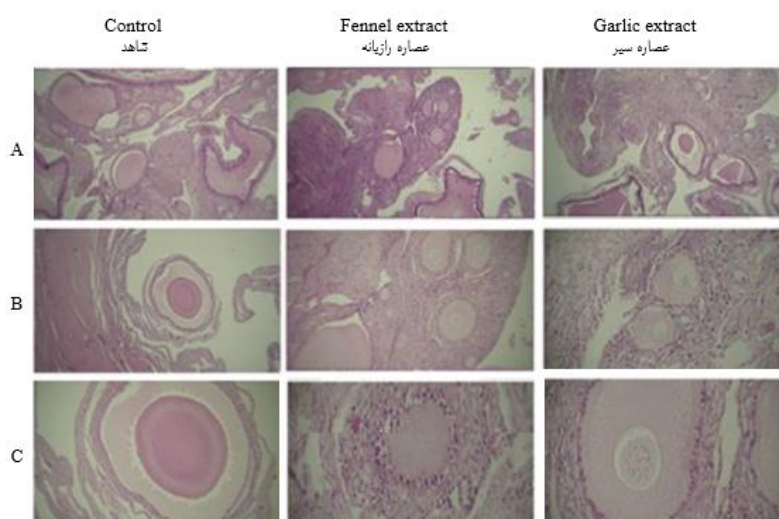
صفات عملکردی: روزانه به ازای هر مرغ ۱۱۵ گرم خوراک وزن شد و با شروع روشنایی در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. در پایان هر هفته، غذای باقی‌مانده هر قفس توزین شده و خوراک جدید در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت و میزان خوراک مصرفی بر اساس روز مرغ محاسبه شد. تخم‌های تولیدشده هر روز جمع‌آوری و توزین شدند و در نهایت صفات عملکردی شامل مصرف خوراک، توده تخم‌مرغ، درصد تولید و میانگین وزن تخم‌مرغ با در نظر گرفتن روز مرغ محاسبه شد ([Yigrem et al., 2024](#)). جهت تعیین هزینه خوراک به ازای هر کیلوگرم تخم‌مرغ تولیدی، هزینه هر کیلوگرم خوراک در ضریب تبدیل غذایی آن ضرب شد و مورد آنالیز قرار گرفت ([Nobakht, 2016](#)). قیمت هر کیلوگرم خوراک با قیمت بازار آزاد نهاده‌ها در سال ۱۴۰۱ محاسبه شد. شاخص تولید تخم مرغ نیز مطابق فرمول زیر محاسبه شد ([Lukanov et al., 2023](#)).

$$EPEI = [(L \times DEMP) / FCR] \times 100$$

EPEI: شاخص بهره‌وری تولید تخم مرغ، L: زنده مانی، DEMP: توده تخم مرغ تولیدی روزانه بر حسب کیلوگرم، FCR: ضریب تبدیل خوراک

کشتار و بررسی فولیکول‌های زرد بزرگ: در پایان هفته دهم (سن ۷۵ هفتگی) یک عدد مرغ از هر تکرار (۵ قطعه از هر تیمار)، به صورت تصادفی انتخاب و کشتار شد. حفره شکمی باز شده و تخمدان جدا شد. فولیکول‌های زرد بزرگ تخمدان شمارش شدند و وزن آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال گرمی (UNIWEIGH، ساخت کشور چین) با دقت ۰/۰۱ گرم و قطر آن‌ها توسط کولیس دیجیتال (INSIZE ساخت کشور تایوان) اندازه‌گیری شد. فولیکول‌های با قطر بزرگ‌تر از ۱۰ میلی‌متر به عنوان فولیکول زرد بزرگ در نظر گرفته شدند (Rahman, 2001; Hloko et al., 2023).

بررسی بافت تخمدان: بافت تخمدان مرغ‌های کشتار شده توسط آب مقطر شست‌وشو داده شد و درون فرمالین ۱۰ درصد (یک حجم فرمالین ۳۷٪ + ۹ حجم آب) تا زمان بررسی ریخت‌شناسی، تثبیت شد. آگیری (با الکل)، شفاف کردن (با گزیلول) و آغستگی با پارافین توسط دستگاه تیشو پروسسور (مدل Leica ساخت کشور ایتالیا) انجام شدند، سپس بافت‌ها توسط پارافین مذاب بلوک‌بندی شدند. بلوک‌ها بعد از سرد شدن توسط دستگاه میکروتوم (مدل Leica ساخت کشور ایتالیا) به قطر ۴ میکرون برش داده شدند، از برش‌ها لام تهیه شد و لام‌های تهیه‌شده در دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه به مدت ۱ ساعت انکوبه شدند و در نهایت رنگ‌آمیزی هماتوکسین اتوزین انجام شد (Eslami et al., 2019). لام‌های مورد نظر توسط میکروسکوپ نوری با لنز ۴، ۱۰ و ۴۰ بررسی شدند. تصاویر حاصل از بررسی میکروسکوپی ریخت‌شناسی اندام‌های تولیدمثلی (شکل ۱) توسط نرم‌افزار Image J مشاهده شدند.



