

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

**FAKULTA AGROBIOLOGIE,
POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ**

KATEDRA SPECIÁLNÍ ZOOTECHNIKY

DISERTAČNÍ PRÁCE

2012

ING. FILIP STAROSTA

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

**FAKULTA AGROBIOLOGIE,
POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ**

KATEDRA SPECIÁLNÍ ZOOTECHNIKY

**Divergentní selekce na tvar růstové křivky u masného typu
japonských křepelek:**

korelované změny v průběhu embryogeneze

DOKTORSKÁ DISERTAČNÍ PRÁCE

Doktorand:

Ing. Filip Starosta

Školitel:

Doc. Ing. Zdeněk Ledvinka, CSc.

Školitel specialista:

RNDr. Ludmila Hyánková, CSc.

2012

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval samostatně, je původní a citované odkazy jsou použity podle platných norem.

V Praze dne 25. 6. 2012

Doktorská disertační práce byla součástí řešení projektu Mze ČR Mze0002701404 a výzkumného záměru MSM 6046070901.

Na tomto místě bych rád poděkoval paní RNDr. Ludmile Hyánkové, CSc. za odborné vedení mé práce.

Rád bych vyjádřil poděkování panu Doc. Ing. Zdeňku Ledvinkovi, CSc. za laskavé přijetí k internímu studiu.

RNDr. Boženě Novotné, CSc., RNDr. Heleně Knížetové, Janě Machové a Petře Mrázkové děkuji za pomoc při analýze embryonálního vývoje.

Laboratoři VÚŽV, v. v. i., zejména Dagmar Řezníčkové a Vendule Sobotkové děkuji za pomoc při analýze biochemické kvality vajec.

Ing. Ludmile Klesalové, Janě Machové a Petře Mrázkové děkuji za pomoc při hodnocení fyzikální kvality vajec.

Ing. Jiřímu Hamanovi a Dr. Jochenu Wolfovi děkuji za pomoc při statistickém zpracování dat.

Za pochopení a obětavou pomoc s organizováním pokusů patří dík Oldřichu Machovi a Evě Gregušové.

Za trpělivost děkuji mé rodině, zejména manželce a dceři.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1	Růst	10
2.1.1	Grafické vyjádření růstu	10
2.1.2	Matematické vyjádření růstu	11
2.1.3	Růst jako geneticky podmíněný znak	12
2.2	Selekce podle živé hmotnosti	13
2.2.1	Experimentální selekce podle živé hmotnosti	13
2.2.2	Korelované změny v růstu	14
2.2.3	Korelované změny ve spotřebě krmiva	15
2.2.4	Korelované změny ve složení těla	15
2.2.5	Korelované změny v reprodukci	16
2.2.6	Korelované změny v embryonálním vývoji a růstu	19
2.3	Experimentální selekce podle tělního tuku	19
2.3.1	Selekce podle abdominálního tuku	20
2.3.2	Selekce podle hladiny lipoproteinů v krevní plazmě	20
2.3.3	Korelované změny v tělním tuku	21
2.3.4	Korelované změny v citlivosti na složení krmiva	21
2.3.5	Korelované změny ve spotřebě a konverzi krmiva	22
2.3.6	Korelované změny ve složení těla	22
2.3.7	Korelované změny v reprodukci	23
2.3.8	Korelované změny v energetickém metabolismu	23
2.3.9	Korelované změny v růstu	24
2.4	Selekce na tvar růstové křivky	24
2.4.1	Korelované změny v růstu a parametrech růstové křivky	25
2.4.2	Korelované změny ve spotřebě a konverzi krmiva	26
2.4.3	Korelované změny ve složení těla	26
2.4.4	Korelované změny v nárocích na obsah dusíkatých látek v krmivu	26
2.4.5	Korelované změny v reprodukci	27
2.4.6	Korelované změny v rychlosti vývoje během postnatálního období	27

2.4.7	Korelované změny v embryonálním růstu a vývoji	28
2.5	Embryogeneze drůbeže	29
2.5.1	Embryonální vývoj	29
2.5.1.1	Stádium vytvoření zárodku	29
2.5.1.2	Stádium dokončení embrya	30
2.5.1.3	Stádium líhnutí	30
2.5.2	Výživa embrya	31
2.5.2.1	Stádium vytvoření zárodku	31
2.5.2.2	Stádium dokončení embrya	31
2.5.2.3	Stádium líhnutí	31
2.5.3	Vliv hmotnosti a složení vajec	32
3	CÍL PRÁCE	34
4	MATERIÁL A METODIKA	35
4.1	Vývoj a růst embryí HG a LG během inkubace	35
4.1.1	Sběr a inkubace vajec	35
4.1.2	Raný embryonální vývoj	35
4.1.3	Embryonální růst	35
4.1.4	Embryonální vývoj na konci inkubace	36
4.1.5	Statistické vyhodnocení dat	36
4.2	Embryonální růst a osifikace kostí	37
4.2.1	Příprava embryí na osteometrická měření	37
4.2.2	Statistické vyhodnocení dat	38
4.3	Hmotnost a složení vajec	39
4.3.1	Fyzikální kvalita vajec	39
4.3.2	Nutriční analýza vajec	40
4.3.3	Statistická analýza dat	40
5	VÝSLEDKY	41
5.1	Hmotnost a fyzikální kvalita vajec	41
5.2	Nutriční složení vajec	42
5.3	Raný embryonální vývoj	43
5.4	Pozdní embryonální vývoj	44
5.5	Embryonální růst	45

5.5.1	Efekt hmotnosti vejce	46
5.6	Růst kostí dolní a horní končetiny	48
5.7	Osifikace kostí horní a dolní končetiny	51
5.8	Meziliniové rozdíly v růst a osifikaci kostí končetin	54
6	DISKUZE	56
6.1	Embryonální vývoj	56
6.2	Embryonální růst	57
6.3	Růst a osifikace kostí končetin	60
6.4	Meziliniové rozdíly v růstu a osifikaci končetin	60
6.5	Embryogeneze a hmotnost a složení vejce	62
7	ZÁVĚR	67
8	POUŽITÁ LITERATURA	68

1 ÚVOD

Produkce drůbežího masa patří v současné době mezi nejvyspělejší odvětví živočišné výroby. K jejímu zefektivňování přispěl pokrok v technologických postupech a nové poznatky ve výživě a profylaxi drůbeže. Rozhodující podíl na zvyšování masné užitkovosti však měly pozitivní změny v genofondu komerčních populací, na kterých se společnou měrou podílel genetický výzkum a rychlá aplikace jeho poznatků do šlechtitelské praxe.

