

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 9

Issue 3

Különszám/Special Issue

Gödöllő
2013



KORAI EMBRIÓELHALÁS ÖSSZEHASONLÍTÁSA SPF (SPECIFIED PATHOGEN FREE) ÉS NORMÁL TYÚKTOJÁSNÁL

Takács Attila, Weber Mária, Szabó Rubina Tünde, Kustos Károly, Fazekas Natasa, Liptói Krisztina

¹Szent István Egyetem, Állattenyésztés-tudományi Intézet,
2103 Gödöllő, Páter Károly út 1.
takacs.attila@indamail.hu

Összefoglalás

Témám a keltetés első 9-11 napjában történő korai embrióelhalás összehasonlító vizsgálata SPF tyúktojás és normál (Hampshire X Plymouth) keltetőtojásokban. A kilencedik napon történő lámpázás után azokat a tojásokat törtem fel, amelyek nem mutattak normális embrionális fejlődést.

Három fő fenotípusos kategóriát alkalmaztam (*Abbot és Yee, 1975 és Szalay, 1989* nyomán):

- Pozitív fejlődésmenet (positive development - PD): A membránfelületek csak ekto- és endodermális szöveteket tartalmaznak. Vérszigetek nem alakultak ki.
- Embrió nélküli blasztoderma (blastoderm without embryo - BWE): Ektodermális, endodermális és mezodermális szöveteket lehet megfigyelni. A vérszigetek kialakultak.
- Elhalt embrió (dead embryo - D1-9): Az inkubáció első kilenc napja során különböző fejlődési stádiumban elhalt embriók.

Vizsgálataim célja, hogy az eredmények értékelése után következtetést tudjunk levonni, hogy vannak-e alapvető eltérések SPF és normál tojások embrióelhalása között. Az eddigi vizsgálatok alapján a kieső tojások száma mindkettő kategóriában közel azonos volt és a D3-5 fenotípus dominál. Jelentős embrionális elhalás figyelhető meg a PD és BWE fenotípusoknál is a többi kategóriához képest. A D6-9 fenotípusok mennyisége elhanyagolható az előzőekhez viszonyítva.

Kulcsszavak: tyúk, keltetés, SPF (Specified pathogen free), embrióelhalás

Comparing early embryonic mortality in SPF (Specified Pathogen Free) and normal hen eggs

Abstract

Our study was about the comparative analysis of early embryonic mortality in SPF hen eggs and standard (Hampshire X Plymouth) hatching eggs. Eggs not showing normal embryonic development during the candling on the 9th day were broken.

Three main phenotype categories were defined (according Abbot and Yee 1975, Szalay 1989):

- Positive development (PD): Membrane surfaces are made up only from ecto- and endodermal tissues. There are no blood islands formed
- Blastoderm without embryo (BWE): Ectodermal, endodermal and mesodermal tissues are visible as well. Blood islands are formed.
- Dead embryos (D1-9): Embryos died in different developmental stage during the first nine days of incubations.



The aim of our study is to draw conclusions whether there are essential differences between the embryonic death of SPF and normal hatching hen eggs. Based on our results so far, the number of the discarded eggs is almost equal in both categories, with D3-5 phenotype being dominant. In the BWE and D3-5 phenotypes the early embryonic mortality was more remarkable than in other categories. The quantity of D6-9 phenotype is inconsiderable compared to the previous ones.

Keywords: hen, hatchery, SPF (Specified pathogen free), embryonic mortality

Irodalmi áttekintés

Az SPF (Specific Patogene Free – meghatározott kórokozóktól mentes) minőségű tojások rendkívül fontos alapanyagok a gyógyszeripar számára. Ennek ellenére vizsgálatával kevesen foglalkoznak, így csekély számú adat, szakirodalom áll a rendelkezésünkre.

