

УДК: 636.5.082.474:637.4

Н.В. ШОМІНА, кандидат сільськогосподарських наук,
О.М. БАЙДЕВЛЯТОВА, молодший науковий співробітник,
 Державна дослідна станція птахівництва
 Національної академії аграрних наук України, с. Бірки. Харківська область
 E-mail: shomina_p@ukr.net

ВПЛИВ ТЕРМІНУ ЗБЕРІГАННЯ ЯЄЦЬ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН БЛАСТОДЕРМИ, ІНТЕНСИВНІСТЬ РОЗВИТКУ ЗАРОДКІВ ТА РЕЗУЛЬТАТИ ІНКУБАЦІЇ

Анотація. У статті проаналізовано зв'язок рівня загибелі бластодермальних клітин під час зберігання з показниками виводимості яєць. Простежено зміни інкубаційних показників яєць, інтенсивності розвитку зародків, тривалості вивідного періоду, енергії виведення молодняку залежно від терміну зберігання яєць. Як відомо, при знесенні яйця курячий ембріон представлений багатощаровою бластодермою. При зберіганні яєць відбувається зниження загальної кількості бластодермальних клітин, що в подальшому впливає на життєздатність ембріона, вивід та якість молодняку. Метою роботи було дослідити вплив терміну зберігання яєць на загибель бластодермальних клітин і встановити зв'язок між цим показником та результатами інкубації. Робота була проведена у Державній дослідній станції птахівництва НААН на інкубаційних яйцях курей породи червоний род-айленд. Дослідження життєздатності клітин бластодерми, вивчення інтенсивності розвитку ембріонів, тривалості вивідного періоду, енергії виведення молодняку було проведено у групах яєць з терміном зберігання 2 (контрольна група), 10, 14, 17 та 21 доба. Встановлено, що при збільшенні терміну зберігання яєць відбувається значне зменшення кількості життєздатних бластодермальних клітин (з $95,0 \pm 1,3\%$, у контрольній групі, до $60,0 \pm 2,8\%$ – у групі яєць після тритижневого зберігання), що негативно позначається на показниках виводимості яєць ($r=0,99$). Виводимість яєць у групі після тритижневого зберігання становила $57,0 \pm 3,1\%$, що на $28,1\%$ менше, ніж у контрольній. Збільшення терміну зберігання яєць прямо та опосередковано (через невідповідність стандартного режиму інкубування потребам слаборозвинутих зародків) впливає на інтенсивність розвитку ембріонів, тривалість вивідного періоду та енергію виведення молодняку, що негативно позначається на якості курчат.

Ключові слова: життєздатність бластодермальних клітин, інтенсивність розвитку зародків, тривалість вивідного періоду, енергія виведення молодняку, виводимість яєць



Після знесення інкубаційні яйця спочатку зберігають на фермі, потім перевозять у яйцесховище, де знову зберігають до закладання на інкубацію. Тривалість зберігання залежить від джерела отримання інкубаційних яєць, потужності інкубаторію та ринкового попиту на добовий молодняк. Зазвичай, у комерційних інкубаторіях для отримання високих показників виводу та якості молодняку закладання яєць на інкубацію проводять після 3-5 діб зберігання. Однак, трапляються ситуації, що вимагають збільшення терміну зберігання яєць як, наприклад, при накопичуванні яєць від працьківських та батьківських стад птиці. Період зберігання інкубаційних яєць у таких випадках часто триває більше двох тижнів. Вже давно відомо, що подовження терміну зберігання призводить до збільшення періоду їхньої інкубації, знижує виводимість яєць, якість добового молодняку, негативно впливає на його збереженість при вирощуванні та подальшу продуктивність. І хоча нега-



тивні наслідки тривалого зберігання інкубаційних яєць усім добре відомі, ще й досі повністю не зрозуміло чому вони виникають. На сьогоднішній день поява нових та удосконалення існуючих методів досліджень дозволяють досконаліше вивчати процеси, які відбуваються в яйці після знесення й до закладки на інкубацію і, навіть, спростувати деякі давно відомі та загальноприйняті факти. На наш погляд, загальна кількість життєздатних клітин бластодерми може бути використана як параметр оцінки життєздатності ембріона. Наявність інформації про кількість живих клітин зародкового диска перед закладанням яєць на інкубацію може дати можливість прогнозувати рівень виводу молодняку.