شکل ۱- بررسی میکروسکوپی بافت تخمدان تیمارهای شاهد، عصاره رازیانه و عصاره سیر با بزرگنمایی (A) ۴، (B) ۱۰ و (C) ۴۰

Figure 1- Histological analysis of ovarian tissue from the control group and treatments with fennel and garlic extracts, observed at magnifications of 4× (A), 10× (B), and 40× (C)

آنالیز آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت ۳ تیمار، ۵ تکرار و ۴ قطعه مرغ در هر تکرار انجام شد. داده‌های عملکرد و ویژگی‌های فولیکول‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۸ رویه GLM آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری استفاده شده جهت آنالیز داده‌های حاصل از بررسی فولیکول‌های زرد بزرگ به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} : مشاهده j از تیمار i ; μ : میانگین مشاهدات، T_i : اثر تیمار، E_{ij} : اشتباه آزمایشی

مدل استفاده شده جهت مقایسه داده‌های عملکرد هفته‌های مختلف به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + W_j + T_i \times W_j + E_{aik} + E_{bijk}$$

Y_{ijk} : مشاهده مربوط به تیمار i در زمان اندازه‌گیری j در تکرار k ; μ : اثر میانگین، T_i : تیمار، W_j : هفته، $T_i \times W_j$: تیمار $\times$ هفته، E_{aik} : اشتباه اصلی، E_{bijk} : اشتباه فرعی

جهت بصری سازی و تحلیل داده‌های میکروسکوپی از نرم‌افزار Graph Pad Prism، نسخه ۸ توسط روش آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

نتایج:

عملکرد: نتایج نشان داد که صفات عملکردی در کل دوره (خوراک مصرفی، توده تخم‌مرغ تولیدی، میانگین وزن تخم‌مرغ، ضریب تبدیل و تولید تخم‌مرغ) و همچنین شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ و هزینه خوراک به ازای هر کیلوگرم تولید تخم‌مرغ توسط عصاره سیر و رازیانه تحت تأثیر قرار نگرفت ($P > 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱- اثر استفاده از عصاره رازیانه و عصاره سیر در جیره بر عملکرد مرغ‌های مادر تخم‌گذار

Table 1- The effect of fennel and garlic extracts in the diet on the performance of layer breeders.

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	خوراک مصرفی (گرم/روز/پرنده) Feed intake (gr/day/hen)	توده تخم‌مرغ (گرم/پرنده/روز) Egg mass (gr/day/hen)	ضریب تبدیل Feed conversion ratio	تولید تخم‌مرغ (درصد) Egg production (%)	میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight average (gr)	هزینه خوراک به ازای هر کیلوگرم تولید تخم‌مرغ (تومان) Feed cost per kilogram of egg production (Toman)	شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ Egg Production Efficiency Index
شاهد control	110.40	43.05	2.69	75.83	58.47	31848	164.14
عصاره رازیانه Fennel extract	112.49	45.56	2.55	78.17	60.27	29433	190.70
عصاره سیر Garlic extract	110.18	41.49	2.74	71.35	59.58	31656	161.68
خطای استاندارد میانگین‌ها SEM ¹	1.145	2.906	0.149	5.059	1.258	2238.71	21.947
سطح معنی‌داری P-value							
تیمار treatment	0.3242	0.8385	0.7732	0.6373	0.6056	0.9385	0.8517
هفته Week	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
تیمار $\times$ هفته Treatment $\times$ Week	0.9875	0.6197	0.4237	0.4822	0.6916	0.2891	0.6417

¹SEM: Standard error of means

فولیکول‌های زرد بزرگ: در این آزمایش، تعداد، میانگین وزن و قطر فولیکول‌های زرد بزرگ و همچنین وزن و قطر بزرگ‌ترین فولیکول در تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول ۲).

