

Wykorzystanie wczesnych etapów rozwoju zarodkowego do analizy wartości wylęgowej jaj indyczych

ANETA ORŁOWSKA, EMILIA MRÓZ, ANITA FRAN CZAK*

Katedra Drobiarstwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWM, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

*Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii UWM, ul. Oczapowskiego 1a, 10-719 Olsztyn

Orłowska A., Mróz E., Franczak A.

Analysis of the hatching value of turkey eggs at early stages of embryo development

Summary

The objective of the study was to demonstrate which measurements of the embryo during the gastrulation phase can be used for estimating their degree of development and determine the hatching value of turkey eggs.

The study was performed on hatching eggs of heavy white broad-breasted turkeys, from the 16th, 20th and 24th week of the laying season. The embryo structure was examined on the third day of incubation, at eight-hour intervals. The shape and diameter of germinal discs, embryo length, and the width of the vasculosa area, head and tail regions were determined visually, while the number of somite pairs - under a microscope. The shape of germinal discs changed from round to flat, and their diameter increased during incubation. Embryo length, the width of the head region, and the number of somite pairs increased at eight-hour intervals. The tail region width was smaller in the 72nd hour, compared with the 56th and 64th hour of incubation, and showed wide variation. These measurements indicate progress in development and changes in embryo position. Body measurements of embryos in eggs from the 24th week of the laying season were greater, compared with the 16th week. The only exception was the width of the tail region. Worse hatching results were a consequence of a lower egg fertilization rate and increased embryo mortality between the 11th and 24th days of incubation. To estimate the degree of development of the embryo and hatching value of eggs the following measurements can be used: the shape and diameter of the germinal disc, embryo length, and the width of the head region. These embryo features were characterized by lower variation in comparison to the others. Embryonic development in older turkey eggs proceeded rapidly and final hatching results were worse.

Keywords: turkey, embryonic development, hatchability

Wczesne etapy rozwoju zarodka indyka zostały opisane w latach 90. i oznaczone cyframi rzymskimi od I do XI (9), zaś embrionu kury znacznie wcześniej i oznaczone od I do XIV (6, 10). Różnice w stopniu rozwoju embrionów pomiędzy podstawowymi gatunkami ptaków stwierdzono już w momencie zniesienia jaja. U zarodka kury pole jasne jest w pełni uformowane, podczas gdy embrion indyka jest dopiero w trakcie tworzenia tego pola (1, 9). U embrionu indyka w okresie jajowodowym widoczny jest obszar „alba” (1). Obszar ten znajduje się w centrum blastodermi tuż przed polem jasnym i jest charakterystyczny tylko dla tego gatunku ptaków. W trakcie dalszego rozwoju zarodka, jeszcze przed zniesieniem jaja obszar ten zanika (1). Zarodek przepiórki jest bardziej zaawansowany w rozwoju niż embrion kury, z wytworzoną w tylnej części pola jasnego drugą warstwą komórek – hipoblastem (14). U zarodka kury hipoblast formuje się dopiero po kilku godzinach inkubacji.

Morfologia zarodka zmienia się nieustannie w trakcie jego rozwoju i jest podstawą, na której można opierać poznanie i zrozumienie mechanizmów kierujących rozwojem. Zależy ona od wartości biologicznej jaj, uwarunkowanej wiekiem i żywieniem niosek, porą zniesienia jaja, a także techniką lęgu (13, 15). Dalsze etapy rozwoju zarodków indyczych są mniej znane (4, 5). Można przypuszczać, iż powodem tego jest mała nieśność i trudności metodyczne, wynikające ze struktury białka gęstego jaj tych ptaków.

Pogarszająca się jakość jaj w końcowej fazie nieśności ma związek z obniżoną żywotnością zarodków i gorszymi wynikami wylęgu (8, 12). U gęsi pod koniec nieśności odnotowano gorsze wyniki wylęgu i szybszy rozwój kosmówko-omoczni (11). W jajach kurzych zniesionych w godzinach rannych zarodki po 36 godzinach inkubacji były większe niż w jajach zniesionych w godzinach popołudniowych (13). Istotą badań związku między wiekiem niosek a tempem

wzrostu i rozwoju zarodków jest poprawa wyników wylęgu.

