دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

تاثیر موقعیت قرارگیری تخم‌مرغ‌ها در دوره انکوباسیون بر تلفات جنینی و حجم مایع آمنیوآلانتوئیک در مرغ‌های مادر تخم‌گذار جهت استفاده از آن‌ها در تکثیر ویروس

ایرج خلیلی[1] و رحیم قدیمی پور[2]

۱- کارشناس ارشد کنترل کیفی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج
۲- کارشناس ارشد کنترل کیفی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی شعبه جنوب‌غرب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، دانشجوی دکترای میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، (نویسنده مسوول: ghadimipoorrahim@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۵

چکیده

بالا رفتن سن گله مرغ مادر تخم‌گذار، باعث بروز بدفرمی‌های ظاهری متعددی در تخم‌مرغ‌ها می‌شود. حجیم و کروی شدن از جمله مواردی است که باعث قرار گرفتن تخم‌مرغ‌ها به اشتباه در حالت انتهای باریک رو به بالا (SEU)[1] در دستگاه جوجه‌کشی و تلقیح نامناسب ویروس در زمان کشت در داخل تخم‌مرغ می‌شود. این مطالعه به بررسی ارتباط موقعیت قرار گرفتن تخم‌مرغ‌ها با میزان تلفات جنین و حجم مایع آمنیوآلانتوئیک و نیز تکثیر ویروس آنفلوانزای طیور بعد از کشت در آن‌ها، می‌پردازد. ۱۲۰۰ عدد تخم‌مرغ یک روزه حاصل از گله تخم‌گذار با سن ۶۵- ۶۰ هفتگی انتخاب شدند. این تخم‌مرغ‌ها به سه گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول، دوره انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح ویروس را به حالت انتهای پهن رو به بالا (LEU)[2] سپری کردند. گروه دوم انکوباسیون قبل از تلقیح را به حالت SEU و انکوباسیون بعد از تلقیح را به حالت LEU طی نمودند. گروه سوم، دوره انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح را به حالت SEU سپری کردند. شرایط انکوباسیون قبل از تلقیح شامل دمای ۳۷/۶° C، رطوبت نسبی ۶۰ ٪ و توالی چرخش ۳۲ بار در شبانه روز و نیز انکوباسیون بعد از تلقیح با همان دما و رطوبت ولی بدون چرخش بود. در نهایت مایع آمنیوآلانتوئیک هر گروه جمع‌آوری شده و درصد تلفات جنین‌ها در هر گروه مشخص گردید. سپس تیترسنجی به روش آزمایش هماگلوتیناسیون (HA)[3] و آزمایش عفونت‌زایی در ۵۰ درصد تخم‌مرغ‌ها (EID_{50})[4] انجام گرفت. تمام آزمایش‌های فوق در سه دوره تکرار گردید. نتایج حاصله نشان داد درصد تلفات جنینی در گروه دوم نسبت به گروه اول ۳ به ۱ و در گروه سوم تلفات ۱۰۰٪ بود. میانگین حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از کل تخم‌مرغ‌های گروه اول نسبت به گروه دوم تقریبا ۸ به ۱ و در تمامی فاکتورهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده شد (P <۰/۰۵). نتایج بررسی حاضر بیانگر تاثیر مستقیم موقعیت قرارگیری تخم‌مرغ‌ها در طول انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح ویروس بر میزان تلفات جنینی و حجم و کیفیت مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از آن‌ها است.

واژه‌های کلیدی: تخم‌مرغ جنین‌دار، انکوباسیون، موقعیت تخم‌مرغ، مایع آمنیوآلانتوئیک

مقدمه

یکی از روش‌های مرسوم برای تکثیر ویروس‌ها استفاده از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار می‌باشد. در فرایند تکثیر ویروس کیفیت تخم‌مرغ‌ها به عنوان ماده خام اولیه برای کشت، حائز اهمیت فراوانی است. تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار حاصل از گله‌های جوان (۵۰–۳۵ هفتگی)، هم از نظر ویژگی‌های ظاهری مانند شکل بیضوی تخم‌مرغ، محکم و ضخیم بودن پوسته، عدم وجود رگه‌ها و ترک‌ها و هم از نظر ویژگی‌های داخلی مانند حجم کوچک اتاقک هوایی، قوام سفیده و زرده و کیفیت بالقوه نطفه، برای مراحل ذخیره‌سازی، انکوباسیون و هچ‌گذاری مناسب بوده و تلفات پایینی دارند (۱۰).

