EESTI MAAÜLIKOOL

Veterinaarmeditsiini ja Loomakasvatuse instituut

Karmen Mikk

KANATIBUDE EMBRÜONAALNE ARENG

CHICKEN EMBRYO DEVELOPMENT

Bakalaureusetöö

Loomakasvatuse õppekava

Juhendaja: Tiia Ariko, MSc

Retsensent: Erkki Sild, MSc

Tartu 2023

SISUKORD

SISSEJUHATUS 5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE 6
1.1. MUNA EHITUS 6
1.2. HAUDEMUNADE SÄILITAMINE 8
1.2.1. Haudemunade säilitamine 8
1.2.2. Munade kvaliteet ja inkubeerimiseelne valgustamine 9
1.3. HAUDEMUNADE INKUBEERIMINE 10
1.3.1. Inkubaatori temperatuur 10
1.3.2. Inkubaatori niiskusesisaldus 11
1.3.3. Munade keeramine inkubeerimise ajal 12
1.4. TIBUDE EMBRÜONAALNE ARENG 14
1.4.1. Embrüovälised struktuurid 14
1.4.2. Esimene inkubeerimispäev 15
1.4.3. Teine inkubeerimispäev 16
1.4.4. Kolmas inkubeerimispäev 21
1.4.5. Neljas kuni 14. inkubeerimispäev 22
1.4.6. 14. inkubeerimispäev kuni koorumiseni 24
2. PRAKTILINE OSA 27
2.1. Eesmärk ja metoodika 27
2.2. Tulemused ja arutelu 30
2.2.1. Temperatuur ja niiskus inkubaatoris inkubeerimisel 30
2.2.2. Kanamunade kaalu vähenemine inkubeerimisel 31
2.2.3. Embrüonaalne areng 32
2.2.4. Koorumine 36
2.2.5. Surnud embrüote arengu analüüs 37
KOKKUVÕTE 39
KASUTATUD KIRJANDUS 40
LISAD 46
Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta 47

www.emu.ee
Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Karmen Mikk		Õppekava: Loomakasvatus	
Pealkiri: Tibude embrüonaalne areng			
Lehekülgi: 47	Jooniseid: 22	Tabeleid: 0	Lisasid: 1
Osakond / Õppetool: Veterinaarimeditsiini ja loomakasvatuse instituut ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: Loomakasvatus, B400, Loomade anatoomia ja morfoloogia, B340 Juhendaja(d): Tiia Ariko Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2024			

Tänapäeva ühiskonnas on muna ja kanaliha kasvava nõudlusse rahuldamiseks oluline aretustöö, et saada suuremat toodangut. Embrüonaalse arengu mõistmine aitab teha aretuskarja valikuid ja tuvastada embrüo väärarenguid. Bakalaureusetöö eesmärk oli kirjeldada kanatibude embrüonaalset arengut ja anda ülevaade embrüo arengust muna läbi valgustamisel. Kirjanduse ülevaates on kirjeldatud muna ehitust, säilitus–ja inkubeerimistingimusi ning tibude embrüonaalset arengut. Embrüonaalne areng on toodud välja päevade kaupa ja kirjeldab gastrulatsiooni, neurulatsiooni, organogeneesi ning teiste struktuuride teket. Autori läbi viidud inkubeerimisel jälgiti kolme erineva kanatõu (*buff* leghorn, *cream legbar* ja marans) embrüo arengut. Arengut jälgiti munade valgustamise teel. Kõige paremini oli areng tuvastatav *cream legbar'i* tõu munade puhul ja kõige vähem maransi tõu munade puhul. Maransi areng oli raskemini tuvastatav muna tumepruuni värvuse tõttu. Leghorni ja *cream legbar'i* munade puhul oli näha ka embrüo liikumist. Inkubeerimise järgselt koorumata jäänud munad avati ning analüüsiti embrüote hukkumise põhjuseid. Töö autor julgustab lindude hobipidajaid avama inkubeerimisel koorumata jäänud mune ja embrüote hukkumise põhjuseid välja selgitama. See aitaks valida aretuseks parimaid linde ja tõsta kooruvust.

Märksõnad: inkubeerimine, muna, koorumine, valgustamine, loode

www.emu.ee
Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Karmen Mikk		Curriculum: Animal Sciences	
Title: Chicken embryo development			
Pages: 47	Figures: 22	Tables: 0	Appendixes: 1
Department / Chair: The institute of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Field of research and (CERC S) code: Animal Husbandry, B400. Animal anatomy, animal morphology, B340. Supervisors: Tiia Ariko Place and date: Tartu 2024			

To meet the growing demand for eggs and chicken meat, effective breeding practices are essential to achieve higher production. Understanding embryonic development can aid in making informed breeding choices and identifying embryo malformations. The purpose of this bachelor's thesis is to describe embryonic development and provide an overview of chicken embryo development through egg candling. The first part of the thesis outlines the structure, storage, and incubation conditions of eggs, along with the embryonic development of chicks. Embryonic development is detailed day by day, describing the stages of gastrulation, neurulation, organogenesis, and other structural formations. The development of embryos from three different breeds (Buff Leghorn, Cream Legbar, and Marans) was monitored during incubation by egg candling. Development was most detectable in Cream Legbar eggs and least detectable in Marans eggs, primarily due to the dark brown color of Marans eggs. Embryo movement was visible in both Leghorn and Cream Legbar eggs. Unhatched eggs were opened and analyzed to determine possible causes of embryonic death. The author encourages aviculturists to open unhatched eggs after incubation to identify reasons for embryo mortality. This practice can help in selecting the best birds for breeding and increasing hatchability rates.

Keywords: incubating, egg, hatching, candling, fetus

SISSEJUHATUS

Kana ja muna on inimeste toidulaual tänu kanakasvatajatele ja aretajatele. Tänapäeval on turunõudlus kasvav ja selleks on oluline, et kanad toodaks palju mune või palju liha. Suure toodanguga lindude pidamine on ka keskkonnasõbralikumad, sest neil on parem söödaväärindus ja väiksem süsiniku jalajälg. Kanade suur kasvukiirus soodustab suuremat toodangut ja kindlustab ettevõtte kasumi. Suur kasvukiirus on saavutatav aretusega ja oluline on ka toota terveid ning heade omadustega järglaseid. Tibude embrüonaalse arengu teadmine aitab teha paremaid valikuid aretuses ja suurendada kooruvusprotsenti ning parendada kanade tervist. Embrüonaalse arengu teadmine tuleb kasuks väärarengute tuvastamisel. Väärarengu põhjuste leidmisel saavad kanakasvatajad teha ennetustööd probleemi vähendamiseks. Probleemi võivad vähendada geneetilise valiku tegemine või aretustava muutmine. Bakalaureusetöö eesmärgiks oli anda ülevaade kanatibude embrüonaalsest arengust ja tuua välja munade valgustamisel nähtav areng inkubeerides erinevat tõugu kanamune. Bakalaureusetöö kirjanduse ülevaate osa on koostatud teadusartiklite, internetiallikate ja raamatute põhjal, andes ülevaate muna ehitusest, säilitamis- ja inkubeerimisparameetritest ning tibude embrüonaalsest arengust päevade kaupa. Embrüonaalse arengu osas on kirjeldatud embrüoväliseid struktuure, gastrulatsiooni, neurulatsiooni ja organogeneesi ning teiste embrüo struktuuride teket. Praktilises osas inkubeeriti kodutalu kanakarja suurendamiseks 20 kanamuna ja tõugudeks olid *buff* leghorn, *cream legbar* ja marans. Iga tõu muna oli erinevat värvi ja neid valgustati ning pildistati iga päev samal ajal. Lisaks valgustamisele kaaluti igat muna ja lisati andmed tabelisse (Microsoft Excel). Hukkunud embrüotel määrati suremise aeg ja püüti leida hukkumise põhjuseid.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. MUNA EHITUS

Muna peamisteks osadeks on munavalge (64%), rebu (27 %) ja koor (9%) (Tikk jt. 2007).

Rebu koosneb vaheldumisi valgetest ja kollastest rebukihtidest, mida on kokku 12 (Tikk jt. 2007). Valge rebukiht on sama nagu kollane rebukiht, aga ilma pigmendita (Conrad, Warren, 1939). Rebukihte on kirjeldatud juba 1851. aastast ja on arvatud, et nende teke on seotud kana hommikuse toitainete vähesusega, sest nad ei söö öösiti (Conrad, Warren, 1939). Hilisemal uurimusel leiti, et rebukihte ei teki kui linnud on täisväärtuslikul söödal kogu päeva jooksul (Conrad, Warren, 1939).

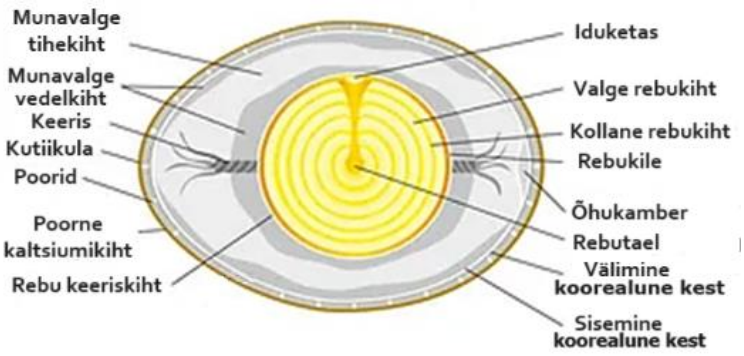
Embrüo areneb viljastatud muna idukettas, mis asub rebu pinnal ning on eristatav valge täpina. Viljastatud iduketast kutsutakse blastodermiks ja see erineb visuaalselt viljastamata idukettast ehk blastodiskist (joonis 1). Blastodermi puhul on näha keskel läbipaistvat ringi mida nimetatakse heleväljaks (*area pellucida*) ning selle ümber olevat läbipaistvat tsooni tumeväljaks (*area opaca*). Blastodiskil tume- ja heleväli puuduvad. (Rahman, 2014)

Munarebu keskel on rebutael (latebra), mis on ühendatud rebutaela kaela abil idukettaga (Tikk jt. 2007). Rebu on ümbritsetud rebukile ehk vitelliinikestaga (Tikk jt. 2007) ja rebu keeriskihiga (Rahman, 2014). Keerised on ühest otsast ühendatud keeriskihiga ja teisest otsast munakoorega (Rahman, 2014). Keeriste ülesandeks on hoida rebu muna keskel (Rahman, 2014).

Joonis 1. Viljastamata muna (vasakul) ja viljastatud muna (paremal). (Autori fotod)

Munavalge ehk albumiin asetseb ümber rebu ja selle ülesandeks on embrüot kaitsta (Rahman, 2014). Munavalge jaguneb kaheks vedelaks (välimine ja sisemine) ja üheks tihedaks kihiks (joonis 2) (Kusum jt., 2018). Kui munad on alla viie päeva vanad, moodustavad munavalge vedelkihid munavalgest 20–25% (Kusum jt., 2018), mis tähendab, et tihekiht moodustab munavalgest 75–80%.

Muna koor jaotub kutiikulaks, poorseks kaltsiumikihiks ja koorealusteks kiudkestadeks (Rahman, 2014). Koorealused kestad jagunevad sisemiseks ja välimiseks kestaks ning asetsevad koore ja munavalge vahel (joonis 2) (Rahman, 2014). Muna õhukamber asetseb tavaliselt muna tömbimas otsas sisemise ja välimise koorealuse kesta vahel (Rahman, 2014). Õhukamber suureneb muna säilitamisel (vt. 1.2.1) ja embrüo kasvades (Rahman, 2014). Poorne kaltsiumikiht koosneb kristalliseerunud kaltsiumist (Mortola, 2009) ning paikneb kutiikula ja koorealuste kiudkestade vahel (Rahman, 2014). Kutiikula asetseb munakoore peal (Mortola 2009). Kutiikula ning koorealuste kiudkestade ülesandeks on aidata reguleerida muna gaasivahetust keskkonnaga (Mortola 2009).



Joonis 2. Muna anatoomia. (depositphotos, 15.03.24)

Muna keemiline koostis ei ole püsiv. See on kanadel individuaalne ja sõltub nende söödaratsioonist. Keskmiselt sisaldab kanamuna 75% vett, 12,6% proteiini, 10,5% rasva ja 1% toortuhka. Munarebu sisaldab 48% vett, 17,5% valku, 32,5% rasva ja mineraale 2%. Süsivesikud koosnevad valguga seotud oligosahhariididest ja moodustavad munakollasest 0,7-1 %. Süsivesikutest 0,3% on vabad süsivesikud ja esinevad glükoosi kujul. Mineraalainetest on munakollases kõige rohkem fosforit ja sellest üle 61% säilitatakse munakollase fosfolipiidides. Munavalge sisaldab rohkem vett (88%) kui munarebu ja vähem proteiini (11%), rasva (0,2%) ja mineraale (0,8%). (Kusum jt., 2018)

1.2. HAUDEMUNADE SÄILITAMINE

1.2.1. Haudemunade säilitamine

Haudemunade õiged säilitustingimused on olulised tibude embrüonaalse arengu optimeerimiseks. Haudemunade säilitamine on vajalik selleks, et neid saaks koguda ja transportida. Väikese linnukarja puhul ei saa alati ühe päeva jooksul piisavat kogust haudemune, et inkubaatorit optimaalselt täita ja seetõttu on munade õige säilitamine oluline.