Zájem genetiků o problematiku hrabavé drůbeže můžeme zaznamenat již na začátku 20. století, kdy došlo k znovuobjevení Mendelových zákonů. Byly to právě pokusy na drůbeži, které v prvních desetiletích tohoto století přinesly důkazy o existenci interakcí mezi geny a o lokalizaci genů na pohlavních chromozomech. Ve třicátých až padesátých letech přispěly tyto pokusy významně k formování teorie inbrídingu, teorie heteroze a prvních vědecky podložených zásad pro šlechtění hospodářských zvířat.

Přetrvávající zájem o studium genetických zákonitostí využitím hrabavé drůbeže je patrný i v dalších desetiletích, kdy došlo u slepic k intenzivní selekci na masnou užitkovost. Experimenty ověřovaly účinnost komerční selekce na vyšší hmotnost těla a hledaly nová selekční kritéria pro odstranění nežádoucích korelovaných změn, kterou tuto selekci doprovázely. Snaha o biologickou interpretaci těchto změn a poznatky získané analýzou růstu pomocí matematických funkcí vedly posléze ke vzniku neocenitelného zdroje informací o genetických zákonitostech růstu a jeho vztahu k ostatním produkčním a reprodukčním ukazatelům. V posledních letech přispívá k jeho rozšíření i experimentální selekce na tvar růstové křivky. Analýza korelovaných změn, které doprovázejí tuto selekci během embryogeneze, byla hlavním cílem předkládané práce.

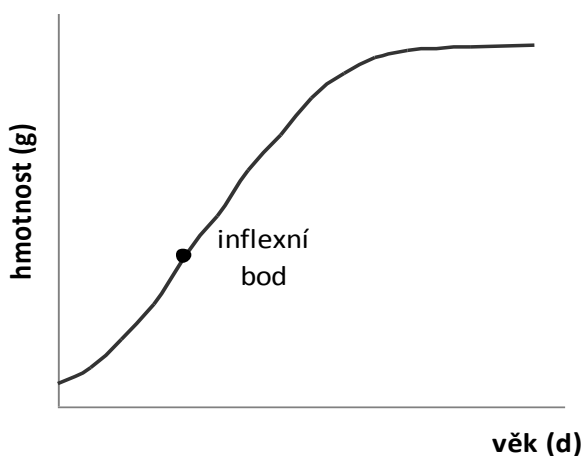
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Růst

Růst patří mezi základní projevy organismu a je proto nedílnou součástí jeho ontogeneze. Lze jej definovat jako řadu současně probíhajících procesů kvantitativního charakteru, tj. zvyšování hmotnosti, objemu, povrchu a rozměrů jednotlivých tělních partií (Šiler a kol., 1980). Ze zootechnického hlediska lze růst nejjednodušeji chápat jako denní přírůstky mladých zvířat.

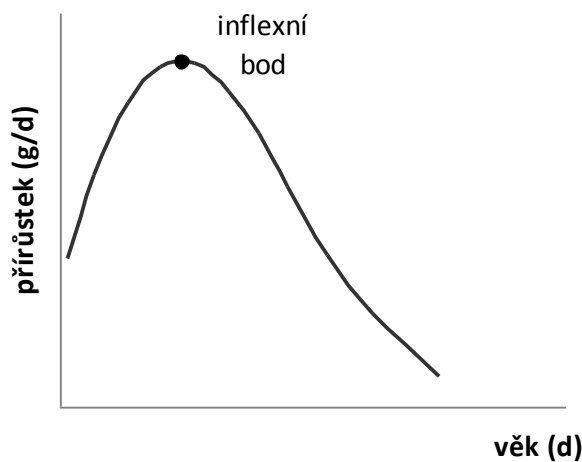
2.1.1 Grafické vyjádření růstu

Grafickým vyjádřením růstu je růstová křivka (obr. 1). Reprezentuje spojnici jednotlivých hodnot měření vynesných v časových intervalech do soustavy pravoúhlých souřadnic. Jestliže vynášíme hmotnost organismu, získáme u ptáků i savců křivku s charakteristickým sigmoidním zakřivením, na které lze rozlišit dvě růstové fáze. V první, tzv. autoakcelerační fázi dochází ke zvyšování rychlosti růstu (zvyšování přírůstků za časovou jednotku). Ve druhé, tzv. autoretardační fázi, se rychlost růstu naopak snižuje (pokles přírůstků za časovou jednotku). Předělem mezi fázemi je inflexní bod růstové křivky, ve kterém absolutní rychlost růstu dosahuje maxima (Šiler a kol., 1980).

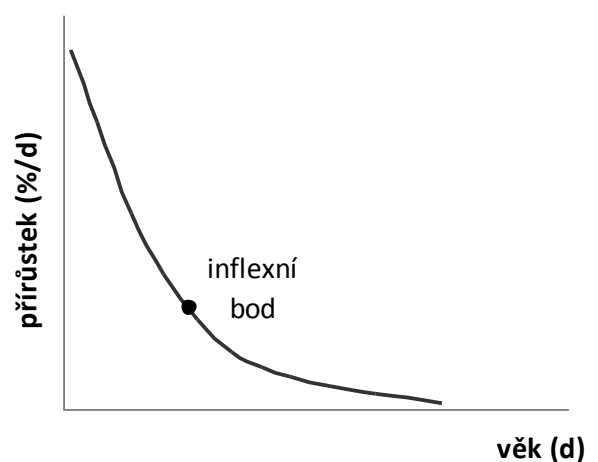


Obr. 1. Růstová křivka

Grafickým vyjádřením absolutní rychlosti růstu je křivka na obr. 2, kterou dostaneme vynášením absolutních přírůstků za danou časovou jednotku. V případě, že jsou tyto přírůstky vyjádřeny relativně (tj. jako podíl z dosažené hmotnosti) získáme graf tzv. relativní rychlosti růstu neboli intenzity růstu (obr. 3).



Obr. 2. Absolutní rychlost růstu



Obr. 3. Intenzita růstu

2.1.2 Matematické vyjádření růstu

Růstovou křivku ptačího a savčího organismu lze popsat pomocí tří až čtyřparametrových matematických modelů. Jejich význam spočívá především v tom, že (1) eliminují krátkodobá kolísání v hmotnosti způsobená faktory prostředí a (2) shrnují informaci obsaženou v řadě bodů „hmotnost – věk“ do několika málo biologicky interpretovatelných parametrů (Knížetová a kol., 1992).