Celem badań było wskazanie, które pomiary embrionów w fazie gastrulacji można wykorzystać do oceny stopnia ich rozwoju i określenia wartości wylęgowej jaj indyjskich.

Materiał i metody

Do badań użyto jaj wylęgowych pochodzących od indyków białych szerokopierśnych typu ciężkiego, w 16., 20. i 24. tygodniu nieśności utrzymywanych według technologii przyjętej dla tego gatunku ptaków (7). Jaja magazynowano przez 4 dni. Inkubację jaj (łącznie 3744 szt.) prowadzono w aparacie Petersime. Do oceny budowy zarodków użyto jaj inkubowanych przez 56, 64 i 72 godziny (w każdym okresie nieśności 30 szt.). Wybór terminu do oceny zarodków (od 56 godziny inkubacji) wynikał z faktu, że białko gęste nad powierzchnią tarczki zarodkowej dało się usunąć, a zarodek zdjąć bez jego uszkodzenia dopiero w tym okresie. Zarodki w 56., 64. i 72. godzinie inkubacji poddano analizie wzrokowej, określając kształt i wielkość tarczki zarodkowej, długość zarodka, szerokość części głowowej, ogonowej i pola naczyniowego, a pod binokulem liczbę par somitów. Łącznie przeanalizowano 90 zarodków, a analizie morfologicznej poddano embriony żywe.

Jaja inkubowane przez 56 i 64 godziny po wyjęciu z inkubatora przenoszono w pozycji poziomej na gumowe podstawki i odkażano watą nawilżoną 70% etanolem. Skorupę otwierano przy użyciu pęsety. Strzykawką odciągano taką ilość białka z ostrego końca jaja, aby kula żółtkowa wraz z zarodkiem obniżyła się. Po otwarciu skorupy określano: kształt tarczki zarodkowej – płaska, wypukła (szt.), średnicę tarczki zarodkowej (mm), długość osi podłużnej zarodka (mm), szerokość najszerszej części głowowej (mm) i najszerszej części ogonowej zarodka (mm).

W dalszym etapie badań wylewano kulę żółtkową na płytkę Petriego, zawierającą 0,9% NaCl, tak aby tarczka znajdowała się w górnej części żółtka, a za pomocą paska z bibuły delikatnie usuwano z niej resztki białka. Na tarczkę zarodkową nakładano krążek z bibuły średnicy 8 mm, tak aby znajdowała się ona w części środkowej i odcinano błonę żółtkową wokół zewnętrznej krawędzi krążka. Unosząc delikatnie pęsetą jedną krawędź krążka zsuwano go z kuli żółtkowej wraz z tarczką. Nadmiar żółtka usuwano ocierając krążek o brzeg płytki i przepłukiwano tarczkę 0,9% NaCl. Krążek wraz z tarczką zarodkową przenoszono do płytki Petriego, zawierającej bufor Tyrode. Płytkę Petriego umieszczano pod binokulem i w powiększeniu 35-krotnym określano liczbę par somitów.

Jaja inkubowane przez 72 godziny po wyjęciu z inkubatora przygotowywano do analizy tak samo, jak młodsze zarodki. W tym okresie inkubacji określano szerokość pola naczyniowego (mm) na wysokości tętnicy żółtkowej. Do oceny budowy zarodków wykorzystano wcześniejsze opracowania (2-5).

Dane liczbowe dotyczące budowy zarodków opracowano statystycznie jednoczynnikową analizą wariancji w układach ortogonalnych i nieortogonalnych oraz testem istotności różnic Duncana.

Wyniki i omówienie

Spośród 90 jaj użytych do analizy 10 było z zarodkami wcześniej zamarytymi. W pozostałych jajach tarczki zarodkowe miały okrągły kształt, wyraźne kontury z dobrze widocznym polem jasnym w kształcie gruszki.

W tab. 1 przedstawiono charakterystykę zarodków inkubowanych 56, 64 i 72 godziny. Między 56. a 72. godziną inkubacji kształt tarczki zarodkowej zmienił się z wypukłego na płaski. Średnica tarczki zarodkowej zwiększyła się o 6,52 mm w kolejnych okresach inkubacji. Stwierdzono również istotne ($p \leq 0,01$) różnice w długości osi podłużnej i szerokości części głowowej zarodków. W analizowanych okresach te części ciała embrionów rozwijały się bardzo intensywnie. Wymiary części ogonowej między 56. a 72. godziną inkubacji nie zmieniały się istotnie. Odnotowano istotny wzrost ($p \leq 0,01$) liczby par somitów między 56. a 64. godziną inkubacji. Pole naczyniowe wyraźnie widoczne w 72. godzinie inkubacji było wypełnione krwią jedynie w żyłach zatoki brzeżnej.