رعایت سطح بالایی از شرایط ایمنی زیستی در مزرعه‌های تولید تخم‌مرغ، بعضا موجب استفاده از گله‌های تخم‌گذار با سن بالا می‌گردد چرا که تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار مورد استفاده در پروسه تکثیر ویروس باید حداقل از نظر Mg (Mycoplasma gallisepticum) و Ms (Mycoplasma synoviae) منفی باشند. با بالا رفتن سن گله تخم‌گذار (۷۰–۶۰ هفتگی)، انواع ضعف‌ها و بدشکلی‌های ظاهری و داخلی در تخم‌مرغ پدیدار می‌شود که از جمله آن‌ها نازک و ضعیف شدن پوسته و افزایش میزان رگه‌ها و ترک‌ها در آن، افزایش وزن تخم‌مرغ و کروی شدن آن، افزایش حجم اتاقک هوایی و ضعیف و آسیب پذیر شدن بالقوه نطفه است. این چنین تخم‌مرغ‌هایی نسبت به شرایط ذخیره‌سازی و انکوباسیون حساس بوده و به دلیل تلفات بالا، بازده جوجه‌درآوری آن‌ها نیز به‌صورت قابل توجهی کاهش می‌یابد (۱۵،۱۳). همچنین در این تخم‌مرغ‌ها تشخیص انتهای پهن و باریک مشکل بوده که باعث چینش تخم‌مرغ‌ها به حالت انتهای باریک به طرف بالا (SEU) در انبار و یا درون دستگاه جوجه‌کشی و ورود آن‌ها در همان موقعیت به پروسه تکثیر ویروس می‌شود.

منابع مختلف پرورش طیور نیز اذعان داشته‌اند که تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار باید به حالت انتهای پهن به طرف بالا (LEU) در دستگاه‌های جوجه‌کشی قرار گیرند و در صورتی که تخم‌مرغ‌ها به‌خصوص در گله‌های پیر به صورت SEU چیده شوند، سر جنین در قسمت باریک قرار گرفته و در نتیجه جنین قادر به تنفس نبوده و در نهایت تلف خواهد شد، در برخی موارد مقدار این نوع تلفات به ۳/۵–۲ درصد نیز می‌رسد (۱۰،۹). همچنین نورث و بل (۷) دریافتند که ۴–۱ درصد از جنین‌های ۱۸روزه به نوعی دارای مشکل بد قرار گرفتن جنین در داخل تخم‌مرغ (Mp)[5] هستند که معمول‌ترین شکل آن، قرار گرفتن سر جنین در انتهای باریک تخم‌مرغ است که می‌تواند به علت بالا بودن سن گله مادر، برعکس قرار گرفتن

1- Small End Up
2- Large End Up
3- Hemagglutination
4- Egg Infective Dose 50
5- Malposition