Az Európai Gyógyszerkönyv (Ph.Hg.VIII.-Ph.Eur.6.6-1) megfogalmazása szerint a vakcinák termelésére, illetve minőségellenőrzésére szolgáló csirkéknek, embrióknak és sejttenyészeteknek – amennyiben ez a követelmény – meghatározott kórokozóktól mentes (SPF) csirkeállományból származó tojásokból kell származniuk. Állománynak a madarak azon csoportját nevezzük, amelynek egyedei ugyanazon környezetben élnek, és saját gondozószemélyzetük van, amely nincs kapcsolatban nem SPF állományokkal. Amennyiben az állományt már kijelölték, nem SPF madarak nem kerülhetnek be az állományba. Minden egyes állományt úgy kell elhelyezni, hogy a fertőződés kockázata a lehető legkisebb legyen.

Annak ellenére, hogy a korai embrionális elhalás általában magas a baromfifajokban (Coleman, 1983; Krueger, 1990), ennek biológiai alapjai még nem teljesen tisztázottak. Baromfiban az első barázdálódás 6-8 órával a fertilizáció után történik (Perry, 1987). Annak köszönhetően, hogy a megtermékenyített petesejteknek az embriók fejlődésének kezdetén az oviductus elülső részéből történő eltávolítása az állat kiirtása nélkül nem lehetséges, a korai embrionális rendellenességek tanulmányozása főként a megtojás utáni időszakra korlátozódik (Foulkes, 1990). Így tehát, az embriófejlődés leírása többnyire az őscsík megjelenésétől (csirkében ez az első 6-8 óra inkubáció) kezdődik, ez a jele a gasztruláció megindulásának.

Hamburger és Hamilton (1951) megalkották a normál embrionális fejlődés állomásainak szám szerinti leírását a megtojás után kezdődően csirke embriókra, amely jelenleg a legszélesebb körben használt rendszer. 46 embrionális fázist írtak le, amely három fő szakaszra osztható:

1. Az őscsík megjelenésétől és megnyúlásától a feji redő megjelenéséig (2-6. fázis).
2. A szomiták megjelenésétől és megsokszorozódásuktól az embrió görbült formájának kialakulásáig (7-14. fázis).
3. Az embrionális szervek és extra-embrionális struktúrák kialakulása (15-46 fázis).

Hamburger és Hamilton (1951) az oviductusban lezajló embrionális fejlődés egészét és az inkubáció (postovipozicció) első óráját az őscsík megjelenéséig bezárólag nevezte első fázisnak.

A tyúk esetében számos irodalmi adat utal arra, hogy a korai embriófejlődés során jelentős veszteséget (1-12%) okozhatnak a kromoszóma-rendellenességek (Fechheimer, 1981; Szalay et al., 1988). Ezek az elsősorban számbeli eltérések, mint például a triploidia, haploidia, poliploidia, amelyek a meiózis vagy a termékenyülés során, illetve az embriófejlődés kezdetén lépnek fel és többnyire letálisak (Mong et al., 1974; Fechheimer és Jaap, 1980; Fechheimer, 1981).

A tyúkembrió keltetés alatti elhalásának kedvező körülmények között is az összes kiesésnek kb. 25%-a (összesen kb 1,5%) a 2., 3. és 4. nap folyamán következik be. Ez tehát az embriófejlődés kritikus szakasza, emiatt bármilyen keltetési hiba ebben a szakaszban sokkal



érzékenyebben érinti az embriót, mint a későbbiekben. Ezek a hibák lehetnek, a keltetés előtti rossz higiéniai és tárolási körülmények, helytelen gázosítás, keltetőgép hőmérsékletének emelkedése, tojások rázkódása vagy elégtelen forgatás.

Célom az SPF tojásokban előforduló korai embrionális rendellenességek vizsgálata, az adatok összehasonlítása a normál (Plymouth / Hampshire) keltetőtojásokban kimutatható rendellenes embriók fenotípusával, továbbá a gyakorlatba átvihető tapasztalatokat, javaslatokat megfogalmazni a keltethetőségre vonatkozóan.

Anyag és módszer

Öt összehasonlító vizsgálatot végeztem a korai embrióelhalás vizsgálatára 9-11 napos tojásokon.