Tab. 1. Charakterystyka embrionów indyjskich w określonych godzinach inkubacji (\bar{x} , V%)

Cechy embrionów	Czas inkubacji (h)		
	56	64	72
Liczba jaj z tarczką zarodkową:			
- płaską	21	27	25
- wypukłą	6	1	0
Średnica tarczki zarodkowej, mm	34,44 ^A 24,39	38,46 ^B 7,99	40,96 ^B 7,34
Długość osi podłużnej zarodka, mm	9,03 ^{Aa} 13,89	9,75 ^b 11,72	10,32 ^{Bb} 7,77
Szerokość części głowowej, mm	4,48 ^A 18,94	5,32 ^{Ba} 16,22	6,04 ^{Bb} 21,09
Szerokość części ogonowej, mm	3,22 21,66	3,46 21,49	3,12 28,25
Liczba par somitów	10,07 ^A 25,37	13,07 ^B 17,90	-
Szerokość pola naczyniowego, mm	-	-	14,76 6,80

Objaśnienie: a, b, A, B – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie: małymi $p \leq 0,05$, dużymi $p \leq 0,01$

W tab. 2 przedstawiono cechy embrionów w 56. godzinie inkubacji, w badanych tygodniach nieśności. Tarczki zarodkowe w jajach młodszych niosek były płaskie i wypukłe, w jajach starszych niosek częściej miały płaski kształt. Średnica tarczki zarodkowej, długość osi podłużnej zarodków i szerokość części głowowej były istotnie większe ($p \leq 0,01$) w jajach pochodzących z 20. i 24. tygodnia niż z 16. tygodnia nieśności. Nie stwierdzono istotnych różnic w szerokości części ogonowej zarodków. Cecha ta charakteryzowała się większą zmiennością osobniczą niż pozostałe. Embriony z 20. tygodnia miały istotnie więk-

Tab. 2. Charakterystyka embrionów indycznych w 56. godzinie inkubacji, w zależności od tygodnia nieśności (\bar{x} , V%)

Cechy embrionów	Tydzień nieśności		
	16.	20.	24.
Liczba jaj z tarczką zarodkową:			
- płaską	5	7	9
- wypukłą	4	2	0
Średnica tarczki zarodkowej, mm	24,00 ^A 21,95	39,88 ^B 7,46	39,44 ^B 7,40
Długość osi podłużnej zarodka, mm	7,88 ^A 18,42	9,66 ^B 7,31	9,55 ^B 5,52
Szerokość części głowowej, mm	3,66 ^A 19,28	4,88 ^B 12,29	4,88 ^B 12,29
Szerokość części ogonowej, mm	2,77 15,87	3,44 21,09	3,44 21,09
Liczba par somitów	7,66 ^A 9,22	13,00 ^C 6,66	9,55 ^B 19,66

Objaśnienie: jak w tab. 1.

szą liczbę somitów (13 par) w porównaniu z zarodkami z 16. i 24. tygodnia nieśności. Dużą zmienność tej cechy odnotowano u zarodków z 24. tygodnia nieśności.

Tabela 3 zawiera dane dotyczące budowy zarodków w 64. godzinie inkubacji w badanych tygodniach nieśności. Tarczki zarodkowe miały płaski kształt. Wypukłość zaobserwowano jedynie w jajach z 16. tygodnia nieśności. Średnica tarczki zarodkowej, długość osi podłużnej i szerokość części głowowej embrionów były większe ($p \leq 0,01$) w jajach z 24. tygodnia nieśności. Nie stwierdzono istotnych różnic w szerokości części ogonowej zarodków, o czym decydowała duża zmienność osobnicza tej cechy. Szerokość części ogonowej u niektórych zarodków w 64. godzinie była mniejsza niż w 56. godzinie inkubacji, co wynikało ze zmiany ułożenia zarodka. Istotnie wyższą ($p \leq 0,01$) liczbę par somitów w 64. godzinie inkubacji zarejestrowano u zarodków pochodzących z jaj 20. i 24. tygodnia w porównaniu do 16. tygodnia nieśności.