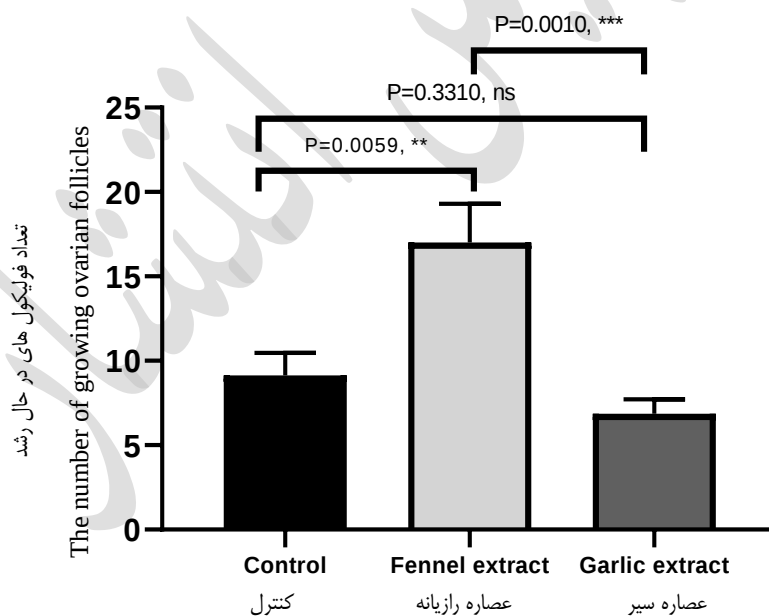
جدول ۲- اثر استفاده از عصاره رازیانه و عصاره سیر در جیره بر فولیکول‌های زرد بزرگ در مرغ‌های مادر تخم‌گذار

Table 2- The effect of fennel and garlic extracts in the diet on large yellow follicles in layer breeders.

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	تعداد فولیکول‌های زرد بزرگ Number of large yellow follicles	میانگین وزن فولیکول‌های زرد بزرگ (گرم) Average weight of large yellow follicles (gr)	میانگین قطر فولیکول‌های زرد بزرگ (میلی‌متر) Average diameter of large yellow follicles (mm)	وزن بزرگ‌ترین فولیکول (گرم) Weight of the largest follicle (gr)	قطر بزرگ‌ترین فولیکول (میلی‌متر) Diameter of the largest follicle (mm)
شاهد control	5.50	40.118	23.982	14.870	32.255
عصاره رازیانه Fennel extract	4.60	34.096	25.755	13.314	31.878
عصاره سیر Garlic extract	5.00	39.102	24.470	14.842	33.246
خطای استاندارد میانگین‌ها SEM ¹	0.401	4.210	1.413	1.214	1.189
سطح معنی‌داری P-value					
تیمار Treatment	0.3357	0.5672	0.6695	0.5870	0.6538

¹SEM: Standard error of means

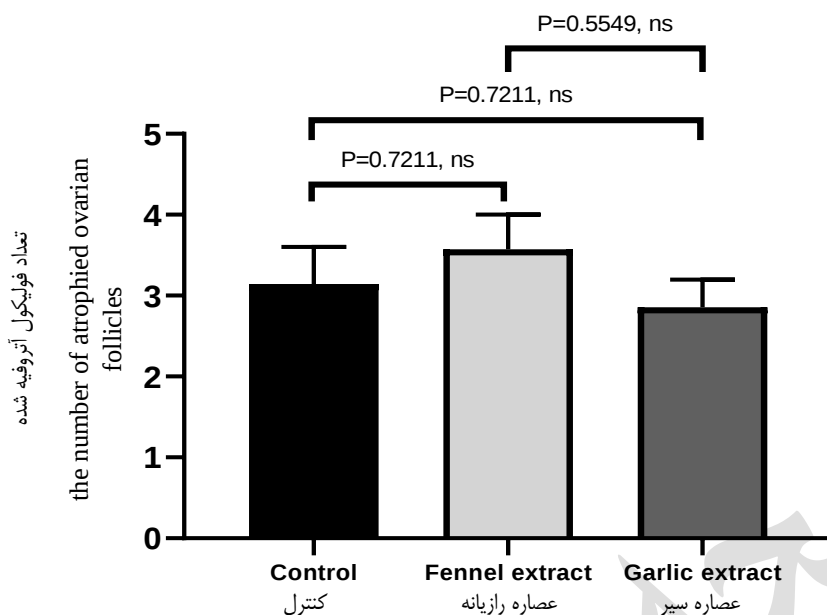
ویژگی‌های تخمدان: تعداد فولیکول‌های در حال رشد (شکل ۲) در تیمار عصاره رازیانه به صورت معنی‌داری بیشتر بود.