Vizsgálatban részt vevő fajták:

Normál: Hampshire X Plymouth keresztezés, a K+K Farm KFT Becskei telephelyéről.

SPF: Leghorn fajta, a Couvoir de Cerveloup franciaországi telephelyéről.

Kifejlett tojók testtömege: 1,5-2,1kg. Kifejlett kakasok testtömege: 1,9-2,5 kg. Ivarérés 4,5-5 hónaposan. Éves tojástetmelés 230-250 db. Tojáshéj mészfehér színű. Átlagos tojásméret 56-60g.

Embriók vizsgálata:

Minden vizsgálathoz 1050 db tojást lámpáztam meg. Azokat a tojásokat törtem fel, amelyek az 9-11 napon végzett lámpázás során nem mutattak normális embrionális fejlődést. A terméketlennek tűnő tojások tartalmazhatnak olyan embrionális szöveteket, amelyeket nem lehetséges a lámpázáskor kimutatni, csak feltörés után válnak láthatóvá.

A korán elhalt embriók illetve embrionális szövetek éles ollóval történő kimetszése után a mintákat 0,9%-os NaCl oldatba helyeztem a fenotípus meghatározásának idejére, amelyet sztereomikroszkóp (Leica MZ6) segítségével végeztem. A következő fenotípusos kategóriákat alkalmaztam (Liptói, (2004) nyomán:

* pozitív fejlődésmenet (positive development - pd): A membránfelületek csak ekto- és endodermális szöveteket tartalmaznak. Vérszigetek nem alakultak ki.

* embrió nélküli blasztoderma (blastoderm without embryo - bwe): Ektodermális, endodermális és mezodermális szöveteket lehet megfigyelni. A vérszigetek kialakultak.

* elhalt embrió (dead embryo - d1-9): Az inkubáció első öt napja során különböző fejlődési stádiumban elhalt embriók.

1. táblázat: Vizsgálati minták

vizsgálat (1)	SPF (db) (2)	normál (db) (3)
1.	82	80
2.	94	74
3.	76	100
4.	85	56
5.	87	78

Table 1: Samples

(1) Experiment (2) Specified pathogen free (3) Normal

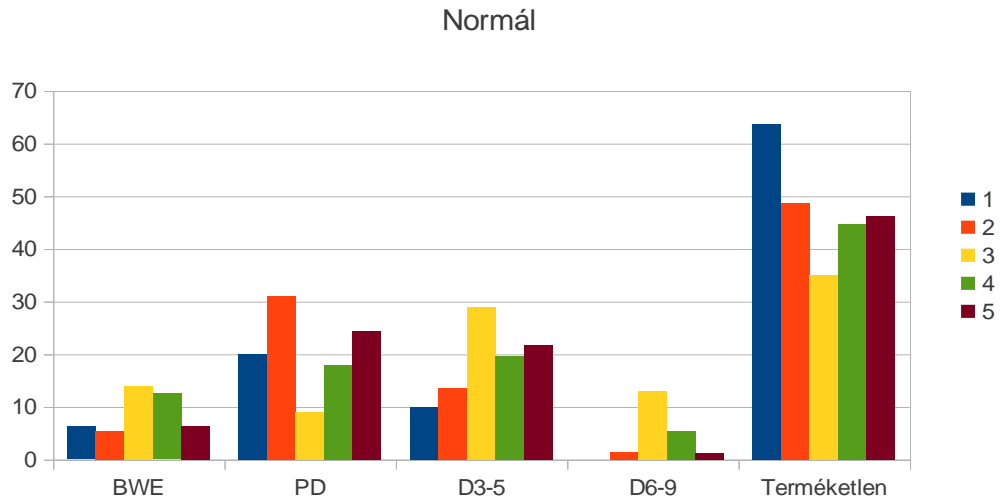


Normál tojásoknál a Pd fenotípus a leggyakoribb. SPF tojásoknál a D3-5 fenotípus a leggyakoribb .