Tab. 3. Charakterystyka embrionów indycznych w 64. godzinie inkubacji, w zależności od tygodnia nieśności (\bar{x} , V%)

Cechy embrionów	Tydzień nieśności		
	16.	20.	24.
Liczba jaj z tarczką zarodkową:			
- płaską	8	10	9
- wypukłą	1	0	0
Średnica tarczki zarodkowej, mm	36,66 ^a 10,39	38,50 ^{ab} 5,37	40,22 ^b 5,80
Długość osi podłużnej zarodka, mm	9,11 ^A 6,60	9,40 ^A 14,36	10,77 ^B 4,09
Szerokość części głowowej, mm	4,77 ^A 17,44	5,20 ^a 17,67	6,00 ^{Bb} 0,00
Szerokość części ogonowej, mm	3,33 21,21	3,80 24,18	3,22 13,68
Liczba par somitów	10,77 ^A 26,56	14,10 ^B 7,05	14,22 ^B 4,69

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Tab. 4. Charakterystyka embrionów indycznych w 72. godzinie inkubacji, w zależności od tygodnia nieśności (\bar{x} , V%)

Cechy embrionów	Tydzień nieśności		
	16.	20.	24.
Liczba jaj z tarczką zarodkową:			
- płaską	10	7	8
- wypukłą	0	0	0
Średnica tarczki zarodkowej, mm	39,00 ^a 10,26	41,85 ^b 1,65	42,62 ^b 1,75
Długość osi podłużnej zarodka, mm	10,10 ^a 9,85	9,85 ^A 3,83	11,00 ^{Bb} 0,00
Szerokość części głowowej, mm	7,00 ^{Bb} 19,05	4,71 ^A 10,35	6,00 ^{Ba} 0,00
Szerokość części ogonowej, mm	4,00 ^C 11,79	2,00 ^A 0,00	3,00 ^B 0,00
Średnica pola naczyniowego, mm	12,70 ^A 17,43	14,42 ^A 18,27	17,62 ^B 2,94

Objaśnienie: jak w tab. 1.

W tab. 4 przedstawiono wyniki analizy budowy zarodków w 72. godzinie inkubacji. Średnice tarczki zarodkowych były większe ($p \leq 0,05$) w jajach z 20. i 24. tygodnia w porównaniu z 16. tygodniem nieśności. Odnotowano istotnie większą ($p \leq 0,01$) długość osi podłużnej i szerokość pola naczyniowego u zarodków z 24. tygodnia niż w wcześniejszych okresach nieśności. Szerokość części głowowej i ogonowej zarodków była większa ($p \leq 0,01$) w jajach z 16. tygodnia nieśności niż w pozostałych tygodniach. Pole naczyniowe w 72. godzinie inkubacji było wypełnione krwią w żyłach zatoki brzeżnej. We wcześniejszych okresach pole naczyniowe było w początkowej fazie tworzenia, bez oznak krwi.

Średnie wyniki wylęgowości jaj indycznych przedstawia tab. 5. Zapłodnienie jaj zmniejszyło się o 7,14% w 24. tygodniu nieśności w odniesieniu do 16. i 20. tygodnia. W 24. tygodniu odnotowano wzrost śmiertelności zarodków do 10. doby oraz między 11. a 24. dobą inkubacji, co wskazuje na obniżoną wartość wylęgową jaj. Wylęg piskląt w tym tygodniu nieśności

Tab. 5. Wyniki wylęgowości jaj indycznych w badanych tygodniach nieśności

Wskaźniki wylęgowości	Tydzień nieśności		
	16.	20.	24.
Jaja nałożone, szt.	756	1638	1260
Jaja zapłodnione, szt.	702	1521	1080
%	92,85	92,85	85,71
Zarodki zamarte, %	10,53	12,08	16,47
w tym:			
do 10. doby	8,26	7,49	9,25
między 11. a 24. dobą	2,13	2,49	6,85
między 25. a 27. dobą	0,14	2,10	0,37
Piskląta nie wyklute, %	3,56	4,93	3,79
Wylęg z jaj, %			
nałożonych	79,76	77,04	68,33
zapłodnionych	85,89	82,97	79,72

był znacznie mniejszy niż we wcześniejszych tygodniach.