Kana haudemunade säilitustemperatuur sõltub säilitamise pikkusest (Tikk jt. 2007). Kolm päeva säilitatavaid mune tuleb hoida 18 °C ja üle kuue päeva 12 °C juures (Tikk jt. 2007). Munade pooridest aurustub vett ja selle tulemusel väheneb muna kaal, mistõttu soovitatakse mune säilitada võimalikult lühikest aega (Tikk jt. 2007). Koos vee aurustumisega suureneb muna õhukambri läbimõõt (Pennington jt. 1918).

Haudemunade säilitamine alla 21 °C aitab ära hoida bakterite kasvu ja embrüo arengut. On leitud, et haudemunade 14 päeva pikkune säilitamine aeglustab embrüo arengut kuus tundi võrrelduna kolm päeva säilitatud munadega. (Fasenko, 2007)

Nowaczewski jt. (2022) ja Melo jt. (2021) leidsid, et munade kaal vähenes seda rohkem, mida pikemaks kujunes säilitusaeg. Samuti tõusis pikema haudemunade säilitamise järgselt embrüonaalne suremus, mis oli kõrgem esimesel seitsmel inkubeerimispäeval ja peale 15. inkubeerimispäeva. Nowaczewski jt. (2022) uuringus oli munade kooruvus pärast kolm päeva kestnud haudemunade inkubeerimiseelset säilitamist 87% ja langes seitsme päeva

pikkuse säilitamise järgselt 83%-ni. Melo jt. (2021) katses oli kooruvus pärast haudemunade nelja päeva pikkust säilitamist 84% ja kaheksa päeva pikkuse inkubeerimiseelse säilitamise järel 82%. Mõlema uurimuse puhul langes munade kaal, tibude kooruvus ning tõusis embrüonaalne suremus vastavalt sellele, mida kauem mune säilitati.

1.2.2. Munade kvaliteet ja inkubeerimiseelne valgustamine

Avatud munade kvaliteeti hinnatakse Haughi ühikuga ja munavalge indeksiga. Haughi ühiku määramiseks kaalutakse muna mass ja mõõdetakse siledale pinnale lahti löödud muna tiheda munavalge kõrgus ning tehakse arvutused vastavalt valemile. Munavalge indeks on munavalge tihekihi kõrguse ja selle keskmise diameetri suhe. (Tikk jt. 2007)

Haudemunade kvaliteedi määramisel ei ole nende avamine võimalik ja seega tuleb anda hinnang munakoort läbi valgustades.

Munade valgustamist enne inkubeerimist kirjeldati juba 1918. aastal ja ka tänapäeval tehakse seda samamoodi. Munade valgustamine enne inkubeerimist aitab määrata haudemuna kvaliteeti ja tuvastada pragusid koores. Valgete munade valgustamisel paistab muna kollasena, pruun muna roosakana ja tumepruun muna peaaegu punasena. Õhukambri diameeter peaks kvaliteetsel munal olema alla 2 cm. Munakollase juures on valguse värvus tumedam ülejäänud munast.. Munavalge kvaliteeti saab valgustamisel kontrollida muna keerutades, mis paneb munarebu liikuma. Värskes munas liigub rebu vähe, kuid halva kvaliteediga munas liigub rebu palju rohkem. Munarebu ümbritsev vitelliinkest muutub ajaga nõrgemaks ja võib puruneda. Sellise muna sees võib valgustamisel näha olla munarebu, kuid munavalge võib olla hajusa kollase tooniga. (Pennington jt 1918)

1.3. HAUDEMUNADE INKUBEERIMINE

1.3.1. Inkubaatori temperatuur

Lindude loote areng toimub temperatuuridel 27–43 ℃, kuid optimaalne inkubeerimistemperatuur on kanamunade puhul 37–38 ℃ (Tikk jt. 2007).

Optimaalsest kõrgem või madalam inkubeerimistemperatuur mõjutavad embrüo arengut. Madalal temperatuuril võivad kooruda tibud hiljem ja kõrgel temperatuuril varem. Optimaalsest temperatuurist kõrvale kaldumisel võib embrüo surra ja võivad kooruda nõrgad või väärarenguga tibud. Temperatuuri varieeruvusel inkubaatoris võivad tibudel olla paranemata nabad ja pehme kõhupiirkond. (Archer, Cartwright 2017)

Kui temperatuur on alla 27 ℃ ei toimu embrüonaalset arengut ja kui temperatuur on alla –2 ℃ tekivad embrüole külmakahjustused. Pikaajaline optimaalsest külmem või kuumem temperatuur võivad embrüot kahjustada. Temperatuuri mõju embrüole oleneb embrüo vanusest. Tavaliselt kannatavad vanemad embrüod temperatuuri kõikumist paremini. Kõrged temperatuurid inkubeerimisel suurendavad embrüo väärarengute tekke võimalust. (Brinsea 2010)

Igapäevane munade lühiaegne jahutamine imiteerib kanade pesalt ära käimist ja nii mõnigi kanakasvataja kasutab seda praktikas. Tuntud kvaliteetsete inkubaatorite müüja Brinsea Products Ltd on lisanud oma inkubaatoritele automaatse munade jahutamise funktsiooni. Nad soovitavad mune jahutada 30 minutit päevas alates seitsmendast inkubeerimispäevast kuni kaks päeva enne koorumist (Brinsea, 10.05.2024).

Ruusi (1968) uuringus tuli välja, et mida pikemalt muna jahutada, seda väiksem on kooruvus ja tibude ellujäämisvõimalus. Jahutamine toimus toatemperatuuril 21,8–23 ℃ ja mune jahutati järjest 18, 24, 30 või 48 tundi. 18 tundi jahutatud munadest koorus 76,7–91,4% tibusid. Kui mune jahutati esimestel inkubeerimispäevadel oli munade koorumistulemused halvemad kui viimastel inkubeerimispäevadel. Kokkuvõttes oli 18 tunnine (keskmiselt 84,8%) ja 24 tunnine (keskmiselt 84,4%) munade jahutamine parema kooruvusprotsendiga kui kontrollrühmad (vastavalt 82,4% ja 82,8%).

Madala temperatuuri mõju koorumisajale uurisid ka Suárez jt., (1996). Munade jahutamine 24 ℃ juurde toimus valitud päevadel (8., 12., 14., 16., 18. inkubeerimispäeval). Mida kauem mune jahutati, seda pikem oli kooruvusaeg. Kaks päeva jahutatud munadel oli kontrollrühmast 47 tundi pikem inkubeerimisaeg ja 24 tundi jahutatud munadel 24 tundi pikem inkubeerimisaeg.

1.3.2. Inkubaatori niiskusesisaldus

Inkubaatoris peaks õhuniiskus olema inkubeerimise ajal 50-60% ja koorumise ajal tuleb õhuniiskus tõsta 70% juurde (Tikk jt. 2007).

Madal niiskusesisaldus inkubaatoris võib põhjustada liigset veekadu läbi munakoore ja sellega väheneb muna kaal. See tähendab, et muna õhukamber on suurem ja embrüo väiksem. Väikese embrüo puhul võivad tekkida probleemid koorumisel, kuna ta on liiga nõrk. Inkubaatori liiga kõrge niiskusesisalduse puhul ei kaota muna piisavalt kaalu. Sel juhul on õhukamber väiksem kui peaks olema ja embrüo on optimaalsest suurem. Liiga väikese õhukambri puhul võib embrüol tekkida hapnikupuudus enne koore augustamist. Kuna embrüo on väikse õhukambri puhul liiga suur, jääb muna talle kitsaks ja see raskendab tibu liikumist munas ning koorumist. Liiga kõrge niiskusesisaldus inkubaatoris on siiski suurem probleem, kui madal niiskus. (Brinsea 10.05.2024)

Brinsea inkubeerimiskäsiraamatus (14.05.2024) mainitakse, et muna võiks kaotada kaalu 13-15%. Tona jt. (2001) uurisid muna kaalu muutuse mõju kooruvusele ja leidsid, et kõige parem kooruvus oli nende munade seas mis kaotasid 18. päevaks kaalu umbes 11%. Muna vähese kaalukaotuse mõju kooruvusele oli suurem kui suure kaalukaotuse puhul.

Kolm päeva enne koorumist tõstetakse niiskusesisaldus inkubaatoris 70–80% juurde, sest niiskuse tõstmisega lähevad koorealused kestad pehmemaks ja see aitab tibul koorest läbi tulla. Seda kolme päeva pikkust perioodi enne koorumist kutsutakse ka karantiiniks (*lock-down*). Kui tibu on koore augustanud, võib inkubaatori avamine tibule kahju teha, sest niiskuse langedes võib tibu muna sisse ära kuivada. Liiga kõrge niiskuse puhul võib embrüo olla valmis (rebukott imendunud) aga ta ei kooru. (Daniels, 2022)

1.3.3. Munade keeramine inkubeerimise ajal

Kõige optimaalsemaks munade keeramiseks inkubeerimise ajal peetakse 45º iga tunni tagant (Tikk jt. 2007).

Tona jt. (2005) toovad välja, et New (1957) andmetel aitab munade keeramine ära hoida embrüo või loote osade kleepumist koore seina külge. Tona jt., (2005) uurimuses leiti, et munade keeramissagedus mõjutas embrüo kasvu ja munavalge kasutust. Keeramata munades oli embrüo kaal väiksem ja munavalge kaal suurem, mis näitab, et embrüo kasutas munavalget vähem kui nendes munades mida keerati. Munade keeramine mõjutas ka stressihormooni kortisooli taset, sest mõnes arengustaadiumis oli keeramata munades embrüo kortisooli tase kõrgem kui keeratud munades. Munade keeramise mõju sõltus inkubatsioonipäevast.

Da Silva Oliveira jt. (2020) võrdlesid kooruvust ja embrüonaalset suremust erinevate munade keeramiskordade arvuga päevas. Viljastatud munade kooruvus oli 24 korda päevas keeramisel 92%, mis oli 6% parem kui 12 korda päevas keeramisel ja 18% parem kui kolm korda päevas keeramisel. Kolm korda päevas keeramise puhul oli embrüonaalne suremus inkubeerimise esimeses pooles 11% kõrgem kui 24 korda keeramise korral. 24 korda päevas keeramine oli Da Silva Oliveira jt. (2020) hinnangul kõige optimaalsem keeramise arv, sest alla selle langes kooruvus suuresti.

Elibol ja Brake (2006) uurisid keeramisnurga mõju kooruvusele, embrüonaalsele suremusele ja väärasendite tekkele, kui mune keerati 24 korda päevas. Keeramisnurk ei mõjutanud kooruvust ega embrüonaalset surevust, kuid mõjutas väärasendite teket. 55–57 nädala vanuse kanakarja munade väärasendite teke (0,32% inkubeeritud munadest) oli umbes 5 korda väiksem 45º keeramisnurga puhul võrreldes 35º keeramisnurgaga (1,72%). Samuti leidsid Funk ja Forward (1953), et 20º keeramisnurga korral oli kooruvus keskmiselt 70% ja 45º nurga puhul 85%.

Suurem keeramisnurk ja keeramissagedus vähendavad embrüonaalset suremust ja annavad parema kooruvuse. Samas munade keeramine inkubeerimisel rohkem kui 24 korda päevas

ei ole andnud paremat tulemust ja seega ei ole vajalik keerata mune sellest sagedamini (Elibol, Brake 2003).

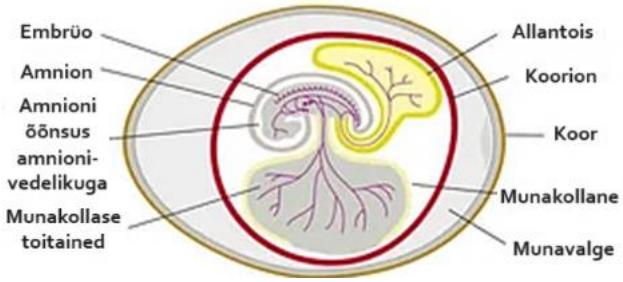
1.4. TIBUDE EMBRÜONAALNE ARENG

1.4.1. Embrüovälised struktuurid

Amnion ehk lootekott ümbritseb loodet (joonis 3). Amnioni seesmiseks kihiks on ektoderm ja välimiseks kihiks on veresoonteta (avaskulaarne) mesoderm (Baggott, 2009). Amnion sisaldab amnionivedelikku (De Sousa Lopes jt., 2022). Amnionivedelik sisaldab embrüo jääkaineid ning kaitseb embrüot dehüdratsiooni ja põrutuste eest (De Sousa Lopes jt., 2022). Rebukott ümbritseb rebu ja on ühenduses lootega (Bellairs, Osmond, 2014). Rebukoti ja loote vahelises sidemes asetsevad veresooned, mis transpordivad toitaineid embrüoni (Bellairs, Osmond, 2014). Rebu on embrüole glükoosi ehk energiaallikaks enne koorioallantoisi sideme loomist (Moran, 2007). Peale koorioallantoisi sideme loomist on embrüo energiaallikaks munavalge (Bellairs, Osmond, 2014).