Оцінка якості яєць до інкубації дає змогу не тільки передбачити її результати, а ще й своєчасно отримати інформацію про зміни, що відбуваються в яйцях та прийнят певні заходи для покращення їх характеристик. Попередню оцінку якості інкубаційних яєць здійснюють за їх зовнішнім виглядом, при просвічуванні на овоскопі та шляхом розтину вибіркової проби. Слід зауважити, що кожна із зовнішніх характеристик яєць сама по собі мало та лише посередньо пов'язана з їх виводимістю. Тільки аналіз декількох ознак у комплексі дозволяє більш вірогідно оцінити біологічну повноцінність яєць.

Зазвичай, оцінка якості яєць при розтині обмежується вивченням характеристик шкаралупи, білка та жовт-

ка. Однак, сьогодні є методики, що дозволяють оцінити і стан клітин ембріона. Хоча ці методики і мають свої недоліки, вони краще за інші можуть розповісти про якість яєць, бо оцінюють його головний компонент – зародковий диск.

Існує декілька способів визначення життєздатних клітин зародкового диска: шляхом проведення імуногістологічного забарвлення бластодермальних клітин, проточної цитометрії, забарвлення ядер клітин спеціальними маркерами та ін. (*Bloom et al., 1998; Reijrink et al., 2008; Hamidu et al., 2010*). Ці методики складні у виконанні, потребують наявності спеціального обладнання та висококваліфікованих фахівців. У наших дослідженнях, оцінку зародкового диска проводили шляхом визначення відносної кількості цілих та пошкоджених клітин бластодерми.

Встановлено, що після знесення яйця кількість зародкових клітин знижується на 30%. Однак, це явище не є патологією, а являє собою процес нормального морфогенетичного розвитку зародка після відкладання яйця. Наприклад, при формуванні зони пеллюцида у ембріона зникає одна п'ята частина від усіх клітин. Звичайно, при зберіганні яєць відбувається загибель зародкових клітин, яка обумовлена як їх природним відмиранням, так і загибеллю під впливом зовнішніх чинників (*Arora et al., 1966; Reijrink, 2010; Addo et al., 2018; Hamidu et al., 2018*).



Смертність бластодермальних клітин під час зберігання може в подальшому впливати на життєздатність ембріона. Якщо період зберігання яєць тривалий, відсоток загиблих клітин буде значним, для їхнього видалення зародкам потрібно буде витратити багато енергії, в той час як її виробництво невелике, що може призвести до підвищення ембріональної смертності. Окрім цього, існує також поняття наявності необхідного мінімуму життєздатних клітин бластодерми на момент закладання яєць до інкубаційної шафи. За несприятливих умов або надто тривалого зберігання яєць кількості життєздатних клітин може бути недостатньо для відновлення розвитку ембріона (Rejrink et al., 2008; Yassin et al., 2009; Bakst et al., 2012). Отже, зміни у бластодермі протягом зберігання яєць можуть обумовлювати зниження виводу та якості молодняку.

Таким чином, **мета нашої роботи** полягала у вивченні впливу терміну зберігання яєць на рівень загибелі клітин бластодерми та встановленні зв'язку даного показника з виводимістю яєць й іншими інкубаційними показниками.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено на інкубаційних яйцях масою 55-60 г, отриманих від курей породи червоний род-айленд у віці 44-46 тижнів. Якість яєць відповідала вимогам чинного стандарту. Зберігання яєць проводили при температурі 11 °C та відносній вологості 80%. З метою вивчення впливу терміну зберігання яєць на рівень загибелі клітин бластодерми було проведено виділення бластодисків (n=10) та оцінка їх життєздатності в наступні терміни: на 2- (контрольна група), 10-, 14-, 17-, 21-у (дослідні гру-