شکل ۲- اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر تعداد فولیکول‌های در حال رشد تخمدان

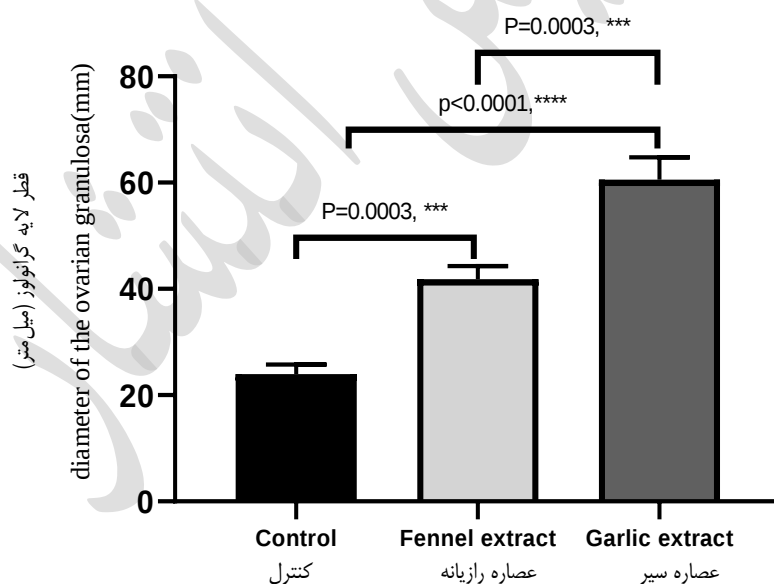
Figure 2- The effect of garlic and fennel extracts on the number of growing ovarian follicles.

تعداد فولیکول‌های آتروفیه شده (شکل ۳) در تیمارهای عصاره سیر و عصاره رازیانه در مقایسه با شاهد تحت تأثیر قرار نگرفتند. قطر لایه گرانولوزا (شکل ۴) در تیمارهای رازیانه و سیر به ترتیب بیشتر شد.



شکل ۳- اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر تعداد فولیکول‌های آتروفیه شده تخمدان

Figure 3-The effect of garlic and fennel extracts on the number of atrophied ovarian follicles.



شکل ۴- اثر عصاره‌های سیر و رازیانه بر قطر لایه گرانولوزی تخمدان

Figure 4- The effect of garlic and fennel extracts on the diameter of the ovarian granulosa

بحث:

در این مطالعه، تأثیر عصاره‌های سیر و رازیانه بر عملکرد تولیدی و ریخت شناسی دستگاه تولیدمثل در مرغ‌های مادر تخم‌گذار در پایان دوره تولید ارزیابی شد. نتایج نشان داد عصاره‌های استفاده شده تأثیری بر عملکرد تخم‌گذاری نداشتند،

در حالی که بسیاری از تحقیقات پیشین اثرات مثبت این گیاهان را بر شاخص‌های تولیدی طیور گزارش کردند. تحقیقات نشان دادند عصاره رازیانه دارای ترکیبات استروژن ماندی است که می‌تواند در افزایش تولید تخم مرغ نقش داشته باشد. اثرات مثبت عصاره رازیانه بر بهبود عملکرد، جوجه‌ریزی و پاسخ ایمنی در مادران گوشتی نشان داده شده است ([Kazemi](#), [fard et al., 2013](#))، همچنین استفاده از ۰/۵ درصد رازیانه در جیره مرغ‌های تخم‌گذار بهبود عملکرد را به همراه داشت ([Samantaray and Nayak, 2022](#)).

از طرف دیگر برخی پژوهش‌ها نتیجه‌گیری متفاوتی داشتند، به عنوان مثال اثر غلظت‌های مختلف اسانس رازیانه بر صفات عملکردی در مرغ‌های تخم‌گذار بدون تأثیر گزارش شد ([Taki et al., 2014](#)). در مطالعه حاضر نیز تأثیری از عصاره رازیانه بر عملکرد مرغ‌های مادر تخم‌گذار مشاهده نشد. از جمله علت این تفاوت‌ها ممکن است مرحله و سن گیاهان، فرآیند استخراج، موقعیت جغرافیایی، گونه‌های مرغ، تکنیک‌های مدیریت، غلظت اجزای فعال رازیانه مقدار آن‌ها در وعده خوراکی باشد ([Khan et al., 2022](#))، این محققین گزارش کردند که دانه رازیانه اثرات مثبت متعددی بر رشد و سلامت طیور دارد اما باید عواملی که در اثرگذاری آن دخالت دارند بیش‌تر مورد بررسی قرار گیرند.