تخم‌مرغ (SEU)، کمبود هوا، توالی ناکافی چرخش (در طول دوره جوجه‌کشی)، زاویه نادرست چرخش و چرخش کم در طول هفته اول انکوباسیون باشد. در تایید بخشی از یافته‌های ایشان، الیبول و بریک (۱) نیز عنوان نمودند که افزایش Mpهای جنین به‌خصوص وجود سر در انتهای باریک تخم‌مرغ می‌تواند به دلیل عدم وجود چرخش در طول هفته اول و دوم انکوباسیون باشد. همچنین این محققان در مطالعه دیگری (۳) دریافتند که تلفات تخم‌مرغ‌های جنین‌دار حاصل از گله‌های مسن (۶۱-۵۷ هفتگی) در طول دوران ستر و هچر به سه گروه تلفات اولیه (۷–۰ روزگی)، میانی (۱۷–۸ روزگی) و پایانی (۲۱–۱۸ روزگی) تقسیم می‌شود که علت اصلی تلفات پایانی، جنین‌هایی با سرهای دورتر از انتهای پهن و مخصوصا در انتهای باریک تخم‌مرغ است که چنین تخم‌مرغ‌هایی حساس به نقص در چرخش بوده و برای جبران این ضعف بایستی توالی چرخش را افزایش داد تا میزان جوجه‌درآوری آن‌ها افزایش یابد. ویلسون و همکاران (۱۷) نیز طی تحقیقی دریافتند که مهم‌ترین علت Mpهای مضر در تخم‌مرغ‌ها، قرار دادن آن‌ها به حالت SEU در ستر است. ایشان عنوان نمودند که این حالت در تخم بلدرچین ژاپنی می‌تواند سبب جوجه‌درآوری پایین (۸ درصد) شود.

همانگونه که اشاره شد استفاده از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار یکی از روش‌های رایج برای تکثیر ویروس‌ها به شمار می‌رود. روش تلقیح ویروس در بخش‌های مختلف جنین جوجه بسته به نوع ویروس متفاوت بوده و شامل تلقیح داخل حفره آمنیوتیک، داخل حفره آلانتوئیک، داخل کیسه زرده و تلقیح بر روی پرده کوریوآلانتوئیک جنین می‌باشد. برای تکثیر ویروس آنفلوانزا به منظور تولید واکسن، از تلقیح داخل حفره آلانتوئیک این ویروس استفاده می‌شود. با توجه به تاثیر شرایط انکوباسیون تخم‌مرغ‌ها از قبیل دما، رطوبت، توالی چرخش و نیز وضعیت قرارگیری آن‌ها بر تکثیر داخل آلانتوئیک ویروس آنفلوانزا و ناکافی بودن اطلاعات در دسترس برای روشن شدن ابعاد مختلف این فرایند، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر موقعیت قرارگیری تخم‌مرغ‌ها در طول انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح ویروس بر میزان تلفات جنین‌ها، حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از تخم‌مرغ‌ها (کمیت) و در نهایت بر تکثیر آمنیوآلانتوئیکی ویروس آنفلوانزای طیور در آن‌ها (کیفیت)، طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار

تعداد ۱۲۰۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار یک روزه سترون از نظر مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم (Mg) و مایکوپلاسما سینویه (Ms) و آنفلوانزای تیپ A از گله مرغ مادر تخم‌گذار تجاری سویه هایلاین با سن ۶۵–۶۰ هفتگی انتخاب گردید. تخم‌مرغ‌ها به‌وسیله گاز فرمالدهید حاصل از ترکیب ۴۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۷ درصد با ۲۰ گرم پرمنگنات پتاسیم برای هر متر مکعب، به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده (۴) و به سه گروه ۴۰۰ عددی به شرح ذیل تقسیم گردیدند:

گروه اول: به‌صورت LEU چیده شدند و بعد از تلقیح نیز به همان صورت باقی ماندند.

گروه دوم: به‌صورت SEU چیده شدند و بعد از تلقیح به حالت LEU تغییر یافتند.

گروه سوم: به‌صورت SEU چیده شدند و بعد از تلقیح نیز به همان صورت باقی ماندند.

انکوباسیون قبل از تلقیح

هر سه گروه هم‌زمان به داخل دستگاه جوجه‌کشی (Petersime مدل ۵۷۶) منتقل شدند. تخم‌مرغ‌ها به مدت ۱۰ روز در دمای C ۳۷/۶° و رطوبت نسبی ۶۰ ٪ و توالی چرخش ۳۲ بار در شبانه روز انکوبه شدند. دستگاه هر روز سه بار توسط اپراتور کنترل و تمامی آیتم‌ها ثبت شد. در پایان روز دهم انکوباسیون، تخم‌مرغ‌ها نوربینی[1] شده و بعد از آمارگیری و حذف کردن تخم‌مرغ‌های بی‌نطفه و جنین‌مرده هر گروه، مرز کیسه هوایی در محل روبروی جنین، به منظور مشخص کردن محل تلقیح ویروس، با مداد علامت زده شد (۸).