Kształt tarczki z wypukłego na płaski zmienił się w 72. godzinie lęgu, co świadczy o postępującym rozwoju embrionów. We wcześniejszych badaniach (5) długość embrionów indyckich w 3. dobie inkubacji wynosiła 6-11 mm, co jest zbliżone do wyników niniejszych badań. Autorzy ci podali, że pole naczyńiowe w tym okresie ma średnicę 10-25 mm, co także nie odbiega od wyników własnych badań. Krew w polu naczyńiowym w 72. godzinie inkubacji odnotowano także we wcześniejszych badaniach Chermers (4) oraz Dziaczkowskiej i Farugi (5). Nie znaleziono literatury dotyczącej wielkości ocenianych części ciała embrionów indyckich. Wiek niosek ma wpływ na stopień rozwoju zarodków. Zarodki od starszych niosek są większe, co wskazuje, że rozwijają się szybciej.

Wyniki wylęgowości gorsze w końcowym tygodniu nieśności (24 tyg.) wskazują na zmniejszającą się wartość wylęgową jaj indyckich. Zagadnienie to potwierdza wiele wcześniejszych wyników badań (8, 12).

Prowadzone badania pozwalają na stwierdzenie, że do oceny stopnia rozwoju zarodków i wartości wylęgowej jaj mogą być wykorzystane następujące pomiary: kształt i średnica tarczki zarodkowej, długość osi podłużnej zarodka i szerokość części głowowej. Cechy te charakteryzowały się mniejszą zmiennością w porównaniu do pozostałych. Rozwój embrionalny w jajach indyków starszych przebiegał szybciej, a ostateczny wynik wylęgu był gorszy.

Piśmiennictwo

1. Bakst M. R., Gupta S. K., Akuffo V.: Coparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. Poultry Sci. 1997, 76, 83-90.
2. Bielańska-Osuchowska Z.: Zarys organogenezy. Różnicowanie się komórek w narządach. PWN, Warszawa 2004.
3. Bielańska-Osuchowska Z.: Embriologia. PWRiL, Warszawa 2001.
4. Chermers F. L.: Development of the turkey embryo. World's Poultry Sci. J. 1980, 36, 264.
5. Dziaczkowska L., Faruga A.: Klucz do oznaczania wieku embrionów indyckich. Wydanie własne – COBRD, Poznań 1983.
6. Eyal-Giladi H., Kochav S.: From cleavage to primitive streak formation. A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology. Dev. Biol. 1976, 49, 321-337.
7. Faruga A., Jankowski J.: Indyki – hodowla i użytkowanie. PWRiL, Warszawa 1996.
8. Faruga A., Pudyszak K., Puchajda H., Jankowski J., Kozłowski K.: Charakterystyka jakości jaj w zależności od okresu nieśności i pochodzenia indyków. Zesz. Nauk. Prz. Hod. 1996, 24, 91-99.
9. Gupta S. K., Bakst M. R.: Turkey embryo staging from cleavage through hypoblast formation. J. Morphol. 1993, 217, 313-325.
10. Hamburger V., Hamilton H. L.: A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morphol. 1951, 88, 49-92.
11. Mróz E., Lepek G.: A biological evaluation of hatches in different phases of goose egg production. Pol. J. Natur. Sc. 2003, 13, 115-123.
12. Mróz E., Pudyszak K.: Analiza wyników wylęgowości i jakości jednodniowych indycząt w zależności od wieku indyczek. Zesz. Nauk. Prz. Hod. 1997, 32, 97-102.
13. Niespodziewański M.: Zależność między porą zniesienia jaja w ciągu dnia a wielkością tarczki zarodkowej przed lęgiem i po 36 godzinach lęgu. Zesz. Nauk. Prz. Hod. 1991, 95-104.
14. Stepińska U., Olszańska B.: Cell multiplication and blastoderm development in relation to egg envelope formation during uterine development of quail (*Coturnix coturnix japonica*) embryo. J. Exp. Zool. 1983, 228, 505-510.
15. Tazawa H., Whittow G. C.: Incubation Physiology, [w:] Sturkie's Avian Physiology. Academic Press, San Diego 2000, 617-634.

Adres autora: mgr inż. Aneta Orłowska, ul. M. Oczapowskiego 5/020, 10-719 Olsztyn; e-mail: anetaorlowska1@wp.pl