در مطالعاتی که اثر سیر در مرغ‌های تخم‌گذار بررسی شده است، نیز تعدادی از مطالعات تأثیر مثبت آن بر عملکرد را گزارش کرده‌اند ([Abd El-Ghany, 2024](#)) و در برخی دیگر اثری بر عملکرد مشاهده نشده است. گزارش شده است که پودر سیر تخمیر شده در جیره مرغ‌های مادر تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر تولید تخم‌مرغ یا وزن تخم‌مرغ داشت ([Lim et al., 2023](#))، از طرفی استفاده از پودر سیر در جیره مرغ‌های تخم‌گذار اثر معنی‌داری بر عملکرد نشان نداد ([Yigrem et al., 2024](#)). که علت آن می‌تواند منطقه مورد مطالعه، نژاد، سن مرغ، شکل آماده‌سازی سیر، مقدار سیر مورد استفاده، تعداد مرغ‌های مورد مطالعه و مدت زمان استفاده از آن باشد، همانطور که در مطالعه متارگریسون ([Ogbuewu et al., 2021](#)) بررسی شده است.

علاوه بر موارد گفته شد از دلایل احتمالی تأثیر نداشتن عصاره‌های استفاده شده بر عملکرد می‌تواند نوع پرنده که در مطالعه حاضر مادر تخم‌گذار، اما در مطالعه محققین دیگر مرغ تخم‌گذار تجاری بوده است، نحوه پرورش که در مطالعه حاضر بستر بوده است و تراکم پرندگان ([Esenbuga, and Ekinci, 2023](#)) باشد.

در مطالعه حاضر تعداد فولیکول‌های زرد بزرگ و قطر و وزن فولیکول‌ها تحت تأثیر قرار نگرفت. گزارش‌های پیشین نشان داده‌اند که استفاده از ۲۰۰ میلی گرم اسانس رازیانه در مقایسه با کنترل و سطوح ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک به صورت معنی‌داری وزن فولیکول‌های زرد بزرگ را افزایش داد در حالی که وزن بزرگ‌ترین فولیکول تحت تأثیر قرار نگرفت ([Taki, et al., 2014](#))، اختلاف این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر می‌تواند سن پرنده، نحوه استفاده از رازیانه که در مطالعه این محققین اسانس بوده، یا نوع پرنده باشد. همچنین، پژوهش‌های دیگر نشان دادند که مصرف اسانس رازیانه، به ویژه به صورت تزریقی، تأثیر مثبتی بر شاخص‌های هورمونی و ساختاری تخمدان دارد. در پژوهش دیگر تزریق ۱۰ میلی گرم اسانس رازیانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مرغ‌های تخم‌گذار موجب بهبود تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ، وزن زرده، استروژن و فولیکول‌های سفید بزرگ شد اما بر فولیکول‌های زرد بزرگ تأثیر نداشت ([Taherkhani et al., 2018](#)).

بررسی‌های بافت‌شناسی در این مطالعه نشان داد که تعداد فولیکول‌های تخمدان با تیمارهای استفاده شده تحت تأثیر قرار نگرفت اما تیمار رازیانه باعث افزایش تعداد فولیکول‌های در حال رشد شد. از سوی دیگر، تعداد فولیکول‌های آتروفیه شده نیز در این مطالعه تحت تأثیر قرار نگرفتند.

مطالعات پیشین نشان دادند که در روند طبیعی پیری، وضعیت آنتی‌اکسیدانی تخمدان‌ها در مرغ‌ها کاهش می‌یابد. این کاهش به دلیل افت فعالیت آنتی‌اکسیدازها و سطوح رونویسی ژن‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین افزایش سطح اکسیدان‌ها است (Liu et al., 2018). بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل عصاره گیاهان دارویی می‌تواند به بهبود عملکرد تخمدان کمک کند. در مطالعه حاضر نیز رازیانه اثر مثبتی بر رشد فولیکول داشت.

یافته‌ها نشان داده‌اند که استفاده از ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم عصاره هیدروالکلی رازیانه در خوراک موش اثرات بهتری نسبت به دانه آن دارد. احتمالاً این اثر به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و وجود عوامل محافظتی و ضد آپوپتوزی مانند استروژن در تخمدان‌ها باشد (Pourjafari et al., 2020). همچنین تزریق عصاره رازیانه به میزان ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها به مدت ۱۴ روز موجب افزایش تعداد فولیکول‌های سالم و کاهش تعداد فولیکول‌های کیستیک شد (Seif Amirhoseiny et al., 2020). مطالعات نشان دادند در مرغ‌هایی که به صورت آزاد تغذیه شدند، برخی از ژن‌هایی که در انتخاب فولیکول نقش دارند، بیشتر بیان شده‌اند که احتمالاً نشان‌دهنده نقش تغذیه در توسعه زود هنگام فولیکول‌ها می‌باشد (Francoeur et al., 2021).