آماده‌سازی بذر ویروس

بذر اصلی[2] مورد استفاده، ویروس آنفلوانزای سویه H9N2 بود. برای تهیه بذر کاری[3] از بذر اصلی، ابتدا این بذر به‌صورت داخل آلانتوئیک در تخم‌مرغ‌های جنین‌دار ۱۱ روزه عاری از پاتوژن‌های خاص (SPF)[4] تلقیح گردید. پس از انکوباسیون ۷۲ ساعته تخم‌مرغ‌های تلقیح‌شده در دمای C ۳۷/۶°، مایع آمنیوآلانتوئیک آن‌ها استحصال شده و تیتر هماگلوتیناسیون (HA) این مایع در پلیت‌های ۹۶ خانه V شکل با گلبول قرمز ۱ درصد جوجه و تیتر عفونت‌زایی آن برای ۵۰ درصد تخم‌مرغ‌ها (EID_{50}) به روش رید و مانش (۱۲) سنجیده شده و در نهایت بذر کاری با $EID_{50} = 10^{9.8}$ /ml و $HA = 2^{10}$ آماده شد (۴).

تلقیح بذر ویروس در تخم‌مرغ‌ها و انکوباسیون بعد از تلقیح

در روز ۱۱ انکوباسیون گروه‌های سه‌گانه تخم‌مرغ‌های مورد آزمایش، بذر ویروس به داخل حفره آلانتوئیک همه گروه‌ها تلقیح گردید. محل تلقیح‌ها با Was-Par (۵۰ ٪ وازلین + ۵۰ ٪ پارافین) مسدود شد (۴). هر سه گروه به مدت ۷۲ ساعت در همان شرایط قبل از تلقیح ویروس ولی این بار بدون چرخش درون دستگاه قرار داده شدند. شرایط دستگاه جوجه‌کشی هر روز سه بار توسط اپراتور کنترل و تمامی آیتم‌ها ثبت شد. در هر کدام از گروه‌ها، تخم‌مرغ‌ها در هر ۲۴ ساعت یک‌بار نوربینی شدند. بعد از پایان ۷۲ ساعت، تخم‌مرغ‌ها جهت خون‌بندی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C قرار گرفتند، سپس تخم‌مرغ‌ها باز شده و مایع آمنیوآلانتوئیک تک تک آن‌هایی که قابلیت استحصال داشتند، به‌طور کامل جمع‌آوری شد و درصد تلفات تخم‌مرغ‌های هر گروه در طول پروسه، مشخص گردید. مقدار مایع استحصالی از هر تخم‌مرغ قابل استحصال در هر گروه و میانگین مایع استحصالی از کل تخم‌مرغ‌های هرگروه نیز محاسبه شد (۴). از مایع استحصال شده از هر گروه تست EID_{50} به روش رید و مانش و تست HA در پلیت‌های ۹۶ خانه V شکل انجام شد.

1- Candling 2- Master Seed 3- Work Seed 4- Specific Pathogen Free

تحلیل آماری

در بررسی حاضر، کلیه آزمایش‌ها در سه دوره تکرار گردید. نتایج حاصل از آزمایش‌ها به‌وسیله نسخه ۱۷ نرم‌افزار SPSS و روش آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