A terméketlen tojások minden vizsgálatnál a legmagasabb arányt mutatják.

Összesítve a normál tojások esetében az elhalások aránya nagyobb volt, mint a terméketlen tojások aránya, az első vizsgálat kivételével. Az SPF tojásoknál a terméketlenek mennyisége volt domináns, kivéve a 4. vizsgálatot.

1. ábra: A normál csoport eredményei

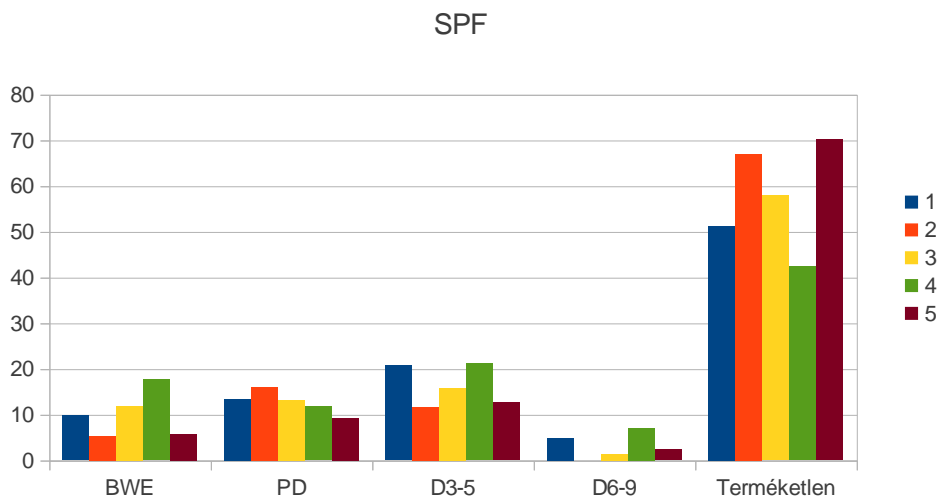


(1)

Figure 1: Results of the normal group

(1) Infertile

2. ábra: Az SPF csoport eredményei



(1)

Figure 2: Results of the SPF group

(1) Infertile



Következtetések, javaslatok

Mind a korai embrionális rendellenességek, mind a terméketlenség kialakulása, különféle okokra vezethető vissza. Technológiai, genetikai problémák egyaránt állhatnak a háttérben. A korai embrióelhalás genetikai háttere akkor tanulmányozható objektíven, ha az azt esetlegesen kiváltó technológiai hibákat kiküszöböljük. A tenyészállomány toxinoktól, fertőző anyagoktól mentes, optimális összetételű takarmányozása, megfelelő méretű és almozású tojófészkek kialakítása és a tojások naponta többszöri gyűjtése elengedhetetlen (*Bogenfürst-Ballay* 1990; *Bogenfürst*, 1992). Az állomány fertőzésektől való mentessége meghatározó, mivel például a *Mycoplasma* sp. és *Salmonella* sp. rontják a keltethetőséget is (*Bogenfürst*, 1992). A keltetőben gondos tojáskezelés szükséges. A keltetésre alkalmas tojások tisztítása és fertőtlenítése után nem elhanyagolható kérdés a tárolás időtartama, a tárolási hőmérséklet és páratartalom, a tárolás során történő előmelegítés szerepe (*Bogenfürst*, 1989; *Fasenko et al.*, 1992; *Bakst*, 1996; *Bakst-Akuffo*, 1999; *Fasenko et al.*, 2001; *Kuurman et al.*, 2002).

A terméketlen tojások magas aránya és az embrionális rendellenességek előfordulása az SPF tojásoknál több okból is adódhat. Sajnos nem áll rendelkezésünkre elegendő információ az állomány genetikai hátterével, tartástechnológiájával és takarmányozásával kapcsolatban, valamint az egyes tojók tojástermelésére vonatkozóan, hogy pontos következtetéseket vonjunk le kialakulásukról.