Allantois on ühenduses embrüo soolega. Allantoisi katab seest endoderm ja väljast mesoderm. Koorion on embrüost eemal ja ühenduses allantoisiga. Allantoisi ülesandeks on ainevahetuse toetamine amnioni ja koorioni vahel. Koorioni (joonis 3) välimine kiht on ektodermist ning sisemine mesodermist (vt 3.2). (Baggott, 2009)

Koorioni ja allantoisi ühendumisel moodustub koorioallantois, mis reguleerib gaasivahetust läbi koore pooride embrüo ja keskkonna vahel (Bellairs, Osmond, 2014).



Joonis 3. Kana embrüo arenguga tekkivad koed, mis toetavad ainevahetust ja arengut. (depositphotos, 15.03.24)

1.4.2. Esimene inkubeerimispäev

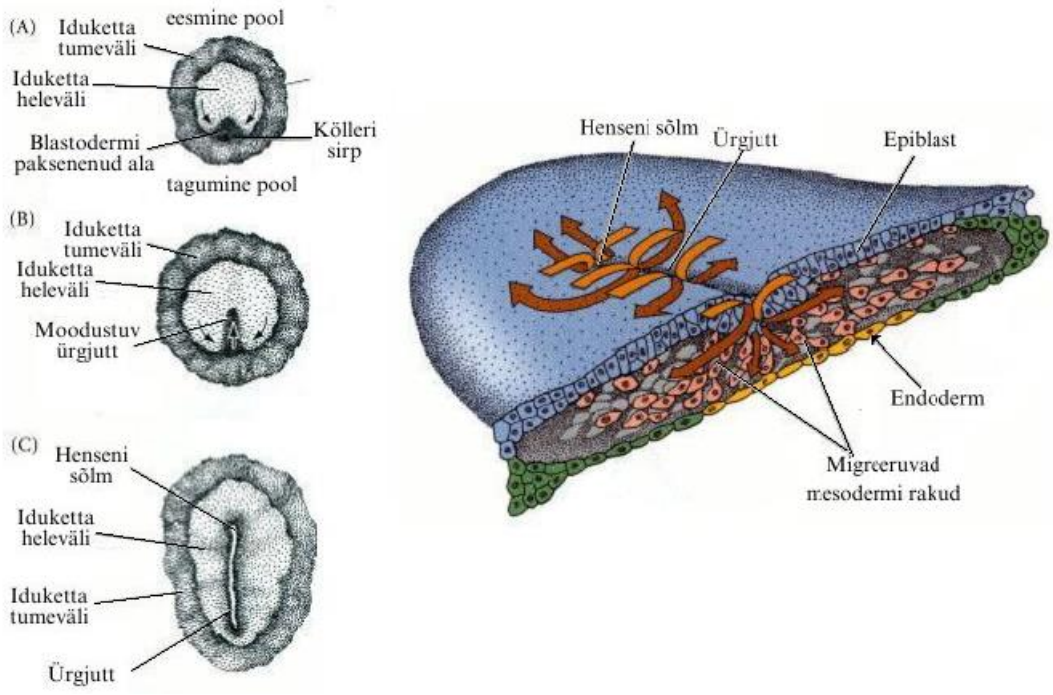
Embrüonaalne areng algab ürgjuti tekkega idukettas. Ürgjutt moodustub epiblastist ehk helevälja pinnal olevatest rakkudest. Ürgjutt saab alguse Kölleri sirbist (joonis 4), mis on epiblasti paksend helevälja tagumisel poolel. Ürgjuti tekkega saab määrata embrüole vasaku ja parema külje ning kesktasandi ja kaugmised struktuurid (Gilbert 2000).

Ürgjutt tekib 6.–7. tunnil inkubeerimise algusest ja on 12.–13. tunniks pikenenud iduketta keskosani olles Kölleri sirbi juurest laiali valgunud (Hamburger, Hamilton 1951).

Samal ajal moodustub rebukott tumeväljal ja tumevälja välimine äär kinnitub rebu vitelliinkesta külge inkubeerimise 12. tunniks (Bellairs, Osmond, 2014). Lõpp-pikkuse saavutab jutt 18.–19. tunniks, mil tulevad nähtavale ka ürgvagu ja Henseni sõlm (Hamburger, Hamilton 1951). Ürgvagu on süvend ürgjuti keskel, mille kaudu liiguvad rakud (Hussar jt. 2005). Henseni sõlm on rakkude paksend iduketta eesotsas ja selle keskel asub avaus mille kaudu liikuvad rakud moodustavad organismi kudesid ja organeid (Barresi, Gilbert 2020). Rakkudega toimuvaid protsesse, näiteks liikumine ja jagunemine kutsutakse embrüonaalse arengu alguses gastrulatsiooniks (Serrano, Weijer 2020). Gastrulatsiooni käigus tekivad kolm lootelehte milleks on ektoderm, mesoderm ja endoderm (joonis 4) (Serrano, Weijer 2020).

Lootelehed tekivad siis, kui epiblastist eralduvad rakud läbivad ürgvao ja Henseni sõlme. Mesoderm on kehas suurim rakkude populatsiooni tootja ja sellest kujunevad luukoed, lihased veresoonkond, kuse- ja suguelundid. (Brand-Saberi jt. 2008)

Mesodermist kujuneb 19.–22. inkubeerimistunnil paksenenud varras (seljakeelik), mis asub Henseni sõlmest eespool ja see on algus pea kujunemisele (joonis 4) (Hamburger, Hamilton 1951). Seljakeelik (joonis 4) ehk algne skelett saab alguse sabaotsast ja ulatub peani ning sellest arenevad kolju alge ja selgroog (Evangelou, Gaillard, 2008). Ektodermist kujuneb nahk ja närvisüsteem. Endodermist kujunevad seedesüsteem, kopsud ja kuseteede süsteem (Britannica).

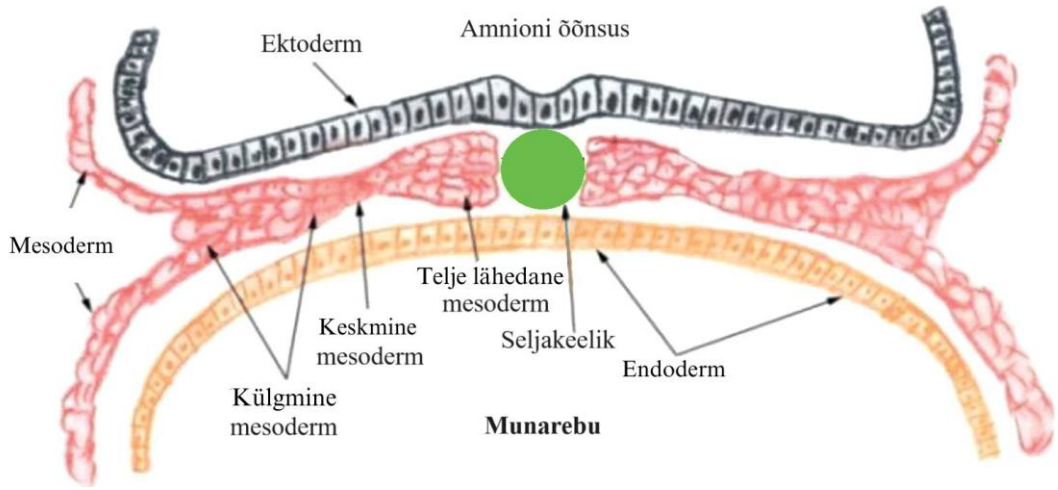


Joonis 4. Ürgjuti teke ja pikenemine. Vasakul iduketas, A. 3-5 tundi inkubeerimise algusest, B. 7-8 tundi inkubeerimise algusest ja 15-16 tundi inkubeerimise algusest. Paremal ristlõige idukettast, rakkude migreerumine läbi ürgjuti ja henseni sõlme. (Gilbert 2000)

1.4.3. Teine inkubeerimispäev

Teisel inkubeerimispäeval on gastrulatsioon lõppenud ja hakkavad välja kujunema organid, ehk algab organogenees (Hussar jt. 2005). Alates teisest päevast tuleb nähtavale esimene somiidipaar (Hamburger, Hamilton 1951).

Somiidid on segmentaalsed struktuurid, mis tekivad seljakeeliku külgedele ja need moodustuvad telje (seljakeeliku) lähedal asuva mesodermi kasvades. Telje lähedane mesoderm tekib mesodermi rakkude jagunemisel seljakeelikuks, telje lähedaseks (*paraxial*) mesodermiks (joonis 5), vahepealseks mesodermiks (*intermediate*) ja külgseks mesodermiks (*lateral plate*). (Brand-Saberi jt, 1996)



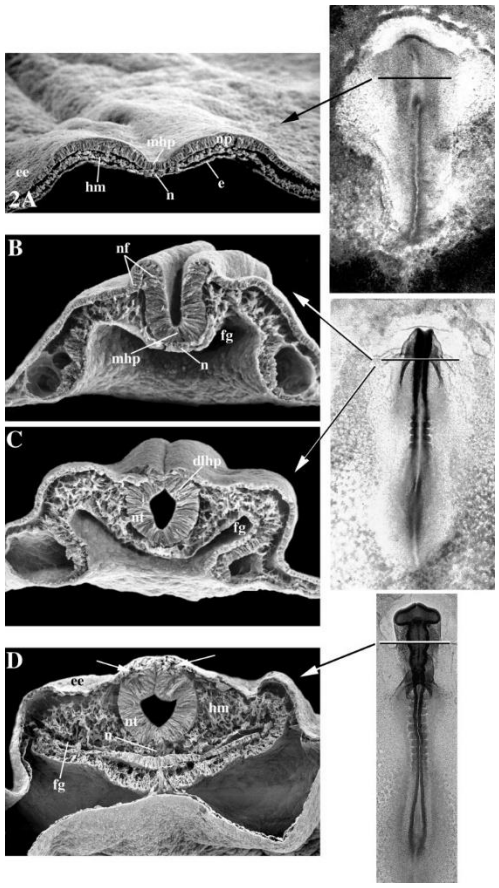
Joonis 5. Ristlõige kanaembrüost teisel arengupäeval. Mesodermi jaotus enne somiitide teket (Grasso 2015).

Koos somiitide tekkega ilmuvad nähtavale ka veresaared blastodermi tagumises osas (Hamburger, Hamilton 1951). Veresaarte tekkega algab veresoonkonna areng.

Veresaared moodustuvad mesodermi rakkudest, mis asetsevad munarebu ümber (Sadler, 2010). Veresooned tekivad veresaarte kujunemisel ja seda protsessi kutsutakse vaskulogeneesiks (Sadler, 2010). Veresaared ühinevad ja moodustavad hobuseraua kujulise, veresoonte sisepinda katva koega (endoteeliga) kaetud toru, mida ümbritsevad lihasraku algvormid (Sadler, 2010). Osa veresaartest moodustavad pikliku soonepaari- seljaaordi (Sadler, 2010). Seljaaordid on embrüo esimesed veresooned (Sato, 2012). Seljaaort on suurim veresoon mis ühendab südame vere väljavoolu teed rebu veresoontega (Sato, 2012).

Südame teke algab südameväljade tekkega, mis moodustuvad südame eellasrakkudest (*progenitor cells*) (Barresi, Gilbert 2020). Südameväljasid on kaks ja esimene ala paikneb teise ala ees (Barresi, Gilbert 2020). Esimesel alal toimub südamepaari algete kokku sulandumine (Barresi, Gilbert 2020) 29.-33. inkubeerimistunnil (Hamburger, Hamilton 1951). Südamepaari algete kokku sulandumisel moodustub esmane südametoru, mis tekib südameväljade keskossa (Barresi, Gilbert 2020). Südametoru arenguga tekivad parema ja vasaku vatsakese lihased (Barresi, Gilbert 2020). Teise ala eellasrakud liituvad südametoru rakkudega ja moodustavad südame kojad, parema vatsakese ning vere sisse- ja väljavoolu osa (Barresi, Gilbert 2020). 33.-38. tunnil on süda paindunud paremale ja teise arengupäeva lõpuks on süda S-kujuline (Hamburger, Hamilton 1951).

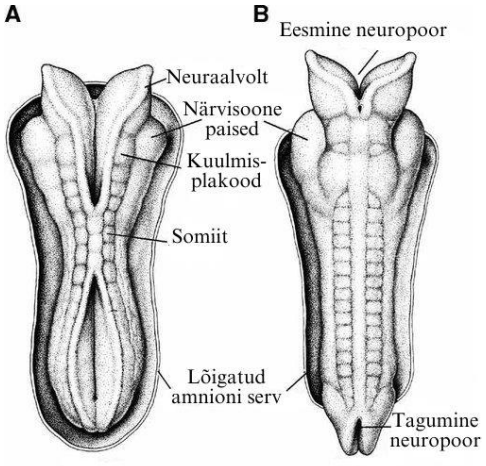
Närvisüsteemi areng algab samuti teisel inkubeerimispäeval (Hamburger, Hamilton 1951) ja seda protsessi nimetatakse neurulatsiooniks (Colas, Schoenwolf 2001). Neurulatsioon algab neuraalplaadi kujunemisega ja lõppeb neuraaltoru sulgumisega (Colas, Schoenwolf 2001). Neuraalplaat tekib ektodermi rakkude kogunemisel Henseni sõlme piirkonnas, mille tulemusel tekib labida-kujuline kilp (joonis 6) (Colas, Schoenwolf 2001).