Mezi tříparametrové modely patří model Gompertzův, Bertalanffyho a logistický model (Kníže a Hyánek, 1981). Prvním z jejich parametrů je parametr „A“ (asymptota), jenž odpovídá finální (dospělé) hmotnosti. Druhý parametr „b“ koresponduje s počáteční hmotností (hmotnost při narození). Třetí parametr „k“ vyjadřuje, s jakou rychlostí je z počáteční hmotnosti dosažena hmotnost finální. Tříparametrové modely jsou charakteristické fixní polohou inflexního bodu z hlediska hmotnosti.

Inflexní bod je dosažen ve věku, kdy živá hmotnost tvoří určitý pevně stanovený podíl z asymptotické hmotnosti.

Čtyřparametrovým modelem je tzv. Richardsova funkce (Richards, 1959). Podobně jako tříparametrové modely obsahuje parametry A, b, k. Navíc využívá tvarový parametr "n". Výpočet čtyřparametrového modelu je sice o něco složitější nežli výpočet modelů tříparametrových, jeho předností je však větší flexibilita a variabilní poloha inflexního bodu. Tříparametrové modely jsou jeho speciálními případy. Jestliže hodnota n je rovna -1/3, přechází Richardsův model v model Bertalanffyho, jestliže se n rovná 1, v model logistický, a v případě, že se jeho hodnota blíží k nule, v model Gompertzův (tab. 1) (Kníže a Hyánek, 1981).

Tab. 1. Přehled používaných růstových funkcí (Kníže a Hyánek, 1981)

model	růstová funkce	y*/A
Gomperz	$y(t)=A(e^{-be})^{-kt}$	e^{-1}
Bertalanffy	$y(t)=A(1-be^{-kt})^3$	8/27
Logistický	$y(t)=A(1-be^{-kt})^{-1}$	0,5
Richards	$y(t)=A(1\pm be^{-kt})^{-1/n}$	$(n+1)^{-1/n}$

y* hmotnost v inflexním bodě

2.1.3 Růst jako geneticky podmíněný znak

Z genetického hlediska je růst znakem kvantitativního charakteru. Je řízen polygeny (geny malého účinku), na jejichž fenotypové manifestaci se podílejí i faktory prostředí (Šiler a kol., 1980). Mezi nejvýznamnější faktory prostředí, které ovlivňují růst, patří množství a kvalita zkrmované směsi. O růstových schopnostech organismu však spolurozhoduje například i světelný a teplotní režim, které ovlivňují příjem krmiva nepřímo.

Koeficienty dědivosti odhadnuté v populacích hrabavé drůbeže se zpravidla pohybují v rozmezí hodnot 0,35 – 0,64 (Marks, 1971; Nestor a kol., 1982; Marks, 1985; Nestor a kol., 1987; Chapuis a kol., 1999). Podíl prostředkové variability na fenotypovém rozptylu bývá tedy většinou

relativně malý a aditivní složka genetického rozptylu naopak relativně velká. To vysvětluje, proč bývá individuální fenotypová selekce podle živé hmotnosti zpravidla velmi účinnou metodou pro zvyšování růstových schopností.

2.2 Selekcce podle živé hmotnosti

Počátky intenzivní selekce na zvyšování masné užitkovosti brojlerových kuřat lze v USA datovat do období krátce po druhé světové válce. V Evropě začal obdobný proces o něco později, zhruba na začátku padesátých let (Hartmann, 1989). Komerční šlechtitelé využívali při selekci živé hmotnosti a v prvních letech i některé somatometrické ukazatele. Postupem času se však od jejich sledování ustoupilo a živá hmotnost se stala jediným selekčním kritériem, které bylo pro zvyšování masné užitkovosti využíváno. Kuřata se v určitém věku zvažila a nejtěžší z nich vybrala jako rodiče následné generace (Hyánková a Knížetová, 1993).

Sólová selekce na vyšší hmotnost těla trvala téměř 40 let a přinesla řadu úspěchů. Doba výkrmu se zkrátila na polovinu, konverze krmiva se zlepšila o plných 40 %, k pozitivnímu posunu došlo i v osvalení prsní oblasti (Reddy, 1966). Přesto se selekční strategie na konci 80. let minulého století začala měnit. Změnu vyvolala především kumulace nežádoucích korelovaných změn, které snižovaly životnost kuřat (obezita, syndrom náhlé smrti, nedostatečnost nohou, syndrom EODES apod.) (Hyánková a Knížetová, 1993).

2.2.1 Experimentální selekce podle živé hmotnosti

Účinnost selekce na vyšší hmotnost těla byla ověřována selekčními experimenty. Patřila mezi ně například selekce na vyšší hmotnost těla u krůt (Nestor, 1982), selekce na vyšší hmotnost těla při optimálním (28%) a nízkém (20%) obsahu dusíkatých látek (NL) v krmivu u japonských křepelek (Marks, 1978, 1979) a divergentní selekce na hmotnost těla na kompletní dietě (28% DL, 12,34 MJ ME/kg) a na tzv. „oddělené dietě“, kdy byly

japonským křepelkám podávány k výběru 2 krmné směsi obsahující buď 47 % NL a 9,84 MJ ME/kg nebo 9 % NL a 13,95 MJ ME/kg (Marks, 1978; Darden a Marks 1988, 1989).

Biologický materiál, který byl těmito selekčními experimenty vytvořen, byl později využit v řadě pokusů zaměřených na analýzu jednotlivých meziliniiových diferencí. Ta umožnila pochopit anatomickou a fyziologickou podstatu některých korelovaných změn a jejich vzájemné souvislosti. V tomto ohledu měla klíčový význam divergentní selekce na hmotnost těla realizovaná u slepic, která byla započata již na začátku 60. let minulého století (Siegel, 1962).

Základní populací pro dlouhodobý selekční experiment u slepic se stala populace hybridů vytvořená křížením 7 inbredních linií plemene White Plymouth Rock (plymutka bílá) (Dunnington a Siegel, 1996). Za jediné selekční kritérium byla zvolena živá hmotnost v 8. týdnu věku. V každé generaci selekce byla tedy kuřata v tomto věku zvážena a u linie selektované na vyšší hmotnost těla (HWS) byli za rodiče následné generace vybíráni nejtěžší jedinci, u linie selektované na nižší hmotnost těla (LWS) naopak jedinci nejlehčí. Počet potenciálních rodičovských jedinců se v každé rané generaci selekce pohyboval kolem 56 ks (48 ♀♀ a 8 ♂♂).