Általánosságban elmondható, hogy hústípusú vonalak esetében mind az embrionális, mind a genetikai problémák előfordulása jóval gyakoribb, mint tojótípus esetén; *Duber és munkatársai* (1973) megfigyelték, hogy a hústípusú fajtákban magasabb a kromoszóma- rendellenességek aránya (4,9%), mint a tojótípusú állományokban (2,8%).

Tartás, takarmányozás hibáira is oda kell figyelni. A tenyészállomány toxinoktól, fertőző anyagoktól mentes, optimális összetételű takarmányozása, megfelelő méretű és almozású tojófészkek kialakítása és a tojások naponta többszöri gyűjtése elengedhetetlen (*Bogenfürst-Ballay* 1990; *Bogenfürst*, 1992).

Fertőzések telepen, tárolásnál, keltetés során:

A mikrobiális fertőzések megváltoztatják a tojástartalom kémiai összetételét és akadályozzák a tápanyagok áramlását a fejlődő embrió irányába, így elsősorban a keltetés közepén és végén okoznak nagyarányú embriópusztulást és növelik az elhalt és befulladt tojások arányát (*Harry*, 1957, *North*, 1978).

Szállításkor a rázkódás megnövelheti az iker embriók előfordulását.

BWE, Pd kialakulása:

Savage et al. (1988) beszámoltak egy autoszómális recesszív letalitást okozó génről (blr), amelyet csirkeembriókban vizsgáltak. Ez a keltetés harmadik napja előtt jár embrióelhalással és jellegzetessége, hogy az embrió körül vérgyűrű látható, az érrendszer helyén pedig vérpettyek. Véleményük szerint ennek kiváltó tényezője egy génmutáció lehet.

Korábbi kutatások bizonyították, hogy pedigré keltetés során kiszűrhetők olyan családok, ill. egyedek, amelyek utódai magasabb arányban mutatják a korai embrióelhalást. Amennyiben ezek élő utódait ismételten megvizsgálták, ezek is örökölték ezt a hajlamot. Így annak ellenére, hogy a keltethetőség h^2 értéke kicsi, ha ezek az egyedek az állományban maradnak, az embrionális veszteségek aránya, valamint a tojáskiesés megnő és keltethetőség csökken.

- Javasolom az embrióelhalások további vizsgálatát SPF állományoktól származó tojásokon.
- Amennyiben pedigré keltetés során a korai embrióelhalás vizsgálatát, mint szelekciós szempontot figyelembe veszik, kiszűrhetővé válnak azok az egyedek, ill. családok,



amelyek magasabb arányban produkálnak rendellenes embriókat. Így javulhat a keltethetőség.

- Javaslom az embrionális rendellenességek vizsgálatát olyan „normál” állomány esetén, amelyet SPF állományok számára szokásosan kezelt takarmánnyal etetnek.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani konzulenseimnek, Dr. Kovács-Weber Máriának és Dr. Liptói Krisztinának, hogy lehetővé tették vizsgálataim elvégzését és segítettek az eredmények feldolgozásában.

Köszönöm a Ceva-Phylaxia Zrt.-nek hogy hozzájárultak az adatok gyűjtéséhez.

Köszönöm Katona Lajosnak a K+K Farm Kft tulajdonosának, hogy támogatott a vizsgálatok lebonyolításában.

A munkáinkat a Kutató Kari Kiválósági Támogatás - Research Centre of Excellence- 17586-4/2013/TUDPOL, az NTP-SZKOLL-12-P-0043 számú pályázat, illetve *TÁMOP-4.2.1.B-11/2/KMR-2011-0003* azonosító számú, „Az oktatás és kutatásszínvonalának emelése a Szent István Egyetemen” című pályázat támogatta."