تحقیقات نشان داده‌اند که ریخت شناسی بافت و عملکرد سلول‌های گرانولوزا با رشد فولیکول تغییر می‌کند؛ به طوری که ضخامت لایه گرانولوزا با رشد فولیکول کاهش می‌یابد. این فرآیند تحت تأثیر هورمون‌های استروئیدی قرار دارد (Du et al., 2023)، این محققین گزارش کردند که ضخامت لایه گرانولوزا با افزایش سن پرده کاهش می‌یابد. در مطالعه حاضر قطر لایه گرانولوزا در تیمارهای رازیانه و سیر به صورت معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت که نشان‌دهنده اثر مثبت این عصاره‌ها می‌باشد.

سلول‌های گرانولوزا نقش مهمی در انتقال مواد مغذی به تخمک و تولید هورمون‌هایی مانند استروژن و پروژسترون دارند که برای رشد فولیکول و فرآیند تخمک‌گذاری ضروری هستند. این ویژگی استروئیدزایی در بخش‌های مختلف فولیکول متفاوت است به گونه‌ای که سطح استروئیدزایی در ناحیه دیسک جنینی کمتر از سایر بخش‌ها است. ساختار سلول‌های گرانولوزا در ناحیه دیسک جنینی به صورت چندلایه و در نواحی دیگر به صورت تک‌لایه است. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت استروئیدزایی سلول‌های گرانولوزا در نواحی پروکسیمال و دیستال نسبت به دیسک جنینی بیش‌تر است (Wojtysiak et al., 2011).

نتایج این تحقیق نشان داد که هرچند تیمارهای عصاره رازیانه و سیر تأثیر معنی‌داری بر صفات عملکردی مرغ‌های مادر تخم‌گذار نداشتند، اما تغییرات مثبتی بر برخی از شاخص‌های تخمدان مشاهده شد. افزایش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های در حال رشد و ضخامت لایه گرانولوزا در تیمارهای رازیانه و سیر نشان‌دهنده اثرات بالقوه این عصاره‌ها بر حفظ سلامت تخمدان است. از آنجا که کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تخمدان در طی فرآیند پیری می‌تواند به کاهش باروری منجر شود، نتایج پژوهش حاضر می‌تواند پیشنهادی برای کند کردن روند کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش باروری با استفاده از عصاره‌های رازیانه و سیر در ترکیب جیره غذایی مرغان مادر تخم‌گذار باشد. در پژوهش‌های آینده، لازم است تحقیقات بیشتری جهت روشن‌تر شدن اثر عصاره‌ها در مرغ‌های مادر تخم‌گذار انجام شود. همچنین بررسی دقیق‌تر سازوکارهای مولکولی و ارزیابی تأثیرات این ترکیبات بر سایر شاخص‌های باروری، می‌تواند مسیرهای جدیدی برای افزایش عملکرد تولیدمثلی در مرغ‌های مادر تخم‌گذار فراهم کند.

منابع:

Abd El-Ghany, W. A. (2024). Potential effects of garlic (*Allium sativum* L.) on the performance, immunity, gut health, anti-oxidant status, blood parameters, and intestinal microbiota of poultry: An updated comprehensive review. *Animals*, 14(3), 498. Doi: [10.3390/ani14030498](https://doi.org/10.3390/ani14030498)

Al-Amoudi, W. M. (2017). Protective effects of fennel oil extract against sodium valproate-induced hepatorenal damage in albino rats. *Saudi journal of biological sciences*, 24(4), 915-924. Doi: [10.1016/j.sjbs.2016.10.021](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.10.021)

Brady, K., Long, J. A., Liu, H. C., & Porter, T. E. (2020). Differences in in vitro responses of the hypothalamo-pituitary-gonadal hormonal axis between low-and high-egg-producing turkey hens. *Poultry Science*, 99(11), 6221-6232. Doi: [10.1016/j.psj.2020.08.048](https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.048)

Du, X., Zhu, Q., Pian, H., Yang, X., Zhao, D., Wu, X., ... & Yu, D. (2023). Transcriptome analysis of granulosa cells reveals regulatory mechanisms related to chicken follicle development. *Animals*, 14(1), 20. Doi: [10.3390/ani14010020](https://doi.org/10.3390/ani14010020)