2.2.2 Korelované změny v růstu

Selekce na hmotnost těla v 8. týdnu věku se podle očekávání výrazně promítala do růstových schopností kuřat. Selekcí se neměnila pouze osmitýdenní hmotnost, změny v hmotnosti byly patrné i v dalších věkových kategoriích (Dunnington a Siegel, 1996). Od prvních generací selekce bylo zřejmé, že kuřata linie HWS dosahují vyšší hmotnosti těla než kuřata linie LWS již v prvních týdnech po vylíhnutí a že se tyto diference mezi liniemi s postupujícím věkem prohlubují.

Analýza postnatálního růstu pomocí matematické funkce navíc ukázala, že selekce vede kromě výrazného rozlišení v asymptotě růstové křivky (v dospělé hmotnosti) i ke změně v poloze inflexního bodu. Kuřata linie

LWS dosahovala inflexního bodu v podstatně starším věku nežli kuřata linie HWS (Anthony a kol., 1991).

2.2.3 Korelované změny ve spotřebě krmiva

Mezi nejvýraznější korelované změny doprovázející selekci na hmotnost těla patřily změny ve spotřebě krmiva. První meziliniové rozdíly v tomto znaku byly pozorovány již v 5. generaci selekce, s postupujícím počtem generací selekce se očividně zvětšovaly (Siegel a Wisman, 1966). Kuřata obou linií sice konzumovala jednorázově obdobné množství krmiva, kuřata linie HWS však přijímala další krmivo za podstatně kratší časový úsek než kuřata LWS (Barbato a kol., 1980). Pokusy s nuceným krmením (Barbato a kol., 1984) přitom odhalily, že vyšší příjem krmiva kuřat HWS není primárně způsoben jejich relativně větší kapacitou trávicího traktu, ale tendencí této linie k přejídání. Tento poznatek zřejmě také vysvětluje, proč se kuřata HWS lépe vyrovnávala s 24 hodinovým hladověním nežli kuřata linie LWS, u kterých byly zejména v raném věku zaznamenány projevy anorexie (Dunnington a kol., 1987; Dunnington a Siegel, 1996).

U dospělých jedinců, byly mezi liniemi zjištěny rozdíly v nárocích na složení krmných směsí. Jestliže byly dospělým jedincům nabídnuty dvě směsi lišící se obsahem dusíkatých látek a metabolizovatelné energie, pak linie selektovaná na vysokou hmotnost (HWS) dávala přednost krmivu s vyšším obsahem bílkovin, zatímco linie selektovaná na nižší hmotnost těla (LWS) preferovala krmivo s vyšším obsahem metabolizovatelné energie (Huey a kol., 1982 cit. Dunnington a Siegel., 1966).

2.2.4 Korelované změny ve složení těla

Meziliniové rozdíly v příjmu krmiva se promítaly do meziliniových diferencí v kumulaci tělního tuku. Jatečné trupy kuřat HWS obsahovaly již na konci 8. týdne věku podstatně vyšší podíl tělního (Dunnington a kol., 1986) a abdominálního tuku (Zelenka a Siegel., 1987) než trupy kuřat LWS. Podle výsledků Calabotta a jeho spolupracovníků (1983, 1985) lze přitom

předpokládat, že vyšší tukové zásoby nebyly u linie HWS způsobeny primárně zvýšenou lipogenezí, ale naopak nižší rychlostí lipolýzy.

Vyšší hmotnost těla byla u linie HWS spojena také s relativně větším podílem prsní a nožní svaloviny (Katanbaf a kol., 1988). Z anatomického a strukturálního hlediska přitom přispíval k větší hmotnosti svalové hmoty u HWS jak větší počet, tak větší velikost svalových vláken (Lepore a kol., 1965).

Podrobné analýzy jatečně opracovaného trupu navíc odhalily, že zvětšení tukové a svalové hmoty není u linie HWS spojeno s proporčním nárůstem vnitřních orgánů, tj. zejména nárůstem velikosti srdce a plic (Katanbaf a kol., 1988). To jinými slovy znamená, že selekce na vyšší hmotnost těla vedla k porušení proporční rovnováhy mezi tělními soustavami, které živiny přijímané tělem spotřebovávají (kosterní, svalová a tuková soustava) a orgány, které se na příjmu a zpracování živin a energie přijaté tělem podílejí (orgány trávicí, respirační a kardiovaskulární soustavy). Navíc bylo prokázáno, že větší nárůst svaloviny měnil také typologii svalových vláken. S nárůstem svalové hmoty relativně ubývalo vláken typu I (červená, pomalu se unavující, oxidativní) a přibývalo vláken typu IIb (bílá, rychle se unavující, glykolytická) (Decuypere a kol., 2003). Zhoršoval se také poměr počtu kapilár k objemu svalových vláken. Z toho logicky vyplývá, že změny ve složení těla vyvolané selekcí na vyšší hmotnost těla musely zákonitě vést k zvýšené náchylnosti kuřat k metabolickým nemocem (Decuypere a kol., 2003).

2.2.5 Korelované změny v reprodukci

Podle očekávání ovlivnily změny v růstovém potenciálu kuřat významně reprodukční ukazatele obou linií. Změny byly pozorovatelné v sexuálním chování, v nástupu pohlavní dospělosti stejně tak jako v kvalitě a produkci vajec.

U samců byly se zvyšováním hmotnosti těla zaznamenány především negativní změny v sexuálním chování - pokles libida a zhoršování

kloakálního kontaktu (Hort a kol., 2000). Vyšší hmotnost těla byla například spojena s větší citlivostí k mechanickému poškození končetin, která ztěžuje normální aktivitu páření (Robinson a kol., 1993).

U samic byly nejvýznamnější korelované změny zaznamenány v produkci a kvalitě vajec. Již pokusy provedené v 15., 16. a 17. generaci selekce jednoznačně prokázaly, že se změnou růstového vzoru dochází k poklesu produkce vajec u obou linií. U linie LWS byl však pokles v produkci vajec podstatně vyšší než u linie HWS. Výsledky současně ukázaly, že vyšší produkce vajec u linie HWS je spojena s výrazným poklesem jejich kvality. Ve srovnání s linií LWS byl u linie HWS zaznamenán vyšší výskyt dvoužloutkových vajec i vajec s porušenou či chybějící skořápkou. Meziliniové rozdíly v kvalitě vajec byly natolik velké, že v produkci kvalitních vajec, dosahovala vyšších ukazatelů linie LWS (Udale, 1972 cit. Reddy a Siegel, 1976).