جدول ۱ میانگین نتایج حاصل از انجام سه دوره آزمایش بر روی تخم‌مرغ‌های گروه‌های سه‌گانه را نشان می‌دهد. همانطوری که مشاهده می‌شود در گروه‌های دوم و سوم درصد تخم‌مرغ‌های بی‌نطفه و جنین‌مرده در نوربینی قبل از تلقیح مشابه هم ولی بالاتر از گروه اول می‌باشد. در گروه اول میزان تلفات، یک چهارم کل تخم‌مرغ‌ها بوده ولی در گروه دوم این میزان به ۷۶ درصد رسید. بنابراین درصد کل تلفات گروه اول نسبت به گروه دوم، تقریبا ۱ به ۳ است. در گروه‌های دوم و سوم بیشترین میزان تلفات تخم‌مرغ‌ها به ترتیب با ۴۴ و ۵۰/۲۵ درصد در مرحله استحصال مایع آمنیوآلانتوئیک مشخص شد. در گروه سوم، کل تخم‌مرغ‌ها در مراحل مختلف پروسه حذف شده و تلفات نهایی این گروه به ۱۰۰ درصد رسید. همانطوری که در جدول ۱ نیز مشخص است در همه مراحل پروسه میزان تلفات گروه دوم و سوم بیشتر از گروه اول بود. تغییرات مشاهده شده از لحاظ آماری در هر سه گروه نسبت به هم معنی‌دار بوده ($P <$ ۰/۰۵) و کاملاً منطبق با نتایج اخذ شده توسط سایر محققان است (۱۰،۹).

جدول ۱- میانگین نتایج به دست آمده از انجام سه دوره آزمایش بر روی تخم‌مرغ‌های حاصل از گله مادر تخم‌گذار سویه هایلاین در سن ۶۵- ۶۰ هفتگی

Table 1.The average of the results of three replicates on eggs from *Hy-line* laying breeder flock at 60-65 weeks of age

شماره گروه	تعداد کل تخم مرغ‌ها	تعداد و درصد تلفات						تعداد و درصد کل تخم‌مرغ‌های استحصال شده	میانگین حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی		HA (2^X)	EID_{50} (10^X /ml)
		نوربینی قبل از تلقیح		نوربینی ۲۴ ساعت بعد از تلقیح	نوربینی ۴۸ ساعت بعد از تلقیح	حین استحصال مایع آمنیوآلانتوئیک	کل		از هر تخم مرغ قابل استحصال	از کل تخم مرغ‌ها		
		جنین‌مرده	بی‌نطفه									
گروه اول	۴۰۰	۵۲±۹^{a} ۱۳±۲/۲	۱۸± ۳^{a} ۴/۵±۰/۷	۲±۲/۶^{a} ۰/۵±۰/۶	۵±۲/۶^{a} ۱/۲۵±۰/۶	۲۲±۶/۲^{a} ۵/۵±۱/۵	۹۹±۱۲^{a} ۲۴/۷۵±۳	۳۰۱±۱۲^{a} ۷۵/۲۵ ±۳	۱۰/۱±۰/۲۵^{a}	۷/۶±۰/۱^{a}	۱۰^{a} X=	X=۹/۶^{a}
گروه دوم	۴۰۰	۵۹±۱۴^{ab} ۱۴/۷۵±۳/۵	۲۲±۴^{ab} ۵/۵±۱	۱۹±۴/۵^{b} ۴/۷۵±۱/۱	۲۸±۹/۱^{b} ۷±۲/۲	۱۷۶±۱۴/۵^{b} ۴۴± ۳/۶	۳۰۴±۱۸/۳^{b} ۷۶ ±۴/۵	۹۶±۱۸/۳^{b} ۲۴ ±۴/۵	۴±۰/۸۹^{b}	۰/۹±۰/۱^{b}	X=۸^{b}	X=۸/۹^{b}
گروه سوم	۴۰۰	۶۴±۸/۸^{b} ۱۶±۲/۲	۲۰±۵/۱^{b} ۵±۱/۲	۴۴±۷^{c} ۱۱±۱/۷	۷۱±۱۲/۱^{c} ۱۷/۷۵±۳	۲۰۱±۲۷/۷^{c} ۵۰/۲۵ ±۶/۹	۴۰۰±۰^{c} ۱۰۰±۰	۰±۰^{c} ۰±۰	–	–	–	–

گروه اول: تخم‌مرغ‌هایی که انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح را به حالت LEU سپری کردند.