пи) добу зберігання. Для визначення цілісності мембран бластодермальних клітин суспензію клітин змішували у співвідношенні 1:1 з розчином етідіум броміду (1-10 мкМ) на фосфатно-сольовому буфері (ФСБ) та під мікроскопом МЛ-3 оцінювали 200-300 клітин у кожному зразку. Використовували збуджуюче світло з довжиною хвилі 365 нм, люмінесценцію спостерігали в ділянці 500-700 нм. До пошкоджених відносили клітини із забарвленими ядрами. Цілі, непошкоджені клітини відносили до життєздатних (рис. 1).

Для визначення інкубаційних якостей яєць було проведено закладання їх на інкубацію на 2- (контрольна група), 10-, 14-, 17-, 21-у (дослідні групи) добу після зберігання. Всього було проінкубовано 1000 шт. яєць. Інкубацію проводили згідно до стандартних режимів (Бреславець та ін., 2018).

У процесі інкубації було проведено: прижиттєвий облік розвитку ембріонів шляхом просвічування яєць на овоскопі на 7, 11 та 18,5 добу інкубації, облік смертності зародків за періодами інкубації, визначення середньої години та енергії виведення молодняку. Для розрахунку середньої години виведення склали графік вибірки, за яким через рівні проміжки часу (через кожні 6 годин) виймали порожні шкаралупки та враховували їх кількість. Вибірку шкаралупок продовжували до кінця виведення усіх курчат у групі. Середню годину виведення молодняку вираховували за формулою:

$M = (\sum P \times a) / n$, де **M** – середня година виведення, годин;
P – тривалість інкубаційного періоду кожної вибірки, годин;
a – кількість курчат у даній вибірці, голів;
n – загальна кількість усіх курчат, голів.

Облік енергії виведення був оснований на спостереженні за характером виведення молодняку з наступним розрахунком за такою формулою:

$C = 100 / M$, де **M** – середня година виведення.

Після завершення інкубації проводили розтин відходів інкубації та виявляли причини загибелі ембріонів (Дядичкина и др. 2004). Дані піддавали статистичному аналізу мінливості за якісними ознаками із визначенням вірогідності різниці між вибірковими частками (Петухов и др., 1985, с. 150-153).

Облікові показники: кількість життєздатних бластодермальних клітин (%), ступінь розвитку ембріонів на 7, 11 та 18,5 добу інкубації (I, II, III категорії), смертність ембріонів за періодами інкубації (%), середня година виводу, енергія виведення молодняку.

Результати досліджень. Хімічні, колоїдальні та фізичні зміни, що відбуваються в яйці упродовж зберігання, впливають як на загальну якість вмісту яєць, так і на життєздатність бластодермальних клітин. Вивчення рівня загибелі клітин зародкового диска, свідчить не лише про стійке, а й досить значне підвищення цього показника при збільшенні терміну зберігання яєць. Так, через дві доби після знесення яйця спостерігали 95,0±1,3% життєздатних клітин, після 10 днів зберігання цей показник зменшився на 3,7% і становив 91,3±2,0%. З цього моменту, з 10- до 14-ї доби зберігання рівень життєздатних клітин бластодерми різко зменшився до 68,3±2,6% (P≤0,001), а після тринадцятиднів зберігання становив

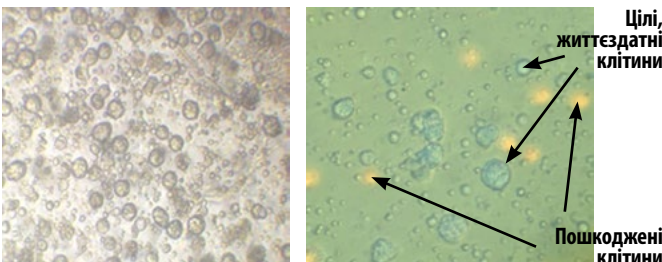


Рис.1. Бластодермальні клітини: до забарвлення і після забарвлення.