Nižší počet snesených vajec u linie LWS potvrdila i analýza snášky v pozdějších generacích selekce (Liu a kol., 1995). Autoři však sami poukázali na to, že od 19. generace selekce byla u linie HWS zavedena restrikce krmiva, která účinně omezila obezitu nosnic a tím pravděpodobně i maskovala některé reprodukční problémy, které by mohly být selekcí na vyšší hmotnost těla v pozdějších generacích vyvolány.

Horší kvalita vajec u populací selektovaných na vyšší hmotnost těla byla popsána již na konci šedesátých let minulého století (Jaap a Muir, 1968). Jedná se o jeden z typických projevů tzv. syndromu EODES, který se vedle nadměrné produkce defektních vajec vyznačuje zvýšeným úhynem nosnic v důsledku ovulace do dutiny břišní. Závažnost tohoto syndromu vedla proto selekční experimentátory ke studiu jeho biologické podstaty. V pokusech byla vedle počtu a kvality snesených vajec sledována i ovariální aktivita (Udale, 1972 cit. Reddy a Siegel, 1976).

Nežádoucí efekt EODES syndromu se při pokusu projevoval zejména na začátku snášky. V prvních 4 týdnech byla u linie HWS zaznamenána jak zvýšená frekvence dvoužloutkových vajec, tak i zvýšená frekvence vajec s

neúplnými vaječnými obaly. Sledováním ovariální aktivity bylo zjištěno, že zvýšený výskyt defektních vajec u linie HWS lze s největší pravděpodobností vysvětlit zvýšeným počtem rychle rostoucích folikulů, které jsou navíc velmi často ve stejném stupni vývoje. Prasknutí takovýchto folikulů musí zákonitě vést ke snesení dvou- a vícežloutkových vajec nebo vajec s nedokončenou tvorbou obalů (Hort a kol., 2000). Disproporce mezi počtem rychle rostoucích a prasklých folikulů, která byla pozorována u linie HWS během snáškového cyklu navíc naznačila, že ovulace do dutiny břišní může být s největší pravděpodobností vyvolána asynchronií mezi funkcí vejcovodu a vaječníku způsobenou sníženou sekrecí gonadotropního hormonu (Hort a kol., 2000).

Změny v ovariální aktivitě u populací s vysokou hmotností těla jsou tedy považovány za bezprostřední příčinu syndromu EODES. Nejsou však považovány za příčinu primární. Tu lze podle všeobecně přijímaného názoru spatřovat ve zvýšené tvorbě lipidů v játrech, která vede následně ke zvýšené kumulaci žloutkového materiálu (Reddy a Siegel, 1976).

Mezi liniemi selektovanými na vysokou a nízkou hmotnost těla byly pozorovány významné rozdíly také v nástupu pohlavní dospělosti (věk při snesení 1. vejce). I když se s postupující selekcí posouval nástup snášky do vyšších věkových kategorií u obou linií, bylo zřejmé, že oddalování nástupu pohlavní dospělosti bylo mnohem výraznější u linie LWS (Dunnington a Siegel, 1996). Tato skutečnost vedla experimentátory k řadě pokusů, kterými se na základě meziliniových diferencí snažili odhalit, které faktory nástup pohlavní dospělosti determinují (Dunnington a kol., 1983, 1984; Brody a kol., 1984; Zelenka a kol., 1986a,b atd.). Jednoznačná odpověď získána nebyla. Podle autorů participujících na selekčním experimentu u slepic lze s největší pravděpodobností předpokládat, že k nástupu snášky dochází, jestliže je dosaženo minimální hmotnosti, věku a současně i patřičného složení těla, které jsou pro jednotlivé populace specifické (Dunnington a Siegel, 1996). U linie HWS například předpokládají, že klíčovým faktorem, který rozhoduje o nástupu pohlavní dospělosti je

dosažení minimálního věku. U linie LWS naopak předpokládají, že o nástupu pohlavní dospělosti rozhoduje dosažení patřičné hmotnosti a složení těla.

2.2.6 Korelované změny v embryonálním vývoji a růstu

Korelované změny v embryogenezi byly studovány v 5., 7. a 28. generaci selekce. Výsledky prokázaly, že linie LWS je ve srovnání s linií HWS vývojově urychlená. Její rychlejší vývoj byl pozorován v době při snesení vejce (Coleman a Siegel, 1966) a v průběhu prvních dvou dnů inkubace (Coleman a kol., 1963). Rychlejší embryonální vývoj genotypů s nižším růstovým potenciálem byl potvrzen i experimenty na japonských křepelkách (Lilja a Olsson, 1987; Peebles a Marks, 1991; Lilja a kol., 2001)

Z hlediska růstu nebyly mezi liniemi HWS a LWS zaznamenány významné difference do 10 dnů inkubace, tj. do období, kdy hmotnost vejce nemá znatelný vliv na hmotnost embrya (Hardin, 1972). Od 14. do 21. dne inkubace dosahovala vyšší hmotnosti embrya linie HWS. Po eliminaci efektu hmotnosti vejce (podíl hmotnosti embrya z hmotnosti nasazeného vejce) bylo však zřejmé, že LWS embrya vykazovala relativně vyšší rychlost růstu od 5. do 19. dne inkubace, tj. téměř přes celé prenatalní období (Anthony a kol., 1989).

2.3 Experimentální selekce podle tělního tuku

Pokusy, které se snažily ovlivnit množství tělního tuku genetickou cestou, byly iniciovány v průběhu 80. let minulého století, zjevně jako reakce na problémy v komerčních populacích kuřat, kde obezita patřila mezi ty nejzávažnější.

Střední až vysoké hodnoty koeficientů dědivosti odhadované pro tělní tuk ($h^2 = 0,4$ až $0,8$) (Ricard a Rouvier, 1969; Leclercq a kol., 1980; Cahaner a Nitsan 1985; Leenstra a Pit, 1988) a rozsáhlá fenotypová proměnlivost v rámci populací (Griffith a kol., 1977; Becker et al., 1984)

zaručovala úspěšnost této selekce. Otázkou byla vhodná volba selekčního kritéria.

Pro finanční nákladnost nebylo možné využít k selekčním účelům stanovení množství tělního tuku chemickou analýzou. Vhodnější metodou se zdál odhad tělního tuku pomocí množství abdominálního tuku, jehož korelace s tělním tukem dosahovala hodnoty 0,8 (Leclercq a kol., 1980; Pym, 1985). Tento tuk navíc vytváří kolem kloaky dobře ohraničené depo, takže jeho stanovení pomocí kaliperu nebo palpce na živých kuřatech se zdálo být reálné. Obě metody se však v praxi neosvědčily (Pym a Thompson, 1980; Sørensen, 1988), a proto byl pro experimentální selekci využit abdominální tuk stanovený vážením po usmrcení kuřete.