Joonis 6. Ristlõige kanaembrüost närvisüsteemi kujunemise erinevatel staadiumitel. A. närviplaadi staadium, B. närvisüvendi staadium, C ja D närvisoone staadium. (Colas, Schoenwolf 2010)

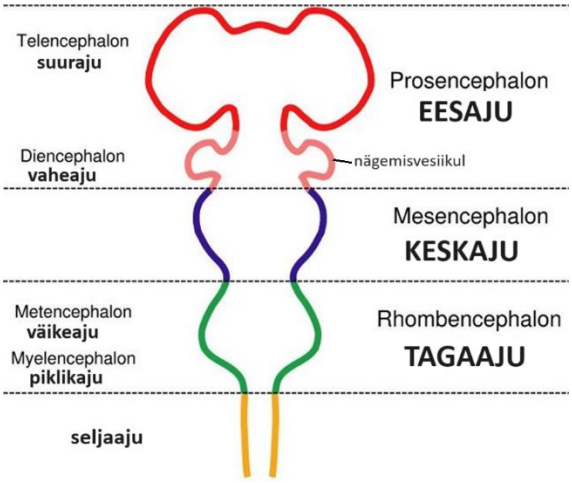
Neuraalplaadi äärmised servad liiguvad keskjoone suunas, et moodustada neuraaltoru ja selle tulemusel tekivad neuraalvoldid. Servad tõusevad veelgi ja moodustub neuraalvagu ning lõpuks servad ühinevad, moodustades neuraaltoru. Neuraaltoru tekkega ehk neuraalvao sulgemisega moodustuvad neuropoorid (joonis 7). Neuropoorid on neuraaltoru avatud osad ja paiknevad pea ning saba osas. (Sadler, 2005)

Pea neuropoor sulgub esimesena ja selle piirkonnas moodustub aju, seda protsessi kutsutakse esmaseks neurulatsiooniks. Saba neuropoori sulgumist neuraaltoruks kutsutakse teiseseks neurulatsiooniks. (Choi jt. 2021)



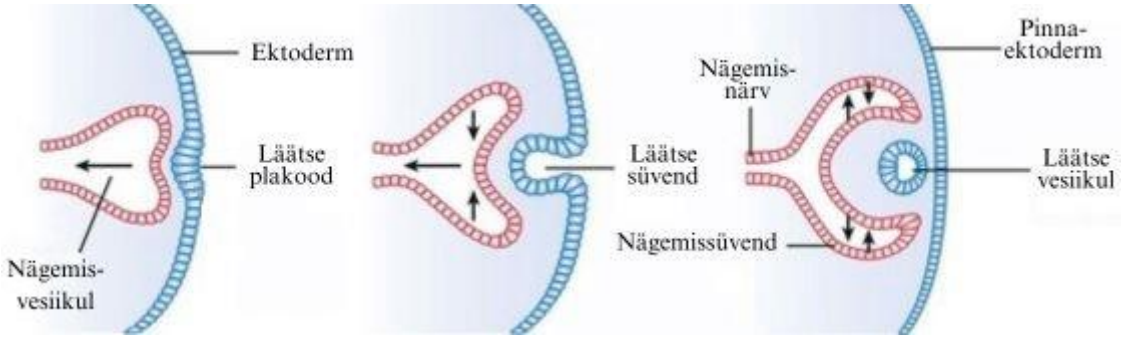
Joonis 7. Närvitoru sulgumine ja neuropooride teke kanaembrüo arengu teisel päeval. (Sadler, 2005)

Neurulatsiooni ajal tekkivate närvisoone paisetest (joonis 8) moodustuvad kolm aju vesiikulit (eesaju, keskaju, tagaaju) (Barresi, Gilbert 2020). Need vesiikulid moodustuvad 33.–38. tunnil ja hiljem jaguneb eesaju suurajuks (joonis 8) ning vaheajuks (Hamburger, Hamilton 1951).



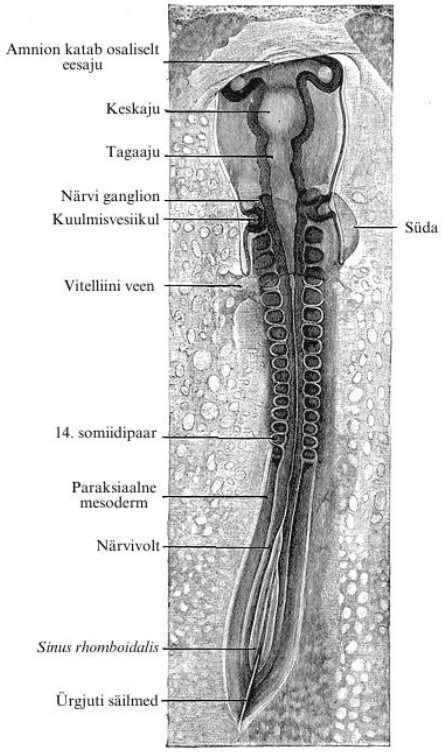
Joonis 8. Kanaembrüo närvisüsteemi arengu käigus tekkivad viis aju vesiikulit. (A. Goel 12.05.2024)

Esmase neurulatsiooni lõpus kujuneb eesaju piirkonnas nägemisvesiikul (Fuhrmann 2010) arengu 29.–33. tunnil (Hamburger, Hamilton 1951). Nägemisvesiikul puutub kokku ektodermiga (joonis 9) ja moodustub läätse ektoderm, millest kujuneb läätse plakood. Nägemisvesiikul ja läätse plakood sopistub sisse ning moodustub nägemissüvend. (Fuhrmann 2010). Nägemissüvend areneb edasi järgnevatel päevadel.



Joonis 9. Kanaembrüo silmaläätse kujunemine. (Ento Key 12.05.2024)

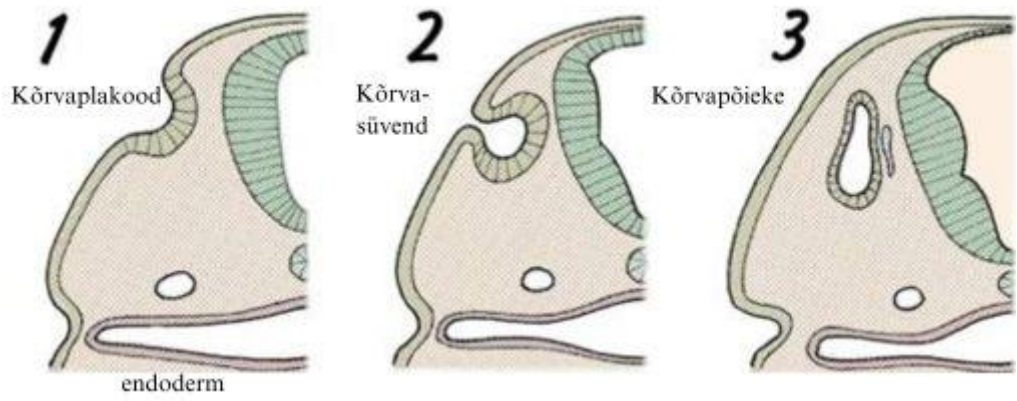
Ektodermi paksenemisel moodustub kõrvaplakood (*otic disc*) (Helwany, Tadi 2021). Kõrvaplakoodi servad voltuvad kokku ja moodustub kõrvasüvend (Helwany, Tadi 2021), mis on teise arengupäeva lõpuks sügav ja avatud ning eesaju piirkond on kaetud amnioniga (joonis 10) (Hamburger, Hamilton 1951). Ektodermi külge kinnitub torujas vars ja see märgib süvendi tekke asukoha piklikaju piirkonnas (Patten, 1920).



Joonis 10. Kanaembrüo detailne vaade arengu teisel päeval. (wikipedia)

1.4.4. Kolmas inkubeerimispäev

Kolmandal arengupäeval toimub embrüo pea keeramine, selgroo paindumine, kõrvasüvendi kitsenemine, silma ja amnioni areng. Kõrvasüvend (joonis 11) kitseneb 48.–52. tunnil ja pea on keeratud vasakule (Hamburger, Hamilton 1951). Nähtavale on ilmunud Rathke tasku ja kõrvasüvend on suletud 50.–53. tunniks (Hamburger, Hamilton 1951). Selle sulgumisega tekib kõrvapõieke millest hiljem moodustuvad sisekõrva osad (Bellairs, Osmond, 2005). Rathke tasku on süvend suulaes ja sellest moodustub osa ajuripatsist (Bellairs, Osmond, 2005). Nägemissüvend on tekkinud arengu 50.–55. tunniks (Hamburger, Hamilton 1951). Koos sellega kumerdub läätse plakood sissepoole ning moodustab läätse vesiikuli (joonis 9), mis vajub nahakoe alla, moodustades sarvkesta (Bellairs, Osmond, 2005). Läätse närv moodustub nägemisnärvipapillist selle kitsenemisel ja on ühenduses keskajuga (Adler, Canto-Soler 2007). Kolmanda päeva lõpuks peaks silm olema hallika tooniga (Hamburger, Hamilton 1951).



Joonis 11. Kanaembrüo kõrvapõiekese kujunemine. (Bionalogy 12.05.2024)

Amnion katab tervet loodet juba 65.–69. tunnil ja allantois muutub järgnevatel tundidel vesikulaarseks ehk moodustub kotike. Tiiva- ja jalapungad on blastodermilt tõstetud ning sabaalge on kurvatuuriga, nähtavale ilmub esimene märk ninasõõrmetest. Kolmanda päeva lõpuks peaks silm olema hallika tooniga. (Hamburger, Hamilton 1951)

Kolmandal päeval on näha välimise rakukihi voltumist, mis katab eesaju. Voldi sisemine osa muutub amnioniks, välimine aga koorioniks. Amnioni voldid tekivad embrüo eri osades ja ühinevad moodustades ovaalse avause. Avaus suletakse ümbritsevates rakkudes olevate aktiinikaablite kokkutõmbumisel. Peale sulgumist on amnioni sisemised ja välimised kihid kokku sulanud, kuid amnion on koorionist eraldatud. Amnion katab loodet kolmanda päeva lõpuks. Kolmandaks päevaks on allantois hakanud arenema jämesoolest väljasopistusena. (Bellairs, Osmond, 2014)

Süda on kolmandal päeval kahekambriline ja vereringlus toimub läbi südame. Vere liikumisel läbi südame paindub süda paremale ja toimub sõlmumine (*looping*). (Barresi, Gilbert 2020)

1.4.5. Neljas kuni 14. inkubeerimispäev

Neljandal arengupäeval on allantois tavaliselt kehast väljaspool õhupalli kujuline struktuur (Bellairs, Osmond, 2014). Tiiva ja jalapunga pikkus ületab laiuse ning välja on arenenud ka liigesed (Hamburger, Hamilton 1951). Päeva lõpuks on kolm varvast eristatavad ja silm on pigmenteerunud (Hamburger, Hamilton 1951).

Viiendal arengupäeval on jäsemed pikenenud ja nähtavale ilmunud ka neljas varvas. Teine tiiva jaotis (sõrm, *digit*) on pikem kui esimene ja kolmas varvas on teistest pikem. Viienda arengupäeva lõpuks on märgata noka väljakasvu. (Hamburger, Hamilton 1951)

Kuuendal päeval on jäsemed liigestest kõverdatud ja munahammas on nähtavale ilmunud (Hamburger, Hamilton 1951). Munahamba teket ja olemust kirjeldas Yarrel juba 1829. aastal (George ja Clark 1961). Munahammas asetseb ülemise noka otsas ja selle ülesandeks on lõigata koorumise ajal läbi koorekestade (George ja Clark 1961). Munahammas võib kaduda juba teisel või kolmandal päeval pärast koorumist (Yarrell 1826 ref George ja Clark 1961). Naha eellasrakkude migreerumine erinevatest kohtadest põhjustab sulealgete moodustumist (Jiang jt., 2004) ja need esinevad kõigepealt selja piirkonnas (Hamburger, Hamilton 1951). Üks rida sulgi tekib iga 6-8 tunni järel ja suled võivad levida erinevas suunas (Jiang jt., 2004). Silmavalgele on tekkinud näsad (*scleral papillae*) (Hamburger, Hamilton 1951).

Alates seitsmendast päevast liituvad koorion ja amnion nende kokkupuute kohas ning moodustavad amniokoorioni sideme (Bellairs, Osmond, 2014). Allantois ühineb koorioni sisemise kihiga ja moodustub koorioallantois (Bellairs, Osmond, 2014). Seitsmendal päeval on näha sidet varvaste vahel ja kaheksandal päeval on varba osad eristatavad (Hamburger, Hamilton 1951). Silmavalgel asetsevad näsad moodustavad peaaegu ringi (Hamburger, Hamilton 1951).