1. Кількість життєздатних клітин бластодерми та результати інкубації яєць курей з різним терміном передінкубаційного зберігання

Показник	Термін зберігання яєць, діб				
	2	10	14	17	21
Кількість життєздатних бластодермальних клітин, %	95,0±1,3	91,3±2,0	68,3±2,6***	64,7±2,7***	60,0±2,8***
Виводимість яєць, %	85,1±2,3	74,7±2,7**	63,2±3,0***	58,2±3,1***	57,0±3,1***
"Кров'яне кільце", %	3,5±1,2	6,5±1,6	11,8±2,0***	15,5±2,3***	17,4±2,4***
Завмерлі ембріони, %	2,1±0,9	4,0±1,2	4,5±1,3	4,9±1,3	3,4±1,2
"Задохлики", %	9,3±1,8	15,2±2,3*	20,5±2,6***	21,4±2,6***	22,2±2,6***
Середня година виводу молодняку, год.	488,9±0,7	490,2±0,7	493,8±0,8	500,0±0,9	514,1±1,1
Енергія виведення молодняку	0,21±0,0	0,20±0,0	0,20±0,0	0,20±0,0	0,19±0,0

Примітка: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$ (різниця вірогідна відносно контрольної групи).

60,0±2,8% ($P \leq 0,001$). Тобто, у своїх дослідах ми спостерігали зміну співвідношення між кількістю загиблених і життєздатних клітин бластодерми. Якщо на початку зберігання (2 доби) співвідношення "загиблі клітини до живих" становило 1:19, то в кінці періоду зберігання (21 доба) воно склало 1:1,5. Це можна пояснити тим, що при зберіганні яєць за температури 11 °C (нижче фізіологічного нуля), швидкість метаболізму та виробництва енергії в клітинах ембріона уповільнюються, то й процеси видалення загиблених клітин уповільнюються також. Тому, відмерлі клітини, які ми виявили у зародках у кінці періоду зберігання, насправді могли загинути невдовзі після відкладання яйця. Таке накопичення загиблених клітин протягом зберігання призводить до неспроможності зародка відновити свій розвиток після закладання яєць на інкубацію, що проявляється підвищенням загинувших ембріонів на ранніх стадіях (категорії відходів "хибно незапліднені яйця" та "кров'яне кільце").

Показники виводимості яєць у наших дослідах мали пряму залежність від кількості життєздатних клітин бластодиска (коефіцієнт кореляції 0,99). Значне погіршення виводимості яєць відбулося у дослідних групах після 14 діб зберігання, що співпадає зі значним знижен-

ням кількості життєздатних бластодермальних клітин (до 68,3±2,6%). Виводимість яєць у групах, які зберігали 14, 17 та 21 добу відповідно становила 63,2±3,0, 58,2±3,1 та 57,0±3,1%, що на 21,9-28,1 % нижче, ніж у контрольній групі. У той же час, співвідношення загиблених клітин бластодерми до живих у зазначених групах перед закладанням яєць на інкубацію становило відповідно 1:2,1, 1:1,8 та 1:1,5 (табл.1).

Зниження показників виводимості яєць відбувається за рахунок підвищення смертності зародків на різних етапах ембріогенезу. При збільшенні терміну зберігання яєць підвищується загинувших зародків у перший тиждень інкубації. Так, кількість такої категорії відходів як "кров'яне кільце" підвищилася з 3,5% (тут і далі кількість відходів інкубації вказана у відсотках від запліднених яєць), у контрольній групі, до 17,4 % – у дослідній (після тритижневого зберігання, $P \leq 0,001$). Тобто, тривале зберігання яєць призводить до порушень у формуванні або функціонуванні органів кровоносної системи на 3-5 добу інкубації, коли відбувається формування судинного поля жовткового мішка, поява формених елементів крові, розвиток судин і серця в тілі ембріона.