2.3.1 Selekcce podle abdominálního tuku

První, kdo ověřil možnost selekce podle abdominálního tuku byl Leclercq se svými spolupracovníky (1980). Selekovali dvě divergentní linie podle množství abdominálního tuku v 9 týdnech věku při zachování stejné hmotnosti těla v tomto věku. Linie LF (low fat) byla selektována na nízký abdominální tuk, linie HF (high fat) byla selektována na vysoký tuk. Již po prvních generacích selekce bylo zřejmé, že je toto selekční kritérium velmi úspěšné. Po čtyřech generacích selekce měla kuřata linie HF 2,5krát více a po sedmi generacích dokonce 4krát více abdominálního tuku než brojleři linie LF při obdobné živé hmotnosti (Leclercq, 1984). Stejného úspěchu dosáhl později i kolektiv izraelských experimentátorů, kteří selekovali v rámci komerční brojlerové populace rodiny s vysokou hmotností a současně nízkým či vysokým množstvím abdominálního tuku (Cahaner a kol., 1985, 1986).

2.3.2 Selekcce podle hladiny lipoproteinů v krevní plazmě

Podle skotských výzkumníků bylo možné odhadovat tělní tuk také podle hladiny lipoproteinů s nízkou denzitou (very low density lipoprotein – VLDL) v krevní plazmě. Zjistili, že korelační koeficient mezi celkovým

tělním tukem a koncentrací VLDL dosahuje hodnoty 0,7 v případě, že jsou kuřata krmena dietou s nízkým obsahem tuku (Whitehead a Griffin, 1982).

Vhodnost tohoto selekčního kritéria ověřili tito výzkumníci divergentní selekcí, při níž vycházeli z komerční otcovské linie. Již po třech generacích se prokázalo, že selekce mění hladinu VLDL v krevní plazmě a zároveň i množství celkového tělního tuku (Whitehead a Griffin, 1984). Po sedmi generacích dané selekce měla linie selektovaná na zvýšení hladiny VLDL 21,3 % celkového tělního tuku a 3,7 % abdominálního tuku, zatímco linie selektovaná na snížení hladiny VLDL pouze 13,4 % celkového tělního tuku a 1,4 % abdominálního tuku (Whitehead, 1987). Na rozdíl od selekce podle abdominálního tuku, nevedla selekce podle VLDL k disproporčnímu ovlivňování tukových dep.

2.3.3 Korelované změny v tělním tuku

Diference v tučnosti byly závislé na věku, ve kterém byla selekce podle tuku prováděna. První rozdíly mezi liniemi byly pozorovány ve druhém týdnu věku, kdy se začaly linie LF a HF lišit v hmotnosti abdominálního tuku a velikosti jeho adipocytů (Simon a Leclercq, 1982). Ve čtvrtém týdnu se kromě těchto diferencí začaly objevovat i rozdíly v celkovém obsahu tělního tuku (Simon a Leclercq, 1982; Saadoun a Leclercq, 1986). Maximální rozdíly v tučnosti byly zjištěny v 9. týdnu věku, kdy se selekce podle abdominálního tuku prováděla (Simon a Leclercq, 1982). Od tohoto věku do nástupu pohlavní dospělosti se zvyšovala tučnost obou linií obdobně. Od nástupu pohlavní dospělosti byl naopak zaznamenán pokles meziliniových rozdílů (Simon a Leclercq, 1982; Leclercq a kol., 1989).

2.3.4 Korelované změny v citlivosti na složení krmiva

V období, kdy dochází k výraznému zvyšování meziliniových diferencí v tučnosti kuřat, byly zaznamenány meziliniové difference také v citlivosti na kvalitu zkrmované směsi. Pokud byla kuřatům v období mezi 5. až 9. týdnem věku předložena krmná směs s nízkým obsahem dusíkatých látek,

vykazovala kuřata s menšími tukovými zásobami růstovou retardaci ve srovnání s kuřaty selektovanými na zvýšení tukových zásob (Leclercq, 1983; Whitehead, 1990). V případě, že byla kuřatům podávána směs se standardním nebo vysokým obsahem dusíkatých látek, nebylo patrné, že by se kuřata daných linií lišila v nárocích na kvalitu zkrmované směsi (Leclercq, 1983; Whitehead, 1990).

2.3.5 Korelované změny ve spotřebě a konverzi krmiva

Obě přímé selekce na tělní tuk (abdominální tuk, VLDL) měnily u kuřat spotřebu krmiva. Linie s vyšším obsahem tuku měly zhruba o 15% vyšší spotřebu krmiva než linie s nižším obsahem tuku. Hyperfágie (přežíráání) nebyla přesto považována za hlavní příčinu obezity. Leclercq a Saadoun (1982) stejně tak jako Geraert se svými spolupracovníky (1987) experimentálně prokázali, že se restrikcí krmiva tučnost HF kuřat snižuje, ale neeliminuje.

Vyšší tučnost a vyšší spotřeba krmiva byla u linií HF spojena s horší konverzí krmiva (Buyse a kol., 1999). Při společné testaci linií selektovaných podle abdominálního tuku ve Francii a Izraeli bylo zjištěno, že lepší konverze krmiva dosáhly LF linie jak v prvních 4 týdnech výkrmu, tak během následujících 3 týdnů, na jejichž konci byl výkrm ukončen (Buyse a kol., 1999).

2.3.6 Korelované změny ve složení těla

Společný test izraelských a francouzských linií také prokázal, že významnou korelovanou změnou je při obou selekcích změna v tělním obsahu dusíkatých látek a množství prsní svaloviny. Jatečná těla obou HF linií obsahovala ve stejném věku (4. a 7. týden věku) méně dusíkatých látek a nižší podíl prsní svaloviny než těla LF linií. Obdobné meziliniové rozdíly v obsahu tělního proteinu a prsní svaloviny byly patrné i při porovnání ve stejné hmotnosti 1 725 g (Buyse a kol., 1999).

2.3.7 Korelované změny v reprodukci

Srovnání reprodukčních ukazatelů tučných a libových kuřat bylo věnováno několik prací (Leclercq a kol., 1985; Hermier a kol., 1984; Cahaner a kol., 1986). Bohužel, vyvození obecnějších poznatků zabránily odlišné krmné režimy (krmení ad libitum versus restrikce krmiva), které byly v pokusech aplikovány.