Edasi tulevad sulealged nähtavale ka reite ja saba piirkonnas. Kaheksandaks päevaks paiknevad sulealged silmaümbruses, kõhujoone lähedal, rinnakul, õlavarrel, mõlemal pool naba ning kaetud on ka osa kaelast ja tiivast. Kaheksandal päeval hakkab kasvama kolmas silmalaug, mis kümnendal päeval katab silmavalge näsa. Samal ajal ulatub alumine silmalaug ka sarvkestani. (Hamburger, Hamilton 1951)

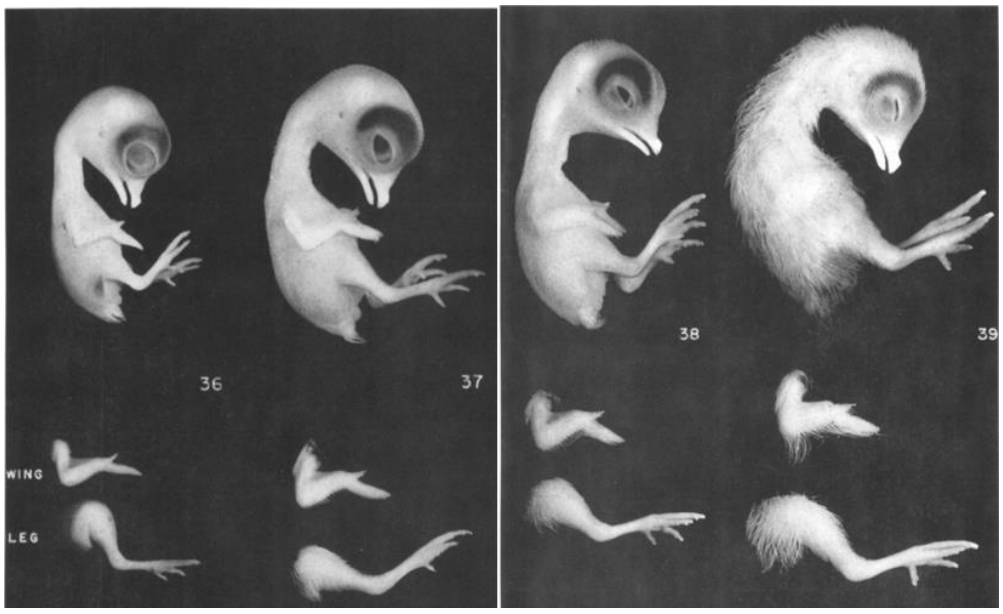
Kümnendal päeval (joonis 12) on näha areneva tibu harja ja küüniste algeid ning ninaava on kitsenenud. Tiivasuled on nähtavale ilmunud ja sulealged katavad säärt. (Hamburger, Hamilton 1951)

11. päeval on jalalabal ja varba osadel märgata soomuseid ning hari on kasvanud ja sakiline (Hamburger, Hamilton 1951). Kolmas silmalaug ulatub sarvkesta ülemise osani (Hamburger, Hamilton 1951). Ülemise ja alumise silmalaugude vahe on kitsenenud

(Hamburger, Hamilton 1951). Sulealged on kõrvaava ümber (Hamburger, Hamilton 1951) ja lokutid on nähtaval (Bellairs, Osmond, 2014).

12. päeval on ülemine silmalaug kaetud sulealgetega. 13. päevaks on silmalaugude vahe poolkuu kujuline ja suur osa jalast on kaetud soomustega. Ülemine ning alumine nokk on sarvestunud. (Hamburger, Hamilton 1951)

Pärast 13. päeva kasvavad suled kiirelt ja enamus embrüost on sulgedega kaetud mõni päev enne koorumist (Xie jt., 2020).



Joonis 12. Kanatibu embrüonaalne areng 10.-13. inkubeerimispäeval. (Hamburger, Hamilton 1951)

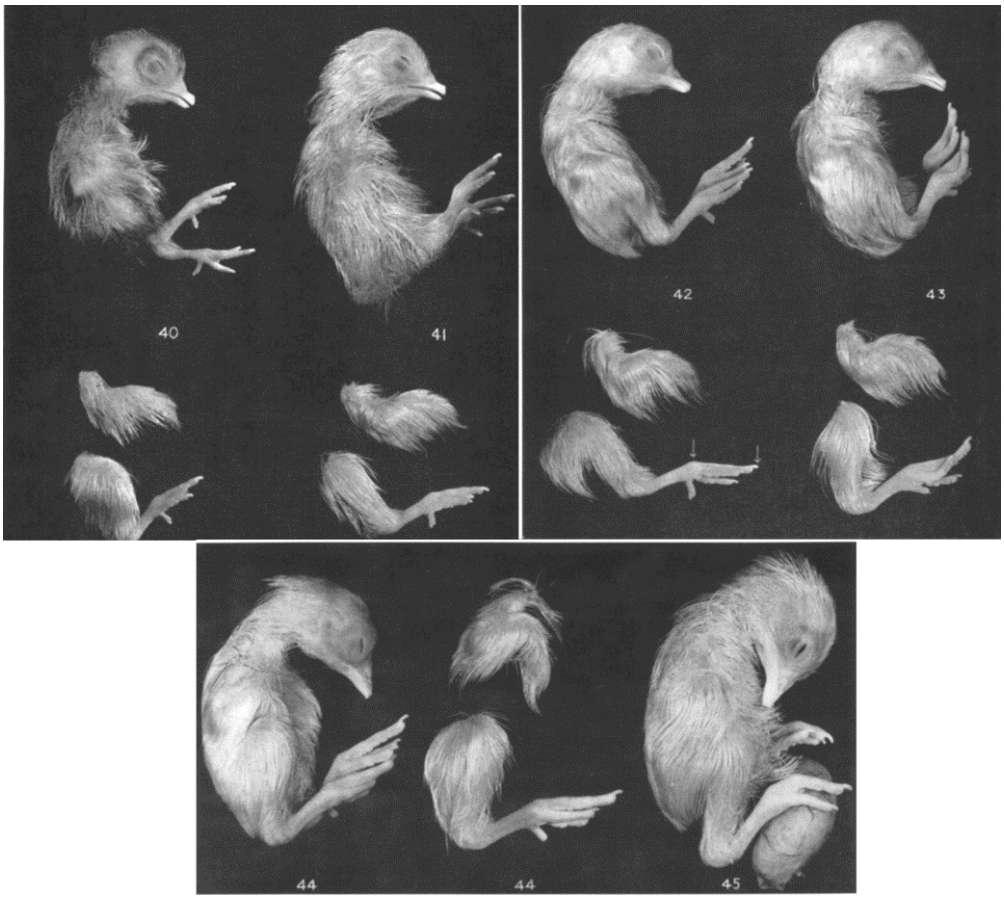
1.4.6. 14. inkubeerimispäev kuni koorumiseni

Inkubatsiooni viimase seitsme päeva jooksul liigub munavalge amnioniõõnde ja seguneb seal amnionirakkudest eritatud amnionivedelikuga. Embrüo neelab seejärel amnionivedelikku ja imendab selle peensoolde, suurendades keha glükogeeni varusid. (Bellairs, Osmond, 2014)

Pea liigub õhukoti augustamise suunas tiiva alla 14.–16. arengupäeval (“The Science of Incubation,” 12.05.2024). Alates 14. päevast ei toimu suuri muutuseid embrüo arengus

(joonis 13), embrüo jäsemed kasvavad ja jalaalune on kaetud papillidega (Hamburger, Hamilton 1951). 19.–20. päeval võib nokk olla lühem kui 18. päeval, sest nokka kattev rakukiht ehk periderm kaob ning nokk on tömp ja läikiv (Hamburger, Hamilton 1951).

Embrüo kasvades muutub lootekoti ja rebu vaheline side järjest kitsamaks ja 19. päevaks on enamus rebust imendunud kõhulihaste kontraktsioonide tõttu (Bellairs, Osmond, 2005). Enne koorumist on koorioallantoisis näha vähem verd (Hamburger, Hamilton 1951). Koorudes katkeb allantoisiga side ja embrüo jääkprodukti jäävad munakoore külge kokkutõmbunud membraanina (Patten, 1920). 20. inkubatsioonipäeval augustab tibu õhukoti (“The Science of Incubation,” 12.05.2024).



Joonis 13. Kanaembrüo arengustaadiumid 14. -20 arengupäeval. (Hamburger, Hamilton 1951)

Peale õhukoti augustamist kulub umbes üheksa tundi enne kui tibu augustab munakoore (Bellairs ja Osmond, 2005). Esimesest koore augustamisest võib minna neli tundi, et tibu

munast kooruks (Bellairs ja Osmond, 2005). 20.–21. arengupäeval peaks tibu olema koorunud (Hamburger, Hamilton 1951).

2. PRAKTILINE OSA

2.1. Eesmärk ja metoodika

Bakalaureusetöö praktilise osana viidi läbi erinevat tõugu kanadelt pärit munade inkubeerimine kodutalu kanakarja suurendamise eesmärgil. Kanaembrüote arengut jälgiti munade läbivalgustamise meetodil ja selgitati, kui hästi on võimalik näha embrüo arengut erinevat tõugu kanade erinevalt pigmenteerunud munades.

Haudemunad saadi kolmelt erinevalt kanakasvatajalt. *Cream legbar'i* (joonis 14) munad olid pärit Võrumaa kasvatajalt ja neid oli kümme. Maransi munad olid Tartumaa kasvatajalt ja neid oli viis. *Buff* leghorn munad olid Järvamaalt ja neid oli samuti viis. Maransi ja *cream legbar'i* munad transporditi autori poolt, *buff* leghorni munad saadeti pakiteenusega. Kõige kauem säilitati haudemune seitse päeva munemisest ja minimaalne säilitusaeg oli kolm päeva. Autori hoidis mune transpordi järgselt kaks päeva toatemperatuuril umbes 22 °C juures.

Joonis 14. Bakalaureusetöö praktilises osas kasutatud munad pärast transporti. Ülemises reas on 5 *buff* leghorni tõugu kanade muna, keskmises 5 maransi muna ja alumised 10 muna on *cream legbar* tõugu kanadelt. (Autori foto)

Praktilises töös kasutatud inkubaator 36-munale (Ouyolad, joonis 15) oli automaatse munade keeramisega ja temperatuuri hoidmisega. Sarnane inkubaator on kasutuses ka teistel hobi linnukasvatajatel, sest see on taskukohase hinnaga ja sobiva suurusega. Inkubaatori küttekeha asus ühe külje peal ja samal küljel olid ka kaks ventilaatorit. Munad asetsesid pulkade peal, mille abil neid keerati automaatselt umbes 180º iga kahe tunni järel kuni 18. inkubeerimispäevani. Vee lisamine niiskuse hoidmiseks toimus väljaspoolt inkubaatorit vooliku kaudu. Inkubaatori temperatuuri ning niiskust registreeriti iga päev kuni 18. päevani enne munade välja tõstmist nende valgustamiseks. Temperatuuri registreerimiseks oli üks hügro-termomeeter (Okystar, mõõtetäpsusega ±1,0°C ja ±5%) ning üks lisa digitaalne termomeeter (Kenner DT-310C). Inkubaatori termoandur ei olnud kahjuks usaldatav, hügromeeter oli usaldatav, kuid niiskust registreeriti Autori ostetud hügro-termomeetriga. Kahe termomeetri näidu põhjal arvutati keskmine temperatuur. Pärast 18. inkubeerimispäeva jälgiti, et temperatuur ja niiskus oleks optimaalne.

Joonis 15. Bakalaureusetöö praktilises osas kasutatud inkubaator 36-le kanamunale (Ouyolad). Paremal on näha voolikutega liideseid, veepudelite ühendamiseks. (autori foto).

Munade läbivalgustamine toimus enne inkubaatorisse asetamist ja üks kord päevas inkubeerimise algusest kuni 18. päevani. Mune valgustati iga päev samal ajal ja valgustamine toimus muna teravamast otsast. Esimeses inkubeerimise pooles kasutati valgustamiseks inkubaatoril olevat lampi ja hiljem telefoni taskulampi selle suurema valgustugevuse tõttu. Iga erineva tõu munade seast pildistati vähemalt ühte muna, valides

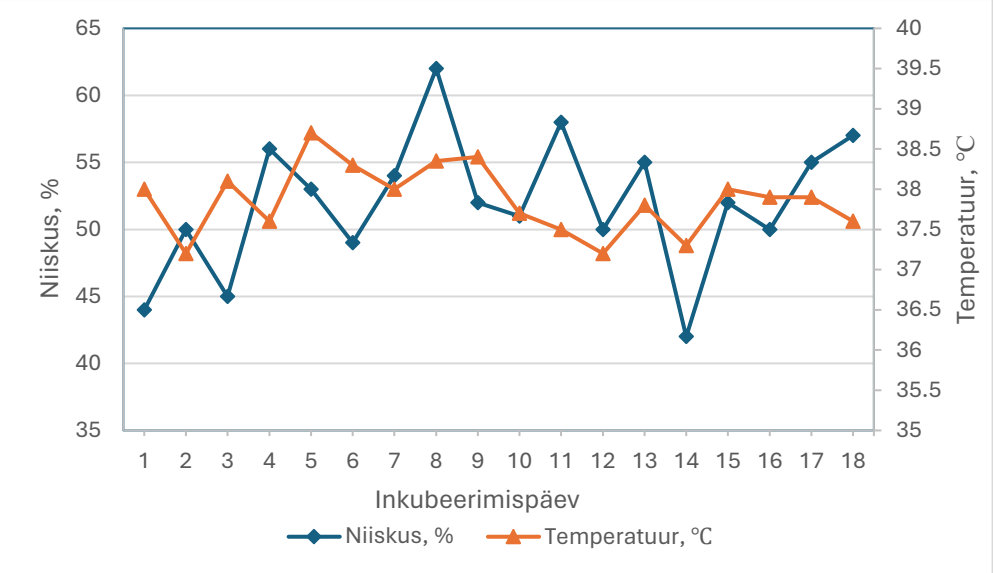
selle, millel oli kõige paremini arengut näha, mistõttu võivad fotodel (joonised 18-20) jäädvustatud munad erineda.