گروه دوم: تخم‌مرغ‌هایی که انکوباسیون قبل از تلقیح را به حالت SEU و انکوباسیون بعد از تلقیح را به حالت LEU سپری کردند.

گروه سوم: تخم‌مرغ‌هایی که انکوباسیون قبل و بعد از تلقیح را به حالت SEU سپری کردند.

a, b, c: در هر ستون تفاوت حروف نشانگر معنی‌داری ($P<$۰/۰۵) می‌باشد.

همچنین در جدول ۱ میانگین حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از هر تخم‌مرغ در هر گروه و تیتر ویروس استحصالی از هر گروه نیز مقایسه شده است. همانطوری که مشاهده می‌شود در گروه اول میانگین حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی حاوی ویروس از هر تخم‌مرغ قابل استحصال ۲/۵ برابر گروه دوم می‌باشد. همچنین میانگین حجم مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از کل تخم‌مرغ‌های گروه اول نسبت به گروه دوم تقریبا ۸ به ۱ است. از گروه سوم مایعی اخذ نشد. از نظر تیتر ویروس نیز مایع استحصالی از تخم‌مرغ‌های گروه دوم تیتر پایین‌تری را نسبت به گروه اول نشان داد. بنابراین مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی از تخم‌مرغ‌های گروه اول نسبت به گروه دوم هم از نظر کمی (دارا بودن حجم بیشتر) و هم از نظر کیفی (دارا بودن تیتر ویروسی بالاتر) به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بهتر بوده و تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P <$ ۰/۰۵).

بر اساس یافته‌های محققان تقریبا در همه گونه‌های پرندگان، در طبیعت، تخم با زاویه معینی در لانه قرار می‌گیرد که انتهای باریک آن رو به پایین باشد (۱۱). در طول جوجه‌کشی مصنوعی نیز قرار گرفتن تخم‌ها به‌صورت LEU بر رشد جنین پرندگان تاثیرگذاشته و درصد جوجه‌درآوری را افزایش می‌دهد. کان- مینگ و همکاران (۵) گزارش کردند که رعایت موقعیت تخم به حالت LEU، کلید بهبود میزان جوجه‌درآوری در پرندگان است. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نیز نشان داد قرار گرفتن تخم‌مرغ‌ها به حالت LEU در طول دوره جوجه‌کشی (قبل و بعد از تلقیح ویروس) باعث کاهش میزان تلفات جنینی و استحصال حجم بیشتری از مایع آمنیوآلانتوئیک می‌شود.

بر اساس مطالعات مورائس و همکاران (۶) انکوباسیون تخم بلدرچین ژاپنی[1] به حالت SEU، به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای باعث از دست دادن وزن جنین، کاهش میزان جوجه‌درآوری و افزایش میزان تلفات جنینی می‌شود. بنابراین برای جوجه‌کشی موفق بهتر است تخم‌ها به صورت LEU قرار گیرند. ویلسون و همکاران (۱۷) نیز در تحقیق مشابهی مهم‌ترین علت Mpهای مضر در تخم‌ها را سترگذاری آن‌ها به حالت SEU عنوان کردند که می‌تواند باعث جوجه‌درآوری پایین به‌خصوص در تخم بلدرچین ژاپنی گردد. در مطالعه حاضر نیز تلفات جنین‌ها در تخم‌مرغ‌هایی که دوره قبل از تلقیح را به حالت SEU سپری کرده بودند به ۵۰/۲۵ درصد افزایش یافت.