Ukazatele snášky francouzských linií byly analyzovány za krmení ad libitum a při restringované krmné dávce (85% dávky ad libitum). Linie HF a LF produkovaly obdobný počet vajec na obou krmných režimech, lišily se však v hmotnosti a složení vajec. Linie LF snášela těžší vejce s vyšším obsahem bílku. Vejce linie HF obsahovala naopak vyšší procento sušiny, vyšší procento proteinu a vyšší podíl žloutkové hmoty.

U izraelských linií byla restrikce krmiva použita již během odchovu a byla provedena na absolutním základě. Díky vyšší spotřebě krmiva u linie HF lze tedy předpokládat, že omezení přísunu živin bylo u této linie relativně vyšší než u linie LF. Linie se tentokrát lišily v hmotnosti a složení vajec, zrovna tak jako v jejich produkci. Linie LF produkovala více vajec a její vejce byla těžší než u linie HF. Obsahovala také více suchého bílku. Vejce linie HF měla vyšší podíl žloutkové hmoty.

2.3.8 Korelované změny v energetickém metabolismu

Protože bylo využitím restrikce krmiva prokázáno, že nelze obezitu HF kuřat spojovat pouze s jejich sklonem k přejídání, byla značná pozornost věnována meziliniovým diferencím v energetickém metabolismu (Leclercq a Saadoun, 1982, Geraert a kol., 1988, MacLeod a kol., 1988). Provedené experimenty neprokázaly, že by se linie LF a HF lišily ve schopnosti metabolizovat zadržanou energii. Proto se autoři přiklonili k názoru, že rozdíly v tučnosti jsou způsobeny odlišným přerozdělováním stejného množství zadržené energie mezi tukovou a svalovou tkáň (Hyánková a Knížetová 1993, Buyse a kol., 1999).

2.3.9 Korelované změny v růstu

Analýze korelovaných změn v růstových schopnostech kuřat HF a LF linií se věnovali pouze francouzští odborníci (Leclercq, 1988, Leclercq a kol., 1989). Prokázali, že kuřata selektovaná na vysoký podíl abdominálního tuku rostou během rané (autoakcelerační) fáze pomaleji než kuřata selektovaná na nízký podíl abdominálního tuku. V pozdní (autoretardační) fázi rostla tato kuřata naopak rychleji a dosahovala i vyšší hmotnosti těla v pohlavní dospělosti. Analýzou růstu pomocí matematické funkce odhalili, že se tyto meziliniové diference promítají především do polohy inflexního bodu. Linie LF dosahovala inflexního bodu růstové křivky o 3 až 6 dní později než linie HF.

2.4 Selektce na tvar růstové křivky

Změnu tvaru růstové křivky lze definovat, jako odlišnou změnu v rychlosti růstu v jednotlivých věkových kategoriích. První snahy o jeho genetickou změnu lze zaznamenat v 60. letech minulého století, kdy byla ověřena účinnost tzv. antagonistické selekce. Jednalo se o současnou selekci na vyšší živou hmotnost v raném věku a nízkou hmotnost v pozdním věku a nebo naopak (Abplanalp a kol., 1963; Merritt, 1974). Této selekce bylo později využito v experimentu na kuřatech (Ricard, 1975). Její rané výsledky naznačily, že by změna tvaru růstové křivky mohla souviset s tučností organismu (Ricard, 1978). Od dalšího systematického studia korelovaných změn se však v tomto selekčním pokusu záhy upustilo.

Další selekční experiment, který výrazně měnil tvar růstové křivky, byl realizován Barbatem (Barbato, 1992). Jednalo se o selekci u brojlerových kuřat, při níž se divergentně měnil pokles intenzity růstu v raných věkových kategoriích (během 14 nebo 42 dní věku). Tato selekce přinesla řadu cenných poznatků. Avšak, podobně jako v experimentu Ricarda (1975), nemohly být veškeré korelované změny přičítány pouze změně tvaru růstové křivky, protože selekcí docházelo také k významnému rozlišení linií v růstovém potenciálu (dospělé hmotnosti). Omezení

interferujících efektů celkového genetického potenciálu odrážejícího se ve finální hmotnosti se podařilo až v selekčním experimentu na japonských křepelkách (Knížetová a kol., 1995, Hyánková a kol., 2001), jehož iniciátoři se řadu let zabývali podrobným studiem růstových křivek drůbeže pomocí matematické funkce (Knížetová a kol., 1985, 1991a, 1991b, 1992, 1994, 1995a, 1995b; Hyánková a kol., 1997, 2001, 2002).

Experimentální materiál tohoto týmu představovaly 2 linie masného typu japonských křepelek, které byly divergentně selektované na tvar postnatální růstové křivky bez podstatné změny dospělé hmotnosti. Jejich základní populace byla vytvořena ze čtyř syntetických populací, které byly systematicky kříženy po 4 generace. Každá ze selektovaných linií byla v jednotlivých generacích udržována ve velikosti 30 kmenů (1 ♂ + 3 ♀/kmen) (Hyánková a kol., 2001).

Ke změně tvaru růstové křivky byla využita selekce na relativní přírůstek mezi 11. a 28. dnem věku ($RG_{28} = (BW_{28} - BW_{11})/BW_{28}$), která měnila směrnici lineární části růstové křivky. U linie HG (high gain), která byla selektována na vysoký relativní přírůstek, se směrnice napřimovala. U linie LG (low gain), která byla selektována na nízký přírůstek, se naopak pokládala. Obdobná dospělá hmotnost byla u linií udržována stabilizační selekcí ve 49 dnech věku (90 – 95% dospělé hmotnosti). V žádné generaci selekce nepřevyšovaly meziliniové rozdíly v dospělé hmotnosti hodnotu 10%.

2.4.1 Korelované změny v růstu a parametrech růstové křivky

Možnost selekce na tvar růstové křivky pomocí 2 uvedených selekčních kritérií byla potvrzena již během prvních generací selekce (Hyánková a kol., 2001). Linie LG dosahovala vyšší hmotnosti do 24. dne věku, kolem 28. dne věku se růstové křivky linií překřížily a v pozdějších věkových kategoriích dosahovala o něco vyšší hmotnosti linie HG. Rozdílná růstová rychlost byla nejlépe patrná při relativním srovnání hmotnosti obou linií. Zatímco během prvních dní po vylíhnutí rostla rychleji linie LG, od 2. do 6.

týdne věku, tj. do pohlavní dospělosti, dosahovala vyšší rychlosti růstu linie HG.