Esenbuga, N., & Ekinici, O. (2023). Dietary Effects of Some Plant Extracts on Laying Performance, Egg Quality, and Some Blood Parameters in Laying Hens at Different Cage Densities. *Animals*, 13(24), 3866. Doi: [10.3390/ani13243866](https://doi.org/10.3390/ani13243866)

Eslami Farsani, M., dakhili, M., Ababzadeh, S., Yeganehparast, M., Heidari, F. (2019). Histomorphological and Histochemical Effects of Diet With Qom Zeolite on the Tissue Structure of the Small Intestine of Broiler Chickens Compared With Commercial Zeolite. *Journal of Veterinary Research*. 74(2), 261-71. Doi: [10.22059/jvr.2019.245916.2736](https://doi.org/10.22059/jvr.2019.245916.2736). (In Persian)

Filomeni, G., Aquilano, K., Rotilio, G., & Ciriolo, M. R. (2003). Reactive oxygen species-dependent c-Jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling cascade mediates neuroblastoma cell death induced by diallyl disulfide. *Cancer research*, 63(18), 5940-5949.

Francoeur, L., Stephens, C. S., & Johnson, P. A. (2021). Ad libitum feeding in broiler breeder hens alters the transcriptome of granulosa cells of pre-hierarchical follicles. *Animals*, 11(9), 2706. Doi: [10.3390/ani11092706](https://doi.org/10.3390/ani11092706)

Helal, E. G., AL Jalaud, N. A. A., El-Aleem, M. A., & Ahmed, S. S. (2019). Effect of phytoestrogen (fennel) on some sex hormones and other physiological parameters in male albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 74(7), 1616-1620. DOI: [10.21608/ejhm.2019.28268](https://doi.org/10.21608/ejhm.2019.28268)

Hidayatik, N., Yuliani, G. A., Agustono, B., Kristianingtyas, L., Novianti, A. N., & Khairullah, A. R. (2024). Effect of Garlic Extract (*Allium sativum*) on Hematological and Clinical Chemistry Parameters of Laying Quail. *Asian Journal of Dairy & Food Research*, 43(4), 790-795. Doi: [10.18805/ajdfr.DRF-408](https://doi.org/10.18805/ajdfr.DRF-408)

Hlokoe, V. R., Tyasi, T. L., Mbazima, V., & Gunya, B. (2023). Investigation of Egg Weight, Ovarian Follicles Morphology and Growth Differentiation Factor 9 mRNA Expression in Potchefstroom Koekoek Chicken Breed. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 25, eRBCA-2022. Doi: [10.1590/1806-9061-2022-1723](https://doi.org/10.1590/1806-9061-2022-1723)

Kazemi fard M., Kermanshahi, H., Rezaei, M., & Golian, A. (2013). Effect of different levels of fennel extract and vitamin D3 on performance, hatchability and immunity in post molted broiler breeders. *Iranian Journal of Applied Animal Sciences*. 3(4): 733-45.

Krychman, M. L. (2011). Vaginal estrogens for the treatment of dyspareunia. *The journal of sexual medicine*, 8(3), 666-674. DOI: [10.1111/j.1743-6109.2010.02114.x](https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.02114.x)

Khan, R. U., Fatima, A., Naz, S., Ragni, M., Tarricone, S., & Tufarelli, V. (2022). Perspective, opportunities and challenges in using fennel (*Foeniculum vulgare*) in poultry health and production as an eco-friendly alternative to antibiotics: A review. *Antibiotics*, 11(2), 278. Doi: [10.3390/antibiotics11020278](https://doi.org/10.3390/antibiotics11020278)

Kooti, W., Moradi, M., Ali-Akbari, S., Sharafi-Ahvazi, N., Asadi-Samani, M., & Ashtary-Larky, D. (2015). Therapeutic and pharmacological potential of *Foeniculum vulgare* Mill: a review. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 4(1), 1-9.

Lim, C. I., Kim, H. K., Heo, K. N., You, A. S., & Choo, H. J. (2023). Effects of dietary supplementation of fermented garlic powder on productive performance, hatchability, and biochemical blood parameters of layer breeders. *Journal of Animal Health and Production*, 11(1), 50-55. Doi: [10.17582/journal.jahp/2023/11.1.50](https://doi.org/10.17582/journal.jahp/2023/11.1.50)

Liu, X., Lin, X., Mi, Y., Li, J., & Zhang, C. (2018). Grape seed proanthocyanidin extract prevents ovarian aging by inhibiting oxidative stress in the hens. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018(1), 9390810. Doi: [10.1155/2018/9390810](https://doi.org/10.1155/2018/9390810)

Lukanov, H., Genchev, A., & Petrov, T. (2023). The Egg Production Efficiency Index (EPEI) as an economic indicator for measuring poultry egg production. *Bulg. J. Agric. Sci*, 29, 747-751.