Munade kaalumine toimus üks kord päevas inkubeerimise algusest kuni 18. päevani köögikaaluga (Xavax Philina) ühe grammi täpsusega. Saadud andmetest vormistati Exceli tabel, mis võimaldas jälgida munade kaalukadu. Kaalu kaotamise protsent arvutati keskmiselt iga tõu kohta päevades.

2.2. Tulemused ja arutelu

2.2.1. Temperatuur ja niiskus inkubaatoris inkubeerimisel

Inkubaatori keskmine temperatuur oli 37,9 °C ja niiskus 52%. Koorumise ajal tõsteti niiskus 70%-ni. Inkubeerimise käigus kõikusid temperatuur ja niiskus suurel määral (joonis 16). Niiskus oli minimaalselt 42% ja maksimaalselt 62%. Niiskuse kõikumine tulenes sellest, et vesi aurustus kiirelt ja iga päev pidi juurde lisama. Inkubaatori põhjas ei olnud piisavalt sügavad vaod, kuhu vett lisada. Temperatuuri kõikumine keskmiselt 37,2–38,7 °C võis tuleneda igapäevasest inkubaatori avamisest. Kuna kuumaelement ja ventilaatorid paiknesid ainult ühel küljel, siis võisid tekkida külma- ja kuumasaared, mille korral mõni muna sai optimaalsest jahedamat või kuumemat temperatuuri. Selline kõikumine võis põhjustada embrüote kasvamist erinevas kiiruses ja pikendada koorumisvahemikku. Olenemata inkubaatori kvaliteedist, püüdis autor hoida optimaalseid inkubeerimistingimusi.

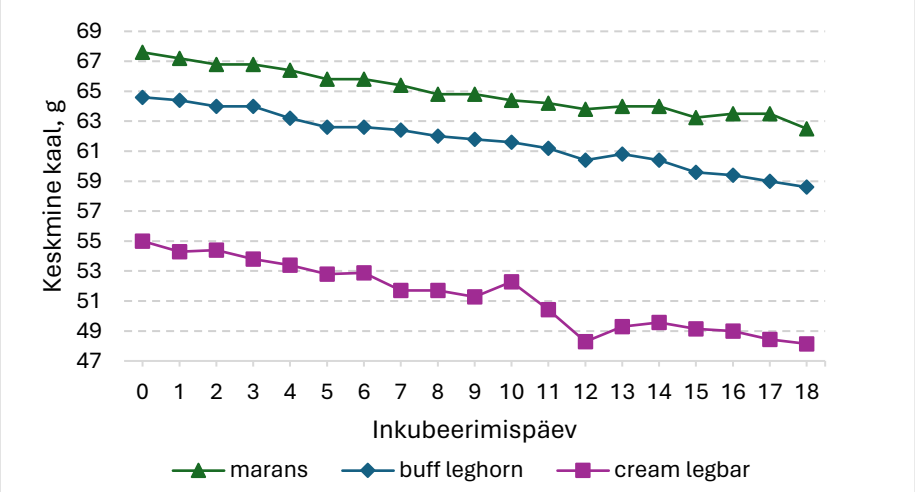


Joonis 16. Inkubeerimisparameetrid päeva kaupa enne munade välja võtmist kaalumiseks ja valgustamiseks kuni 18. inkubeerimispäevani.

2.2.2. Kanamunade kaalu vähenemine inkubeerimisel

Munade kaalumine aitab määrata kas niiskus inkubaatoris on liiga kõrge või madal. Peatükis 1.3.2 on kirjeldatud, kuidas inkubaatori kõrge niiskusega kaotab embrüo vähem kaalu ja sellest tingituna on ka õhukott väiksem ning embrüo suurem. Liiga suur embrüo ei ole tihtipeale võimeline kooruma, sest ei mahu ennast munas ringi keerama ja õhukamber võib väikseks jääda. Kui õhukamber on liiga väike, siis võib embrüol tekkida hapnikupuudus enne koore augustamist.

Cream legbar'i munade kaalu kaotamine oli varieeruv, kuid keskmiselt kaotasid seda tõugu kanade munad kaalu rohkem kui teiste tõugude munad. 18. inkubeerimispäeva lõpuks kaotasid *Cream legbar* tõugu kanade munad kaalu keskmiselt 6,8 g (12,5%) ja maransi tõugu kanade munad kõige vähem- keskmiselt 5,1 g (7,5%) (joonis 17). *Buff* leghorni munad kaotasid keskmiselt 6,0 g (9,3%) kaalu. Kuna munade kaalumine toimus köögikaaluga, mille täpsus oli 1 gramm, siis ei saa antud kaalumistulemusi pidada väga täpseteks.



Joonis 17. Keskmine muna kaal tõugude kaupa enne inkubeerimist kuni 18. inkubeerimispäevani.

Haudemuna koorepaksust saab mõõta suhtelise tihedusega (*specific gravity*). Suhtelise tiheduse mõõtmiseks uputatakse muna soolvette. Selleks valmistatakse erineva suhtelise

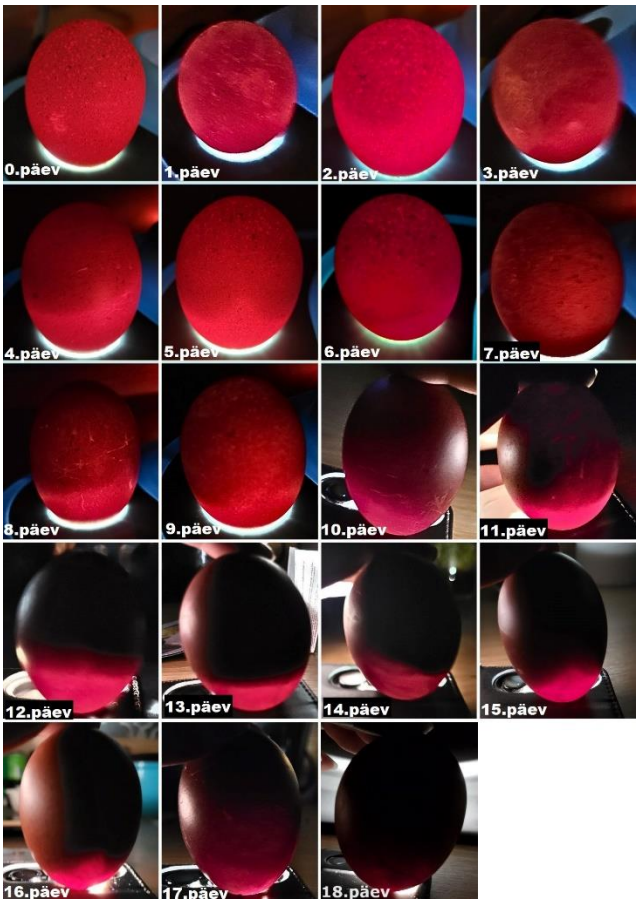
tihedusega soolveed. Need munad mis tulevad pinnale on selle tihedusega millega soolvesi. (Butcher & Miles, 2018)

McDaniel jt. (1979) leidsid, et kõrge suhtelise tihedusega ehk paksema koorega munad kaotasid vähem kaalu. Alla 1.090 suhtelise tihedusega munad kaotasid alla 5 g kaalu, aga kõige rohkem (13,3 g) kaotasid kaalu 1.055 tihedusega munad, kuid kooruvusel ei olnud tihedusega olulist seost. Neto jt. (2024) uurisid muna värvi ja läbinähtavuse seost kaalu kaotamise, kooruvuse ja embrüonaalse suremusega ning leidsid, et heledamad ja väiksema tihedusega munad kaotasid natukene rohkem kaalu kui tumedad või kõrgema tihedusega munad. Kooruvus oli parem kõrgema tihedusega munadel. Läbi nähtavusel ei leitud seost tiheduse ega muna värviga.

2.2.3. Embrüonaalne areng

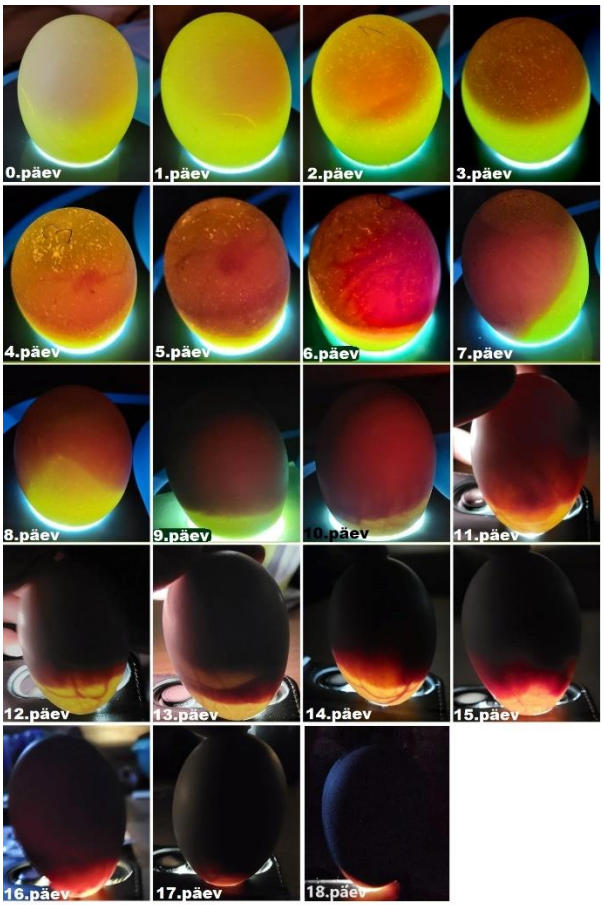
Enne munade inkubaatorisse asetamist, oli heledat tooni mune läbi valgustades näha munarebu tumedama liikuva varjuna. Maransi munade (joonis 18) tumeda koore värvuse tõttu oli munarebu raskesti eristatav. Munarebu paistis ülejäänud munast tumedamana ja püsis alati üleval (tömbis) otsas.

Munade kaal enne inkubeerimist oli maransi munadel 63–75 g, *cream legbar'i* munadel 50–63 g ja *buff* leghorni munadel 63–67 g.



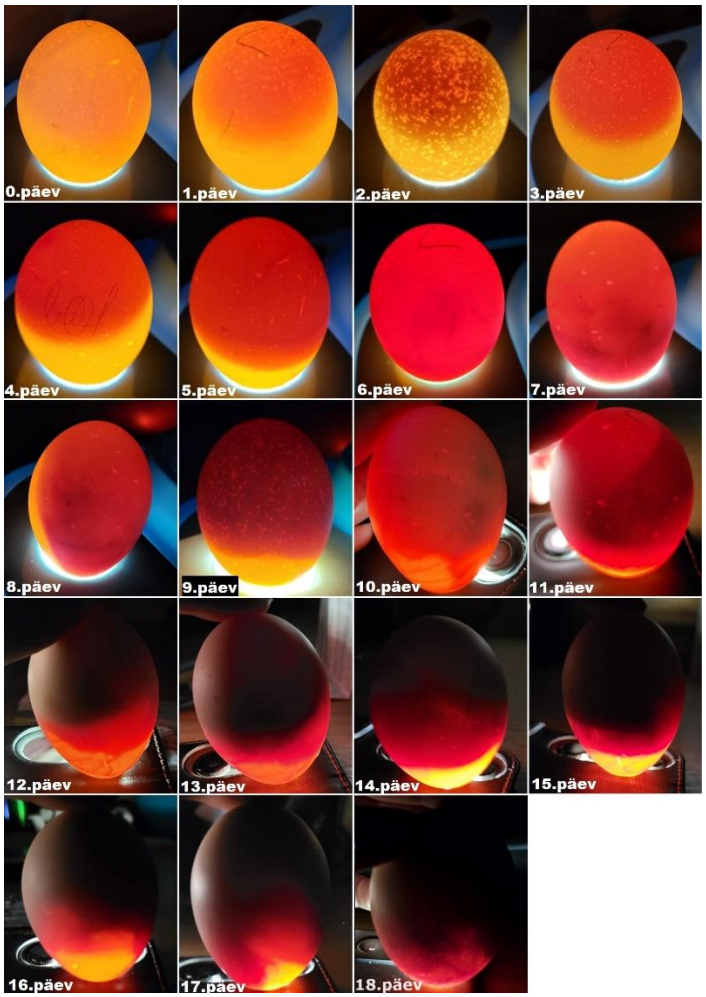
Joonis 18. maransi tõugu kanamunade embrüo areng 0-18. päev. (Autori fotod)

Esimese ja teise inkubeerimispäeva järel ei olnud munade läbi valgustamisel silmaga eristatavat muutust. Kolmandal päeval oli näha *cream legbar'i* munade (joonis 19) puhul veresooni. Samas oli näha, et kolm antud tõugu kana muna ei olnud edasi arenenud. *Buff* leghorni (joonis 20) munade munavalge osa oli tumedam kui eelnevatel päevadel, mis viitas veresoonte olemasolule. Maransi munade puhul oli näha, et munarebu oli veidi suurenenud.