Irodalomjegyzék

- Abbot, U.K., Yee, G.W.* (1975): Avian Genetics. In Handbook of Genetics. V.4. R.C.King, Ed. Plenum Publ. Corp. NY. 151-200.
- Bakst, M.R.* (1996): Impact of egg storage on early embryonic development in turkeys. Turkeys, December: 17-19.
- Bakst, M.R. és Akuffo, V.* (1999): Impact of egg storage on embryo development. Proc. of Int. Congress on Bird Reproduction, Tours: 125-131.
- Bogenfürst F.* (1986): A keltethetőség javításával összefüggő tényezők vizsgálata különös tekintettel a lúd fajra. Kandidátusi értekezés. Kaposvár.
- Bogenfürst F.* (1994): Keltetés, Gazda kistermelői Lap- és Könyvkiadó vállalt, Budapest
- Bogenfürst F.* (1989): Long term storage with periodical warming. Proc. of 8th Int. Symp. of Waterfowl. Budapest, 148-150.
- Bogenfürst, F.* (1992): Lúdtenyésztők kézikönyve. Új Nap Lap- és Könyvkiadó, Budapest.
- Bogenfürst, F., Ballay, E.* (1990): Effect of fusarium mycotoxins on reproduction of geese. Proc. of VIII. European Poultry Conference, Barcelona. 718-720.
- Coleman, M.A.* (1983): Extra 25 chicks per hen with "embryo watch". Boiler Industry, May: 32-34.
- Fasenko, G.M., Christensen, V.L., Wineland, M.J., Petite, J.N.* (2001): Examining the effects of prestorage incubation of turkey breeder eggs on embryonic development and hatchability of eggs stored for four to fourteen days. Poultry Sci. 80: 132-138.
- Fasenko, G.M., Robinson, F.E., Hardin, R.T.* (1992): Research note: Variability in preincubation embryonic development in domestic fowl. Poultry Sci. 71: 2129-2132.
- Fechheimer, N.S.* (1981): Origins of heteroploidy in chicken embryos. Poultry Sci. 60:1365-1371.
- Fechheimer, N.S., Jaap, R.G.* (1980): Origins of euploid chimerism in embryos of Gallus domesticus. Genetica 52/53:69-72.



- Foulkes, A.G.* (1990): The unincubated avian blastoderm; its characterization and an investigation of developmental quiescence. Ph.D. Dissertation. Dep. of Biology, Fac. of Science, Univ. of Southampton, UK.
- Hamburger, V., Hamilton, H.L.* (1951): A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. of Morphology* 8, 49-92.
- Harry, E.G.* (1957): Effect on embryonic and chick mortality of yolk contamination with bacteria from the hen. *Vet. Record* 69: 1433-1439.
- Krueger, K.K.* (1990): Fertility in female turkeys: How manage it? Page 205-212 in *Control of Fertility in Domestic Birds*. No. 54. Les Colloques de l'INRA, Nouzilly, France.
- Kuurman, W.W., Bailey, B.A., Koops, W.J. és Grossman, M.* (2002): Influence of storage days on the distribution for time of embryonic mortality during incubation. *Poultry Sci.* 81: 1-8.
- Liptói Krisztina* (2004): A korai embrióelhalás genetikai okainak vizsgálata lúdban, Doktori értekezés, Gödöllő
- Mong, S.J., Snyder, M.D., Fechheimer, N.S., Jaap, R.G.* (1974): The origin of triploidy in chick (*Gallus domesticus*) embryos. *Can. J. Genet. Cytol.* 16:317-322.
- North, M.O.* (1978): *Commercial chicken production manual*. 2ed. AVI Publication Co. Inc. Westport. Connecticut
- Perry, M.M.* (1987): Nuclear events from fertilization to the early cleavage stages in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *J. Anat.* 150: 99-109.
- Savage, T.F., DeFrank, M.P., Brean S.E.* (1988): Blood ring: An early embryonic lethal condition in chicken. *J. Hered.* 79(2): 124-128.
- Szalay, I., Hidas, A., Vas, E.* (1988): Rendellenes kariotípusú embriók vizsgálata pecsenyecsirke nagyszülő állományban. *Baromfitenyésztés és feldolgozás* 35:149-155.