2. Кількість ембріонів різних категорій розвитку (%) залежно від терміну зберігання яєць

Доба інкубації	Категорія розвитку	Термін зберігання, діб				
		2	10	14	17	21
7	I	69,5	62,5	50,0	39,5	35,6
	II	30,5	32,0	44,2	41,8	39,0
	III	–	5,6	5,9	18,8	25,4
11	I	75,7	–	–	21,9	12,5
	II	24,3	–	–	55,1	32,5
	III	–	–	–	23,0	55,0
18,5	I	20,2	34,8	41,3	7,7	3,1
	II	69,3	55,6	41,2	55,7	38,8
	III	10,5	9,7	11,7	28,9	58,1
	IV	–	–	5,9	7,7	–



Подальший аналіз розподілу смертності зародків за періодами інкубації засвідчив, що різке зниження виводимості у групі яєць, котрі зберігали 14 діб відбулося також за рахунок підвищення такої категорії відходів як "задохлики". Це можна пояснити тим, що на розвитку зародків у цей період позначився кумулятивний ефект усіх несприятливих чинників, котрі діяли на ембріон під час зберігання та інкубації. Також у цей період багато ембріонів (4,5%) загинуло в середині ембріогенезу (категорія відходів "завмерлі ембріони"). Це пов'язано з переходом зародків на живлення білком, якість якого значно знизилася в процесі зберігання яєць, а також з нездатністю ембріонів перейти на внутрішньо кишковий спосіб живлення. Слід відзначити, що у дослідних групах яєць з терміном зберігання 17 та 21 доба переважали такі категорії відходів як "кров'яне кільце" та "задохлики", а кількість завмерлих ембріонів була нижчою, ніж в інших дослідних групах (див. табл.1). Такий розподіл ембріональної смертності можна пояснити тим, що високий рівень загибелі клітин бластодерми, який відбувся протягом 17- та 21-добового зберігання зумовив різке підвищення загибелі зародків на ранніх стадіях інкубації, і, ослаблені ембріони, які у групі з 14-добовим терміном зберігання склали категорію завмерлих, у даних групах загинули на стадії "кров'яне кільце". Смертність на пізніх стадіях також можна пояснити накопичувальним ефектом усіх несприятливих впливів, які мали місце при зберіганні та інкубації яєць.

Що стосується інтенсивності розвитку ембріонів, то встановлено значне відставання ембріонів у розвитку в групах яєць, які зберігали більше 14 діб. Таке відставання у розвитку спостерігали з початку і до кінця інкубаційного періоду (табл. 2). Так, на сьому добу інкубації у контрольній групі ембріонів III категорії розвитку

не було зовсім, у групах з 10- та 14-добовим періодом зберігання їх кількість була незначною (5,6 та 5,9% відповідно), а у групах з 17- та 21-добовим зберіганням їх кількість суттєво зросла.

Наприкінці інкубаційного періоду (на 19-у добу інкубації) у групах яєць, які зберігалися більше двох тижнів кількість ембріонів, що відставали в розвитку (III категорія) склали майже третину (28,9%) та більше половини (58,1%) відповідно у групі після 17-и та 21-ї діб зберігання від усієї кількості запліднених яєць (див. табл. 2)

Нерівномірність розвитку зародків призвела у дослідних групах до збільшення середньої години виводу та енергії виведення молодняку. Так, у групі яєць з тритижневим терміном передінкубаційного зберігання вивід був розтягнутий та тривав на добу довше порівняно з контрольною групою, що негативно відбилось і на якості молодняку. Відповідно, у дослідних групах з періодом зберігання більше двох тижнів знизилася й енергія виведення молодняку.

ВИСНОВКИ

1. При збільшенні терміну зберігання яєць відбувається значне зниження кількості життєздатних бластодермальних клітин (з $95,0 \pm 1,3\%$, у контрольній групі, до $60,0 \pm 2,8\%$ – у групі яєць після тритижневого зберігання), що негативно відбилось на показниках виводимості яєць і виводу молодняку.
2. Показники виводимості яєць мають зворотну залежність від терміну їх зберігання та пряму залежність від кількості життєздатних клітин бластодиска. Виводимість яєць у групі після тритижневого зберігання становила $57,0 \pm 3,1\%$, що на 28,1% менше, ніж у контрольній. Рівень інкубаційних показників корелює з рівнем загибелі клітин бластодерми, який за тритижневий

термін зберігання збільшився на 35,0% порівняно з контрольною групою.