Joonis 19. *cream legbar* kanamunade embrüo areng 0–18. päev. (Autori fotod)

Neljandal päeval oli *cream legbar'i* munadel väga hästi näha embrüoid, kuna nende silm oli pigmenteerunud ja viiendal päeval oli näha südamelööke. Teiste munade puhul oli näha põhiliselt muna täitumist. Kuuendal päeval paistis ka *buff* leghorni tõugu embrüo musta täpina ja oli näha südamelööke. Kuuendal päeval otsustati *cream legbar'i* arenguta munad eemaldada ja nende avamisel läks munarebu laiali. Pennington jt. (1918) andmetel nõrgeneb rebukile muna säilitamisel, kuid samas võis rebukile puruneda ka munade transpordi käigus. *Buff* leghorni munade puhul kasvas embrüo mõnel munal ühel küljel, mis võis tekitada mulje, nagu muna oleks täitunud, kui seda vaadeldi ühe külje pealt. See võis tuleneda sellest, et muna ei keerelnud pulkade keeramisel ja embrüo võis jääda ühele küljele kinni. Kahjuks ei ole võimalik seda seostada embrüo hukkumisega, sest valgustamisel ei märgitud seda tabelisse.



Joonis 20. *buff* leghorni kanamunade embrüo areng 0-18. päev. (Autori fotod)

Seitsmendal päeval oli heledatel munadel märgata embrüo liigutamist. Kaheksandal päeval oli märgata, et ühe maransi embrüo areng oli teistest maha jäänud, sest muna oli kõige vähem täitunud. Järgnevatel päevadel toimus ülejäänud munade täitumine, kuid antud munal rohkem muutuseid ei täheldatud. Maransi hukkunud embrüoga muna eemaldati 13. inkubeerimispäeval ja selle avamisel oli näha, et areng oli peatunud kaheksandal päeval. Surnud embrüol olid jäsemed liigesest kõverdatud ja tiival oli näha kahte jaotist (joonis 21). Muna avamisel oli tunda roiskunud haisu, mis viitab võimalusele, et embrüonaalne surm võis olla tingitud bakteriaalsest saastumisest (Hubbardbreeders). Ei saa ka välistada, et

roiskumise põhjuseks võis olla see, et muna oli mitu päeva inkubaatoris pärast arengu peatumist.

Joonis 21. 8. inkubeerimispäeval hukkunud maransi tõu kana embrüo.

17. ja 18. inkubeerimispäeval olid munad peaaegu täitunud. *Buff* leghorni munas oli näha 18. päeval rohkem heledat osa, kui teiste tõugude puhul. Alates 18. päevast tõsteti inkubaatoris niiskust ja seda ei avatud ilma otsese vajaduseta (karantiin, vt. 1.3.2).

2.2.4. Koorumine

Koorumistegevus algas 20. inkubeerimispäeval ja kestis 22. inkubeerimispäevani. 21. inkubeerimispäeval olid mitu tibu koorunud, kuid üks maransi tõugu tibudest suri paari tunni jooksul pärast koorumist. Hukkunud tibu rebukott ei olnud täielikult imendunud ja naba oli avatud. Avatud kõhusein võis viia bakteriaalse nakatumiseni, mistõttu tibu ei jäänud ellu. Rebukoti mitte imendumist võib põhjustada näiteks liiga kõrge temperatuur või kõrge süsihappegaasi sisaldus inkubaatoris (Hubbardbreeders). Hukkunud tibu eemaldati inkubaatorist, arvestades riskiga teistele elusatele tibudele ja munadele. Inkubaatori avamisel võeti välja ka juba koorunud ja kuivanud tibud.

22. inkubeerimispäeval otsustati koorumisel aidata kahte tibu, kes olid koore augustanud ja ka osaliselt avanud, kuid nende koorumisprotsess oli jäänud seisma 12 tunniks. Tibusid aidati munakoore vähesel määral avamisega, et nad saaksid ise edasi kooruda. Tibud said munast välja, kuid ei ajanud end jalule sama kiiresti kui teised tibud, kes ise koorusid. See võis tuleneda sellest, et nad ei saanud veel aru, et on munast väljas ja üritasid tagajalgadega ennast veel koorest välja lükata. Mõne tunni möödudes olid tibud jalgadel ja kuivadena asetati teiste koorunud tibude juurde. Tavapraktikas on tibude aitamine koorumisel pigem negatiivse tulemusega, sest on võimalik, et rebukott ei ole imendunud (vt 1.3.6). Inkubaatori avamine võib põhjustada teiste kooruvate tibude kuivamist muna sisse kinni, sest niiskus langeb ja koorealused kestad võivad kõveneda. Kuna tibude eemaldamisega inkubaatorist 21. päeval langes niiskus, võis juhtuda, et koorumisega aidatud tibud võisid niiskuse langusest tingituna olla munas kinni. Kuna koorumisprotsess oli toimunud juba pikka aega, sai välistada, et rebukott on imendumata.

2.2.5. Surnud embrüote arengu analüüs

23. inkubeerimispäeval avati munad, mis ei koorunud ja püüti tuvastada hukkumise põhjused. Üks maransi ja kolm *buff* leghorni tõugu tibu ei koorunud (joonis 22). Tibud oli viimases embrüonaalse arengu staadiumis. Maransil ja ühel *buff* leghornil oli rebukott täielikult imendunud. Teisel *buff* leghornil oli rebukott osaliselt imendunud ja kolmas oli hukkunud juba natuke varasemas arengustaadiumis. Marans ja kaks leghorni tibu võisid surra 19.–21. inkubeerimispäeval, kuna rebukotid on imendunud osaliselt või täielikult.

Küsimusi tekitas buff leghorni tõugu kanade embrüote suur suremus. Kahjuks ei ole autoril teada vanemkarja vanust ega söötmise kvaliteeti, sest tegemist oli ostetud haudemunadega. Hilist embrüonaalset surma saab seostada puudustega söötmises, mistõttu munas ei olnud piisavalt toitaineid tibude täielikuks arenguks (Wilson, 1997). Samuti seostatakse madalamat kooruvust liiga vana vanemkarjaga (Machado jt., 2020).

Joonis 22. Maransi ja *buff* leghornide tõugu kanade koorumata munades olnud surnud embrüod. (Autori fotod)

Eelnevalt välja toodud uurimuste alusel saab väita, et tibude suremus enne koorumist ei sõltunud munakoore paksusest. Tibud eritavad inkubeerimise lõpus soojust (Nangsuay jt. 2013) ja kõrge temperatuur inkubeerimise lõpus (kuumasaarte esinemine) võis seetõttu mõjutada kooruvust (Sözcü jt., 2022).

KOKKUVÕTE

Bakalaureusetöö esimene osa koosneb kirjanduse ülevaatest, kus on välja toodud muna ehitus, haudemunade säilitus- ja inkubeerimistingimused ning tibude embrüonaalne areng. Muna ehituses on välja toodud millistest osadest muna koosneb, nende osade funktsioonid ja keemiline koostis. Haudemunade säilitustingimused sõltuvad säilitamise ajast. Kolm päeva säilitatavaid mune on soovitatav hoida 18 °C juures ja munade pikemal säilitamisel langeb kooruvus ja pikeneb koorumisaeg. Haudemunade kvaliteeti määratakse mune läbi valgustades. Inkubeerimisparameetritena on olulised temperatuur, niiskus ja keeramissagedus. Kõige optimaalsemaks inkubeerimistemperatuuriks peetakse 37–38 °C. Niiskus peaks inkubaatoris olema inkubeerimise ajal 50–60% ja koorumise ajal 70%. Kanamunad peavad inkubeerimise jooksul kaotama kaalu umbes 11–15%. Inkubaatori niiskuse sisaldus mängib kaalu kaotamises rolli, sest munad kaotavad kaalu vee aurustumisel ja sellega suureneb õhukamber. Õhukambri suurus mõjutab tibude suurust ja liiga suured või väiksed tibud võivad hukkuda. Munade keeramine on oluline selleks, et embrüo ei jääks koore seina külge kinni. Parima kooruvuse saavutamiseks tuleks mune keerata 45º 24 korda päevas. Embrüonaalne areng on bakalaureusetöös kirjeldatud päevade kaupa ja algab ürgjuti tekkega. Praktilises osas inkubeeriti 20 muna, mis olid kolmest erinevast tõust kanadelt. Iga tõu mune valgustati ja kaaluti igapäevaselt kuni 18. päevani. Inkubaatori keskmine temperatuur oli 37,9 °C ja niiskus keskmiselt 52%. Mune keerati iga kahe tunni järel 180º. Kaalu kaotus oli kõige parem *cream legbar'i* tõugu munadel ja kõige vähem kaotasid kaalu marans tõugu kanamunad. Munade valgustamisel oli kõige paremini näha arengut *cream legbar'i* tõugu kanamunadel ja kõige halvemini maransi tõugu munadel, munade tumepruuni värvuse tõttu. Kolmandal päeval oli näha munade valgustamisel esimesi veresooni ja viiendal päeval südametööd. Munade arengu peatumine oli üsna täpselt märgatav. Koorumata munad avati ja tuvastati embrüote hukkumise aeg ning analüüsiti suremise võimalikke põhjuseid. Lõputöö kirjanduse ülevaadet on võimalik kasutada õppematerjalina nii koolides kui koolitustel. Töö autor julgustab lindude hobipidajaid avama koorumata mune ja embrüote hukkumise põhjuseid välja selgitama. See aitaks valida aretuseks parimaid linde ja tõsta kooruvust.

KASUTATUD KIRJANDUS

Adler, R., Canto-Soler, M. V. (2007). Molecular mechanisms of optic vesicle development: Complexities, ambiguities and controversies. – *Developmental Biology*. Vol. 305, No. 1, pp. 1–13. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.01.045 (14.05.2024)

Archer, G. S., Cartwright, A. L. (2017) Incubating and Hatching Eggs. *Texas A&M AgriLife Extension Service.* [PDF] https://alec.unl.edu/documents/cde/2017/livestock-management/incubating-and-hatching-eggs-2017.pdf (30.04.2024)

Baggott, G. K. (2009). Development of Extra-embryonic Membranes and Fluid Compartments. *Avian Biology Research*, *2*(1-2), 21–26. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3184/175815509x430381 (14.05.2024)

Barresi, M, J., Gilbert, S, F. (2020). *Developmental biology twelfth edition* (12th edition). Oxford: Sinauer Associates, Inc. 663 lk

Bellairs, R.,, Osmond, M. (2014). *Atlas of Chick Development*. Academic Press. [*on-line*] https://www.vet-ebooks.com/atlas-of-chick-development-3rd-edition/ (14.05.2024)

Bionalogy. *Eye and ear.* [veebileht] http://www.bralogy.com/eye_and_ear.htm (04.05.2024)

Brand-Saberi, B., Rudloff, S., Gamel, A. J. (2008). Avian Somitogenesis: Translating Time and Space into Pattern. *Advances in experimental medicine and biology*. pp. 42–57. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1007/978-0-387-09606-3_2 (14.05.2024)

Brand-Saberi, B., Wilting, J., Ebensperger, C., Christ, B. (1996). The formation of somite compartments in the avian embryo. – *The International Journal of Developmental Biology*. vol. 40, no. 1, pp. 411–420. [e-ajakiri] https://ijdb.ehu.eus/article/8735956 (14.05.2024)

Brinsea. Humidity in incubation. [veebileht] https://www.brinsea.com/t-humidity.aspx (11.05.2024)

Brinsea. (2010) How temperature effects egg incubation or what if the power goes out. [PDF] https://brinsea.co.uk/latest/wp-content/uploads/2017/04/What-if-the-power-goes-off-2010.pdf (18.05.2024)

Brinsea. Incubation guidebook. [PDF]. https://www.brinsea.com/Brochures/BrinseaHandbook.pdf (14.05.2024)

Brinsea. Periodic cooling in incubation. [veebileht] https://www.brinsea.com/t-cooling.aspx (11.05.2024)

Britannica. (2024). Embryo. Encyclopedia Britannica. [veebileht] https://www.britannica.com/science/embryo-human-and-animal (05.05.2024)