الیبول و بریک (۳،۲) نیز طی مطالعه‌هایی گزارش کردند که تلفات جنینی تخم‌مرغ‌های حاصل از گله‌های مادر مسن (۶۱–۵۷ هفتگی) در طول دوره جوجه‌کشی به سه گروه تلفات اولیه، میانی و پایانی تقسیم می‌شود که علت اصلی تلفات پایانی، جنین‌هایی با سرهای دورتر از انتهای پهن و مخصوصا

1- Coturnix Japonica

در انتهای باریک تخم‌مرغ است. این مطالعه‌ها مشخص کرد که گله‌های پیر، تخم‌مرغ‌هایی با کیفیت پایین و حساس به شرایط انبارداری و جوجه‌کشی تولید می‌کنند. در مطالعه حاضر Mpهای جنین تخم‌مرغ‌ها بررسی نشد ولی اینکه تخم‌مرغ‌های حاصل از گله‌های مسن (۶۵-۶۰ هفتگی) به‌صورت بالقوه کم کیفیت و آسیب‌پذیر بوده و افزایش تلفات در طول انکوباسیون را به دنبال دارند، کاملا منطبق با نتایج بررسی‌های سایر محققان است.

نتایج حاصل بیانگر این است که تشخیص انتهای پهن و باریک درصد قابل‌توجهی از تخم‌مرغ‌های حاصل از گله‌های تخم‌گذار مسن مشکل بوده و موجب قرار گرفتن آنها به حالت SEU در دستگاه جوجه‌کشی و افزایش تلفات و کاهش حجم و کیفیت مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی می‌شود. البته کیفیت داخلی پایین این تخم‌مرغ‌ها و ضعیف و آسیب‌پذیر بودن بالقوه جنین‌ها، در حاد شدن این مشکل مزید بر علت است. بر اساس یافته‌های این مطالعه، به نظر می‌رسد با انجام نوربینی اول دوره و تشخیص صحیح انتهای پهن و باریک تخم‌مرغ‌ها و دقت در چینش آن‌ها، می‌توان درصد تلفات جنینی را در طول پروسه تا حدود زیادی کاهش داده و میزان مایع آمنیوآلانتوئیک استحصالی را بالا برد. ناگفته نماند به علت کیفیت پایین تخم‌مرغ‌های حاصل از گله‌های پیر، عواملی از قبیل شرایط انبار پیش از جوجه‌کشی (۱۱)، انبارداری طولانی مدت (۱۴) و موقعیت قرارگیری تخم‌مرغ‌ها در طول انبارداری (۱۶) در دسترسی به نتایج فوق تاثیرگذار است.

تشکر و قدردانی

از حمایت‌های مالی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی و سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی که انجام این پژوهش را میسر ساختند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین نویسندگان لازم می‌دانند از همکاری بی‌دریغ پرسنل بخش تامین تخم‌مرغ سپاس‌گزاری نمایند.