3. Збільшення терміну зберігання яєць прямо та опосередковано (через невідповідність стандартного режиму інкубування потребам слаборозвинутих зародків) впливає на інтенсивність розвитку ембріонів, тривалість вивідного періоду та енергію виведення молодняка, що негативно позначається на якості курчат.
4. Враховуючи отримані дані, застосовану методику визначення морфологічної цілісності бластодермальних клітин як параметра оцінки життєздатності зародкового диска можна використовувати як при проведенні біологічного контролю якості яєць до інкубації, так і в наукових дослідженнях, спрямованих на оптимізацію тривалого зберігання яєць та зниження його негативних наслідків.

Перспективи подальших досліджень полягають у пошуку шляхів подолання негативних наслідків тривалого зберігання яєць, вивченні впливу процесів, які відбуваються в яйці при зберіганні на експресію генів. ■

Н.В. Шомина, О.Н. Байдевятова

Влияние срока хранения яиц на жизнеспособность клеток бластодермы, интенсивность развития зародышей и результаты инкубации

Аннотация. В статье проанализирована связь уровня гибели бластодермальных клеток во время хранения с показателями выводимости яиц. Прослежены изменения инкубационных показателей яиц, интенсивности развития зародышей, продолжительности выводного периода, энергии вывода молодняка в зависимости от срока хранения яиц. Как известно, при снесении яйца куриный эмбрион представлен многослойной бластодермой. При хранении яиц происходит снижение общего количества бластодермальных клеток, что в дальнейшем влияет на жизнеспособность эмбриона, вывод и качество молодняка. Целью работы было изучить влияние срока хранения яиц на гибель бластодермальных клеток и установить связь между этим показателем и результатами инкубации. Работа была проведена в Государственной опытной станции птицеводства НААН на инкубационных яйцах кур породы красный род-айленд. Изучение жизнеспособности клеток бластодермы, оценка интенсивности развития эмбрионов, продолжительности выводного периода, энергии вывода молодняка были проведены на группах яиц со сроком хранения 2 (контрольная группа), 10, 14, 17 и 21 день. Установлено, что

при увеличении срока хранения яиц происходит значительное уменьшение количества жизнеспособных бластодермальных клеток (с $95,0 \pm 1,3\%$, в контрольной группе, до $60,0 \pm 2,8\%$ – в группе яиц после трехнедельного хранения), что негативно сказывается на показателях выводимости яиц, вывода молодняка ($r = 0,99$). Выводимость яиц в группе после трехнедельного хранения составляла $57,0 \pm 3,1\%$, что на 28,1% меньше, чем в контрольной. Увеличение срока хранения яиц прямо и косвенно (из-за несоответствия стандартного режима инкубации потребностям слаборазвитых зародышей) влияет на интенсивность развития зародышей, продолжительность выводного периода и энергию вывода молодняка, что отрицательно сказывается на качестве цыплят.

Ключевые слова: жизнеспособность бластодермальных клеток, интенсивность развития зародышей, продолжительность выводного периода, энергия вывода молодняка, выводимость яиц

N. V. Shomina, Candidate of Agricultural Sciences, **O. M. Baidevlyatova**, Junior Researcher Fellow, State Research Poultry Station of NAAS, Birki, Kharkiv region
E-mail: shomina_n@ukr.net

Effect of egg storage period on blastoderm cell viability, embryonic development rate and incubation results