Butcher, G. D., & Miles, R. D. (2018). *Egg Specific Gravity—Designing a monitoring Program*. Ifas Extension University of Florida. [veebileht] https://edis.ifas.ufl.edu/publication/VM044 (26.05.2024)

Choi, S., Kim, K. H., Kim, S., Wang, K.,, Lee, J. Y. (2021). Three-dimensional visualization of secondary neurulation in chick embryos using microCT. – *Developmental Dynamics*. vol. 251, no. 5, pp. 885–896. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1002/dvdy.441 (14.05.2024)

Conrad, R. M.,, Warren, D. C. (1939). The alternate white and yellow layers of yolk in hens' ova. *Poultry Science*, vol. 18, no. 3, pp. 220–224. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3382/ps.0180220 (14.05.2024)

Colas, J.-F., Schoenwolf, G. C. (2001). Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. – *Developmental Dynamics*. vol. 221, no. 2, pp. 117–145. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1002/dvdy.1144 (14.05.2024)

Daniels, T. (2022). Guide to Incubation Humidity. poultrykeeper.com. [veebileht] https://poultrykeeper.com/incubation-brooding/incubation-humidity/#google_vignette (14.05.2024)

Da Silva Oliveira, G., Santos, V. M. D., Rodrigues, J. C.,, Nascimento, S. T. (2020). Effects of different egg turning frequencies on incubation efficiency parameters. – *Poultry Science*, vol. 99, no. 9, pp. 4417–4420. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.045 (14.05.2024)

Depositphotos. Chicken egg anatomy. [veebileht] https://depositphotos.com/vector/chicken-egg-anatomy-chicken-egg-structure-white-background-cross-section-216269614.html (15.03.24)

De Sousa Lopes, S. M. C., Roelen, B. a. J., Lawson, K. A., & Zwijsen, A. (2022). The development of the amnion in mice and other amniotes. – *Philosophical Transactions - Royal Society. Biological Sciences*. vol. 377(1865). https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0258 (18.05.2024)

Elibol, O., Braket, J. (2003). Effect of frequency of turning from three to eleven days of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*. vol. 82, no. 3, pp. 357–359. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/82.3.357 (14.05.2024)

Elibol, O., Brake, J. (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*, vol. 85, no. 8, pp. 1433–1437. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1433 (14.05.2024)

Ento Key. *Embryology/pathology*. [veebileht] https://entokey.com/embryology-pathology/ (04.05.2024)

Evangelou, K.,, Gaillard, F. (2008). Notochord. *Radiopaedia.org*. [veebileht] https://doi.org/10.53347/rid-4562 (14.05.2024)

Fasenko, G. M. (2007). Egg storage and the embryo. – *Poultry Science*. vol. 86, no. 5, pp. 1020–1024. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/86.5.1020 (14.05.2024)

Funk, E. M., & Forward, J. (1953). The effect of angle of turning eggs during incubation on hatchability. – *Bulletin 599*. https://core.ac.uk/download/pdf/62793624.pdf (19.05.2024)

Fuhrmann, S. (2010). Eye morphogenesis and patterning of the optic vesicle. – *Current Topics in Developmental Biology*. vol. 93, pp. 61–84. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/b978-0-12-385044-7.00003-5 (14.05.2024)

Goel, A. Prosencephalon. – *Radiology Reference Article*. Radiopaedia.org. [*on-line*] https://radiopaedia.org/articles/prosencephalon?lang=us (14.05.2024)

Gilbert, S.F. (2000). Early Development in Birds. *Developmental Biology. 6th edition*. [*on-line*] **https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10070/** (14.05.2024)

Grasso, J. A. (2015). 2: Development of the head, face, and mouth. Pocket Dentistry. [veebileht] https://pocketdentistry.com/2-development-of-the-head-face-and-mouth/ (14.05.2024)

Hamburger, V., Hamilton, H. L. (1951) A series of normal stages in the development of the chick embryo. – *Journal Of Morphology*. Vol. 195, No. 4, pp. 231-272. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1002/aja.1001950404. (14.05.2024)

Theorylabster. Hamburger-Hamilton series. – Labster. [veebileht] https://theory.labster.com/hhseries/ (30.01.2024).

Helwany, M., Tadi, P. (2021). *Embryology, Ear*. PubMed; StatPearls Publishing [*on-line*]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557588/ (14.05.2024)

Hubbardbreeders (2011). *Incubation Guide*. [PDF]. https://www.hubbardbreeders.com/media/ps-incubation-guide-en-20221014.pdf (12.05.2024)

Hussar, P., Hussar, Ü., Kärner, J.,, Suuroja, T. (2005). Histoloogia. Eesti Põllumajandusülikool.

Kusum, M., Verma, R. C., Renu, M., Jain, H.,, Deepak, S. (2018). A review: Chemical Composition and Utilization of egg. – *International Journal of Chemical Studies*. vol. 6, no. 3, pp. 3186–3189. [e-ajakiri] https://www.chemijournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=3&ArticleId=2888&si= (14.05.2024)

Machado, J. P., Mesquita, M. A., Café, M. B., Assis, S. D., Veríssimo, S., Santos, R. R., Leandro, N. S., & Araújo, I. C. (2020). Effects of breeder age on embryonic development, hatching results, chick quality, and growing performance of the slow-growing genotype. – *Poultry Science*. Vol. 99, no. 12, pp. 6697–6704. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.008 (29.05.2024)

McDaniel, G. R., Roland, D. A.,, Coleman, M. A. (1979). The effect of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality. – *Poultry Science*. vol 58, no. 1, pp. 10–13. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3382/ps.0580010 (14.05.2024)

Melo, E., De Araújo, I. C. S., Triginelli, M., Castro, F., Baião, N.,, Lara, L. (2021). Effect of egg storage duration and egg turning during storage on egg quality and hatching of broiler hatching eggs. – *Animal*. vol. 15, no. 2. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100111 (14.05.2024)

Moran, E. T. (2007). Nutrition of the developing embryo and hatchling. – *Poultry Science*. Vol. 86, no. 5, pp. 1043–1049. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/86.5.1043 (14.05.2024)

Mortola, J. P. (2009). Gas exchange in avian embryos and hatchlings. – *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular, Integrative Physiology*. Vol. 153, no. 4, pp. 359–377. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.041 (14.05.2024)

Nangsuay, A., Meijerhof, R., Ruangpanit, Y., Kemp, B., & Van Den Brand, H. (2013). Energy utilization and heat production of embryos from eggs originating from young and old broiler breeder flocks. – *Poultry Science*- vol. 92, no. 2, pp. 474–482. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3382/ps.2012-02643 (14.05.2024)

Neto, F. L., Barbosa, B. B., Novaes, G. A., Blank, M. H., Fireman, A. K. a. T., Burin, Á. M.,, Pereira, R. J. G. (2024). Eggshell translucency: its relationship with specific gravity and eggshell color and its influence on broiler egg weight loss, hatchability and embryonic mortalities. – *Poultry Science*. Vol. 103, no. 5, 103528. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103528 (14.05.2024)

New, D. A. T. 1957**.** A critical period for the turning of hen's eggs. – *Journal of Embryology and Experimental Morphology*. Vol. 5 pp. 393–399. viidatud: **Tona, K., Onagbesan, O. M., Bruggeman, V., Mertens, K., Decuypere, E. (2005**). Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation. – *Poultry Science*. Vol. 84, no. 2, pp. 315–320. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/84.2.315 (14.05.2024)

Nowaczewski, S., Babuszkiewicz, M., Szablewski, T., Stuper-Szablewska, K., Cegielska-Radziejewska, R., Tomczyk, Ł., Kaczmarek, S., Sechman, A., Lis, M., Kwaśniewska, M., Racewicz, P., Jarosz, Ł., Ciszewski, A., Nowak, T.,, Hejdysz, M. (2022). Effect of weight and storage time of broiler breeders' eggs on morphology and biochemical features of eggs, embryogenesis, hatchability, and chick quality. – *Animal*. Vol. 16, no. 7. 100564. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100564 (14.05.2024)

Patten, B. M. (1920). Early Embryology of the Chick, Fourth Edition. Wildside Press LLC.[*on-line*] https://books.google.ee/books/about/Early_Embryology_of_the_Chick_Fourth_Edi.html?id=W3i643aSE_MC&redir_esc=y (14.05.2024)

Pennington, M. E., Betts, H. M. P.,, Jenkins, M. K. (1918). How to Candle Eggs. U.S. Department of Agriculture. [*on-line*] https://books.google.ee/books?hl=en&lr=&id=m00WoAIAkXYC&oi=fnd&pg=PA2&dq=candling+dark+eggs&ots=6FGHF1OApm&sig=bCNUEtRPjsXGMrHc3rf2db0rPOg&redir_esc=y#v=onepage&q=candling%20dark%20eggs&f=false (14.05.2024)

Rahman, M.A. (2014). An Introduction to Morphology of the Reproductive System and Anatomy of Hen's Egg. – *Journal of Life and Earth Science*. vol 8, pp. 1–10. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3329/jles.v8i0.20133 (14.05.2024)

Ruus, C. (1968). Hautamisaegsete madalate temperatuuride mõju tibude kooruvusele ja teistele bioloogilistele omadustele. pp. 231–238.

Sadler, T. W. (2005). Embryology of neural tube development. – *American Journal of Medical Genetics. Part C: Seminars in Medical Genetics*. Vol. 135C no. 1, pp. 2–8. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30049 (14.05.2024)

Sadler, T. W. (2010). Langman's Medical Embryology Eleventh (11th) Edition. Lippincott Williams, Wilkins.

Sato, Y. (2012). Dorsal aorta formation: Separate origins, lateral-to-medial migration, and remodeling. –*Development, Growth & Differentiation*. vol. 55, no. 1, pp. 113–129. https://doi.org/10.1111/dgd.12010 (21.05.2024)

Suárez, M. E., Wilson, H. R., McPherson, B. N., Mather, F. B.,, Wilcox, C. J. (1996). Low temperature effects on embryonic development and hatch time. – *Poultry Science*. Vol. 75, no. 7, pp. 924–932. [e-ajakiri] https://doi.org/10.3382/ps.0750924 (14.05.2024)

Serrano Nájera, G., Weijer, C. J. (2020). Cellular processes driving gastrulation in the avian embryo. – *Mechanisms of Development*. vol. 163, 103624. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.mod.2020.103624 (14.05.2024)

Sözcü, A., İpek, A., & Van Den Brand, H. (2022). Eggshell temperature during early and late incubation affects embryo and hatchling development in broiler chicks. – *Poultry Science*. Vol. 101, no. 10, 102054. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102054 (14.05.2024)

The Science of Incubation. (n.d.). – *Poultry Science*. pp. 61–65. [PDF]. https://www.farminnovators.com/scienceofincubation.pdf (12.05.2024)

Tikk, H., Tikk, V., Piirsalu, M., & Hämmal, J. (2007). *Linnukasvatus* (I). Harald Tikk.

Tona, K., Bamelis, F., Coucke, W., Bruggeman, V.,, Decuypere, E. (2001). Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in Large-Scale conditions. – *Journal of Applied Poultry Research*. vol 10, no. 3, pp. 221–227. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/japr/10.3.221 (14.05.2024)

Tona, K., Onagbesan, O. M., Bruggeman, V., Mertens, K.,, Decuypere, E. (2005). Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation. – *Poultry Science*. vol. 84, no. 2, pp. 315–320. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1093/ps/84.2.315 (14.05.2024)

Jiang, T., Widelitz, R. B., Shen, W., Will, P., Wu, D., Lin, C., Jung, H.,, Chuong, C. (2004). Integument pattern formation involves genetic and epigenetic controls: feather arrays simulated by digital hormone models. – *PubMed Central (PMC)*. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1387/ijdb.041788tj

Wikipedia. Neural fold. [veebileht] https://en.wikipedia.org/wiki/Neural_fold#/media/File:Gray18.png (30.04.2024)

Wilson, H. (1997). Effects of maternal nutrition on hatchability. – *Poultry Science*. Vol. 76, no. 1, pp. 134–143. https://doi.org/10.1093/ps/76.1.134 (29.05.2024)

Xie, W., Pan, N., Zeng, H., Yan, H., Wang, X.,, Gao, C. (2020). Comparison of nonlinear models to describe the feather growth and development curve in yellow-feathered chickens. *Animal*. Vol. 14, no. 5, pp. 1005–1013. [e-ajakiri] https://doi.org/10.1017/s1751731119003082 (14.05.2024)

Yarrell, W. (1826) On the small horny appendage to the upper mandible in very young chickens. *The Zoological Journal*. vol. 2, pp. 433–437. viidatud: **George A., Clark, Jr.** (1961). Occurrence and timing of egg teeth in birds. – *Searchable Ornithological Research Archive. Wilson Bulletin*. Vol. 73, no. 3, pp. 268–278. [e-ajakiri] https://sora.unm.edu/node/127897 (14.05.2024)

LISAD

Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Karmen Mikk,

Sünniaeg 18.08.2000,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö
„Tibude embrüonaalne areng“
mille juhendaja(d) on Tiia Ariko,

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks
kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor _____
(allkiri)

Tartu, _____
(kuupäev)

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

Tiia Ariko _____
(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)