منابع

1. Elibol, O. and J. Brake. 2004. Identification of critical periods for turning broiler hatching eggs during incubation. British Poultry Science, 45(5): 631-637.
2. Elibol, O. and J. Brake, 2006. Effect of egg turning angle and frequency during incubation on hatchability and incidence of unhatched broiler embryos with head in the small end of the egg. Poultry Science, 85(8): 1433-1437.
3. Elibol, O. and J. Brake, 2008. Effect of egg position during three and fourteen days of storage and turning frequency during subsequent incubation on hatchability of broiler hatching eggs. Poultry Science, 87(6): 1237-1241.
4. FAO. Animal production and health paper 89 (by Dr. V. Palya Phylaxia Vet. Biol. Com. Budapest, Hungary). pp: 10-56.
5. Kun-Ming, M., M. Ayako, I. Atsuhi and Y. Norio. 2007. The asymmetry of avian egg-shape: an adaption for reproduction on dry land. Journal of Anatomy, 210(6): 741-748.
6. Moraes, T.G.V., J.M. Romao, R.S.C. Teixeira and W.M. Cardoso. 2008. Effects of egg position in artifificial incubation of Japanese quail eggs (*Coturnix Japonica*). Animal Reproduction, 5(1-2): 50-54.
7. North, M.O. and D.D. Bell, 1990. Commercial chicken production manual, 4th ed. (New York, NY, Van Nostrand Reinhold Press), pp: 42-49.
8. OIE (The World Organisation for Animal Health). 2011. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2.3.4. pp: 465-481. In: Avian Influenza, 6th ed. Office International des Epizooties, Paris, France.
9. Pashmi, M. and S. Moradi. 2010. Buildings, facilities and equipment for poultry farming. Agricultural, Research, Education and Extension Organization Press: 219-230 (In Persian).
10. Poorreza, J. and G. Sadeghi, 2008. Poultry management. Arkane Danesh Press: 101-121 (In Persian).
11. Proudfoot, F.G. 1967. Advance note on the hatchability of chicken eggs stored small end up. Canadian Journal of Animal Science, 47: 142-143.
12. Reed, L.J. and H. Muench. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Hygiene, 27(3): 493-497.
13. Saki, A.A., M. Haghi and E. Rahmatnejad. 2014. The effect of various levels of dietary protein and methionine on the laying hen's performance and egg characteristics in late laying cycle. Research on Animal Production, 5(10): 13-25.
14. Sally, E.G. 2002. A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 newcastle disease vaccine: 44-49.
15. Soroush, Z., S. Salari, M. Sari, J. Fayazi and S. Tabatabaii. 2015. Effects of different levels of zinc on performance, egg quality traits and some blood parameters of laying hens. Research on Animal Production, 6(11): 19-27.
16. Tiwari, A.K.R. and T. Maeda. 2005. Effects of egg storage position and injection of solutions in stored eggs on hatchability in chikens (Gallus domesticus): research note. The Journal of Poultry Science, 42(4): 356-362.
17. Wilson, H.R., S.L. Neuman, A.R. Eldred and F.B. Mather. 2003. Embryonic malpositions in broiler chickens and bobwhite quail. The Journal of Applied Poultry Research, 12: 14-23.

The Effect of Eggs Condition in Incubation Period on Embryos Deaths and Amnio-allantoic Fluid Volume in Laying Breeders to Use Them in Virus Replication

Iraj khalili[1] and Rahim Ghadimipour[2]

1- Masters Degree of Quality Control, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj
2- Masters Degree of Quality Control, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahwaz; Ph.D. Student of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahwaz (Ghadimipoorrahim@yahoo.com)
Received: June 22, 2015 Accepted: March 5, 2016

Abstract

The numerous apparent malformations of eggs from laying breeder flocks are affected by the increased age of the flocks. The bulking and spinning of eggs causes them to be placed in small end up (SEU) condition in the incubation period and eventually inoculation of the virus is done incorrectly. Present study was designed to investigate the effect of egg condition on embryos deaths, amnio-allantoic fluid volume, and the influenza virus replication rate. 1200 one-day-old embryonated chicken eggs from breeder flock at 60-65 weeks of age were divided in three groups. The first group underwent the incubation period before and after inoculation of the virus in large end up (LEU) condition. The second group spent the incubation period pre and post inoculation of the virus in SEU and LEU positions, respectively. The third group passed the incubation period before and after the inoculation in SEU condition. Prior to inoculation of the virus, all groups were incubated for 11 days at 37.6°C and 60% relative humidity (RH), and turned 32 times daily. After inoculation, the eggs were incubated for three days at the same conditions but without turning. Ultimately, in each group, the amnio-allantoic fluid was collected and the percentage of embryos deaths was determined. Titration assays were performed using hem agglutination (HA) and egg infective dose 50 (EID_{50}) tests. All experiments were performed in three replicates. The results showed that the percentage of embryos deaths was 3:1 in the second group in comparison to the first group. In the third group, casualties were 100%. Mean of extracted amnio-allantoic fluid volume from total eggs of first group in comparison to the second group was approximately 8:1. There were significant differences between the groups in all factors ($p<0.05$). Based on the current study findings, the condition of eggs during the incubation period before and after inoculation of the virus has a direct effect on embryos deaths, and the volume and quality of the amnio-allantoic fluid.

Keywords: Amnio-allantoic fluid, Egg condition, Embryonated chicken eggs, Incubation