Nandhini, V., Kaarunya, E., & CM, A. (2024). In-vitro antibacterial activity of Kodai hill garlic (*Allium sativum*) aqueous extract against wound infection pathogens including MRSA. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(1), 322-326. Doi: [10.22271/phyto.2024.v13.i1d.14847](https://doi.org/10.22271/phyto.2024.v13.i1d.14847)

Nobakht, A. (2016). The effects of different levels of diet metabolizable energy on performance, egg traits and blood parameters of aged laying hens. *Livestock Research (Quarterly)*, 5(1), 59-67. Doi: [10.22077/jlr.2016.448](https://doi.org/10.22077/jlr.2016.448)

Ogbuewu, I. P., Okoro, V. M., & Mbajiorgu, C. A. (2021). Meta-analysis of the responses of laying hens to garlic (*Allium sativum*) supplementation. *Animal Feed Science and Technology*, 275, 114866. Doi: [10.1016/j.anifeedsci.2021.114866](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114866)

Parsaeyan, N. (2016). The effect of *Foeniculum vulgare* (fennel) extract on lipid profile, lipid peroxidation and liver enzymes of diabetic rat. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*, 8(1), 24-29. Doi: [10.1016/S0378-8741\(80\)81015-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(80)81015-4)

Pourjafari, F., Haghpanah, T., Nematollahi-Mahani, S. N., Pourjafari, F., & Ezzatabadipour, M. (2020). Hydroalcoholic extract and seed of *Foeniculum vulgare* improve folliculogenesis and total antioxidant capacity level in F1 female mice offspring. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 1-8. Doi: [10.1186/s12906-020-03083-3](https://doi.org/10.1186/s12906-020-03083-3)

Rahman, K. (2001). Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. *The journal of nutrition*, 131(3), 977S-979S. Doi: [10.1093/jn/131.3.977S](https://doi.org/10.1093/jn/131.3.977S)

Samantaray, L., & Nayak, Y. (2022). The influences of black pepper, turmeric and fennel essential oils supplementation in feed on egg quality characteristics of layers. *Journal of Animal Health and Production*, 10(4), 522-528. Doi: [10.17582/journal.jahp/2022/10.4.522.528](https://doi.org/10.17582/journal.jahp/2022/10.4.522.528)

Seif Amirhoseiny, E., Ganji, A., Mosayebi, G., & Ghazavi, A. (2020). Immunomodulatory effect of fennel in animal model of polycystic ovarian syndrome. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 23(1), 22-33. Doi: [10.32598/JAMS.23.1.51.4](https://doi.org/10.32598/JAMS.23.1.51.4)

Taherkhani, R., Ghiasi, H., & Ebrahimi, M. (2018). The effect of using fennel on plasma estrogen and performance of laying hens. *Journal of Biochemical Technology*, 2, 115-122.

Taki, A., Salari, S., Bojarpour, M., Sari, M., & Taghizadeh, M. (2014). The effect of *foeniculum vulgare* essence on production performance, egg quality and reproductive parameters of laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(2), 140-9. Doi: [10.22067/ijasr.v6i2.21963](https://doi.org/10.22067/ijasr.v6i2.21963)

Tan, Y. G., Xu, X. L., Cao, H. Y., Zhou, W., & Yin, Z. Z. (2021). Effect of age at first egg on reproduction performance and characterization of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in chickens. *Poultry science*, 100(9), 101325. Doi: [10.1016/j.psj.2021.101325](https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101325)

Wojtysiak, D., Okólski, A., & Sechman, A. (2011). Structure and steroidogenic activity of the granulosa layer of F1 preovulatory ovarian follicles of the hen (*Gallus domesticus*). *Folia biologica (Kraków)*, 59(1-2), 59-64. Doi: [10.3409/fb59_1-2.59-64](https://doi.org/10.3409/fb59_1-2.59-64)

Yigrem, M., Animut, G., & Mekuriaw, Y. (2024). Effect of neem (*Azadirachta indica*), girawa (*Vernonia amygdalina*) leaves meal and garlic (*Allium sativum*) on performance and egg qualities of layer chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 33(4), 100469. Doi: [10.1016/j.japr.2024.100469](https://doi.org/10.1016/j.japr.2024.100469)