Abstract. The article analyzes the relationship between the level of blastoderm cells death during storage and the hatchability of eggs. Changes in the incubation parameters of eggs, the intensity of embryo development, the duration of the hatching period, the energy of chick's hatching depending on the period of egg storage were observed. It is known that when an egg is laid, the chicken embryo is represented by a multilayered blastoderm. During egg storage, the total number of blastoderm cells decreases, which further affects the viability of the embryo, the hatchability and chick quality. The aim of the study was to investigate the effect of the duration of egg storage period on blastoderm cells death and to establish the relationship between this indicator and the results of incubation. The work was carried out at State Poultry Research Station of NAAS on hatching eggs of red Rhode Island chickens. The study of the viability of blastoderm cells, the study of the intensity of embryo development, the duration of the hatching period, the energy of hatching were carried out in groups

of eggs with storage period of 2 (control group), 10, 14, 17 and 21 days. It was found that with increasing of egg storage duration, there were significant decrease in the number of viable blastoderm cells (from 95.0±1.3% in the control group to 60.0±2.8% in the group of eggs after three weeks of storage), which negatively affected hatchability of eggs ($r=0.99$). The egg hatchability in the group after three weeks of storage was 57.0±3.1%, which is 28.1% less than in the control. Long duration of the

egg storage period directly and indirectly (due to the inconsistency of the standard incubation regime with the needs of underdeveloped embryos) influenced the intensity of embryo development, duration of hatching period and hatching energy, which negatively affected the quality of chickens.

Key words: viability of blastoderm cells, intensity of embryo development, duration of hatching period, hatching energy, egg hatchability

Література

- Бреславец В.А., Шомина Н.В., Артеменко А.Б., Байдевятова О.Н. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы. Методическое пособие. Борки, 2018. 126 с.
- Дядичкина Л. Ф., Позднякова Н. С., Главатских О. В., Мелехина Т. А., Тищенко А. Н., Зайцева Н. П., Хребтова Е. А., Ребракова Т. М. Руководство по биологическому контролю при инкубации яиц сельскохозяйственной птицы. Методические рекомендации. Сергиев-Посад: ВНИТИП, 2004. С. 35-41.
- Петухов В. Л., Жигачев А. И., Назарова Г. А. Ветеринарная генетика с основами вариационной статистики. Москва: Агропромиздат, 1985. С. 50-153.
- Addo A., Hamidu J. A., Ansah A. Y., Adomako K. Impact of Egg Storage Duration and Temperature on Egg Quality, Fertility, Hatchability and Chick Quality in Naked Neck Chickens. *International Journal of Poultry Science*. 2018. Vol. 17 (4). P. 175-183. doi: 10.3923/ijps.2018.175.183.
- Arora K. L., Kosin I. L. Changes in the gross morphological appearance of chicken and turkey blastoderms during pre-incubation storage. *Poultry Science*. 1966. Vol. 45. P. 819-825.
- Bakst M. R., Akuffo V., Nicholson D., French N. Comparison of blastoderm traits from 2 lines of broilers before and after egg storage and incubation. *Poultry Science*. 2012. Vol. 91. P. 2645-2648. doi: 10.3382/ps.2011-02118
- Bloom S. E., Muscarella D. E., Lee M. Y., Rachlinski M. Cell death in the avian blastoderm: resistance to stress-induced apoptosis and expression of anti-apoptotic genes. *Cell Death Differentiation*. 1998. № 5. P. 529-538.
- Hamidu J. A., Adomako K., Adamu S., Ajaottor A. M., Amankwah G. J., Gyasi K. M., Shiburah E. M., Darko J. O., Konadu L. A. Impact of layer egg storage conditions on eggs and embryo quality indices prior to incubation. *Livestock Research for Rural Development*. 2018. Vol. 30 (11). <http://www.lrrd.org/lrrd30/11/cont3011.htm>.
- Hamidu J. A., Rieger A. M., Fasenko G. M., Barreda D. R. Dissection of chicken blastoderm for examination of apoptosis and necrosis by flow cytometry. *Poultry Science*. 2010. Vol. 89. P. 901-909. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.881.7889&rep=rep1&type=pdf>.
- Reijrink I. A. M., Meijerhof R., Kemp B., van den Brand H. Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryo development, hatchability, and chick quality. *Poultry Science*. 2010. Vol. 89. P.2470-2483. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20952711/>.
- Reijrink I.A.M., Meijerhof R., Kemp B., van den Brand H. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *World's Poultry Science Journal*. 2008. Vol. 64. P. 581-598.
- Yassin H., Velthuis A. G. J., Boerjan M., van Riel J. Field study on broilers first-week mortality. *Poultry Science*. 2009. Vol. 88. P. 798-804. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19276423/>.

References

- Breslavets, V.A., Shomina, N.V., Artemenko, A.B., & Baydevlyatova, O.N. (2018). Inkubatsiya yaits sel'skohozyaystvennoy ptitsyi. Metodicheskoe posobie. Borki. [Incubation of poultry eggs]. *Metodicheskoe posobie* [Toolkit]. Borki, 126. [in Russian].
- Dyadichkina, L.F., Pozdnyakova, N.S., Glavatskih, O.V., Melekhina, T.A., Tishenkov, A.N., Zaytseva, N.P., Hrebtova, E.A., & Rebrakova, T.M. (2004). Rukovodstvo po biologicheskomu kontrolyu pri inkubatsii yaits sel'skohozyaystvennoy ptitsyi [Guidelines for biological control during incubation of eggs of poultry]. Metodicheskie rekomendatsii [Guidelines]. Sergiev-Posad: VNIITIP, 35-41. [in Russian].
- Petuhov, V.L., Zhigachev, A.I., & Nazarova, G.A. (1985). Veterinarnaya genetika s osnovami variatsionnoy statistiki [Veterinary genetics with the basics of variation statistics]. Moskva: Agropromizdat, 1985, 150-153. [in Russian].
- Addo, A., Hamidu, J.A., Ansah, A.Y., & Adomako, K. (2018). Impact of Egg Storage Duration and Temperature on Egg Quality, Fertility, Hatchability and Chick Quality in Naked Neck Chickens. *International Journal of Poultry Science*. 17(4), 175-183. doi: 10.3923/ijps.2018.175.183. [in English].
- Arora, K. L., & Kosin, I. L. (1966). Changes in the gross morphological appearance of chicken and turkey blastoderms during pre-incubation storage. *Poultry Science*, 45, 819-825. [in English].
- Bakst, M.R., Akuffo, V., Nicholson D., & French, N. (2012). Comparison of blastoderm traits from 2 lines of broilers before and after egg storage and incubation. *Poultry Science*, 91, 2645-2648. doi: 10.3382/ps.2011-02118. [in English].
- Bloom, S. E., Muscarella, D. E., Lee, M. Y., & Rachlinski, M. (1998). Cell death in the avian blastoderm: resistance to stress-induced apoptosis and expression of anti-apoptotic genes. *Cell Death Differentiation*, 5, 529-538. [in English].
- Hamidu, J.A., Adomako, K., Adamu, S., Ajaottor, A.M., Amankwah, G.J., Gyasi, K.M., Shiburah, E.M., Darko, J.O. & Konadu L.A. (2018). Impact of layer egg storage conditions on eggs and embryo quality indices prior to incubation. *Livestock Research for Rural Development*, 30(11). <http://www.lrrd.org/lrrd30/11/cont3011.htm>. [in English].
- Hamidu, J. A., Rieger, A. M., Fasenko, G. M., & Barreda, D. R. (2010). Dissection of chicken blastoderm for examination of apoptosis and necrosis by flow cytometry. *Poultry Science*, 89, 901-909. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.881.7889&rep=rep1&type=pdf>. [in English].
- Reijrink, I. A. M., Meijerhof, R., Kemp B., & van den Brand H. (2010). Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryo development, hatchability, and chick quality. *Poultry Science*, 89, 2470-2483. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20952711/>. [in English].
- Reijrink, I. A. M., Meijerhof, R., Kemp, B., & van den Brand H. (2008). The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *World's Poultry Science Journal*, 64, 581-598. [in English].
- Yassin, H., Velthuis, A.G.J., Boerjan, M., & van Riel, J. (2009). Field study on broilers first-week mortality. *Poultry Science*, 88, 798-804. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19276423/>. [in English].