Analýza postnatálního růstu pomocí Richardsovy funkce prokázala (Hyánková, 2001), že rozdíly mezi liniemi se promítají zejména do délky akcelerační růstové fáze. Linie HG dosahovala inflexního bodu růstové křivky v průměru o 5 dní později než linie LG (♀♀HG vs LG : 20,6 vs 15,6 dní; ♂♂HG vs LG:18,6 vs 14,1 dní).

2.4.2 Korelované změny ve spotřebě a konverzi krmiva

Nižší přírůstky linie HG během 1. týdne života byly spojeny v 6. generaci selekce s nižším příjmem krmiva bezprostředně po vylíhnutí a lepší konverzí krmiva během 5 týdenního výkrmu (Hyánková a kol., 2001). Z grafu, do kterého byla vynesena kumulativní spotřeba krmiva proti kumulativnímu přírůstku hmotnosti bylo evidentní, že linie HG spotřebovala do porážkové hmotnosti 180g o 65g méně krmiva nežli linie LG (615g vs 550g).

2.4.3 Korelované změny ve složení těla

Meziliniové rozdíly v postnatálním růstu byly spojeny s odlišným složením těla. V pokusu, který byl proveden po 18. generaci selekce, bylo prokázáno, že od 2. do 5. týdne věku obsahují trupy linie HG vyšší podíl prsní a stehenní svaloviny, nižší podíl abdominálního tuku (Hyánková a kol., 2008) a nižší koncentraci celkového tělního tuku (Hyánková a kol., 2005).

2.4.4 Korelované změny v nárocích na obsah dusíkatých látek v krmivu

Paralelní výkrm obou linií na nízké (216g NL, 11,8 MJ ME/kg) a standardní (259g NL, 11,8 MJ ME/kg) hladině dusíkatých látek v krmivu ve startovací růstové fázi (0-21 dní věku) odhalil odlišné nároky linií HG a LG na obsah dusíkatých látek ve směsi. HG linie reagovala na pokles

proteinu v krmivu sníženou spotřebou krmiva, linie LG se snažila překonat nedostatečný přísun živin naopak jeho zvýšenou spotřebou (Hyánková a Knížetová, 2009).

2.4.5 Korelované změny v reprodukci

Reprodukční ukazatele linií byly doposud srovnávány pouze u samic v 6. a 7. generaci selekce, a to na základě ukazatelů prvních 5 týdnů snášky (Hyánková a Novotná, 2007). Bylo prokázáno, že se v těchto raných generacích lišily linie LG a HG v nástupu pohlavní dospělosti. Křepelky linie LG dospívaly pohlavně dříve (42 dní vs. 44 dní) a při nižší hmotnosti (230,3 g vs. 247,2 g) nežli křepelky linie HG. Zajímavým zjištěním přitom bylo, že obě linie dosáhly při zahájení snášky obdobného stupně dospělosti z hlediska hmotnosti (okolo 92-93%), tj. stejného podílu živé hmotnosti z finální hmotnosti v 70 dnech věku.

2.4.6 Korelované změny v rychlost vývoje během postnatálního období

Porovnáním polohy inflexního bodu a nástupu pohlavní dospělosti v 6. generaci selekce bylo navíc prokázáno, že odlišný tvar růstové křivky je charakteristický nejenom odlišnou délkou autoakcelerační, ale i autoretardační růstové fáze. Linie LG má kratší autoakcelerační fázi, linie HG má kratší naopak autoretardační fázi. Tyto meziliniové rozdíly spolu s rozdíly mezi liniemi LG a HG ve spotřebě krmiva, složení těla a kvalitě vajec při nástupu snášky odhalily, že pokles masné užitkovosti (realizována především v akcelerační fázi), stejně jako pokles ukazatelů reprodukce (realizována v retardační fázi) by mohly být vysvětleny zkrácením časových rozestupů mezi jednotlivými vývojovými ději, které v dané fázi probíhají (Hyánková a Novotná, 2007).

2.4.7 Korelované změny v embryonálním růstu a vývoji

Nejvýraznější diference mezi liniemi existují v růstu během prvního týdne života, proto bylo možné předpokládat, že změna tvaru růstové křivky se významně promítá i do vývoje a růstu během embryogeneze. Ověření tohoto předpokladu byla věnována pozornost v 9, 10. a 13. generaci selekce.

Analýza prokázala, že linie LG byla vývojově urychlená ve srovnání s linií HG v průběhu celé embryogeneze. Její urychlený vývoj byl patrný již v nejranějších stádiích. Ve 12 a 24 hodinách to bylo evidentní z většího průměru blastodermu, ve 24 a 42 hodinách z vyšší frekvence vyšších vývojových stádií a ve 42 hodinách také z většího počtu somitů (Hyánková a kol., 2004). Na konci embryogeneze (16. den inkubace) se vývojové urychlení linie LG projevovalo kratší inkubační dobou (LG 412 hodin vs HG 416 hodin) a vyšším podílem embryí se zataženým žloutkovým váčkem do dutiny břišní (LG 83% vs HG 66%) (Hyánková a kol., 2004).

Embryonální růst obou linií vykazoval exponenciální trend. Při relativním srovnání hmotností embryí (LG=100%) však bylo možné zaznamenat 3 periody, kdy linie HG rostla na přechodnou dobu pomaleji než linie LG a následně své hmotnostní ztráty kompenzovala relativně vyšší růstovou rychlostí. První taková perioda byla mezi oplozením a prvními hodinami inkubace, druhá mezi 3. a 4. dnem inkubace a třetí mezi 8. a 14. dnem inkubace. Protože kolem 3. dne inkubace dochází k propojení extra- a intra- embryonálního cévního systému a 7. den inkubace je charakterizován funkčním vyžíváním orgánů podílejících se na zpracování a využití živin (Romanoff a Romanoff, 1967), bylo možné předpokládat, že přechodná růstová retardace HG zárodků ve 2. a 3. periodě je vyvolána opožděným přechodem na vyšší vývojový stupeň umožňující efektivnější čerpání živin. Stejným způsobem, tj. opožděným přechodem z endogenní na exogenní výživu, lze zřejmě vysvětlit i nízký příjem krmiva a pomalý růst linie HG bezprostředně po vylíhnutí (Hyánková a kol., 2004).

2.5 Embryogeneze drůbeže

Vývoj zárodku začíná oplozením vajíčka a končí vylíhnutím životaschopného jedince. Na rozdíl od savců, kde celý vývoj probíhá v těle matky, lze u ptáků rozdělit embryonální vývoj na období před snesením vejce (před ovipozicí) a na období po snesení vejce.

K oplození vajíčka dochází v nálevce vejcovodu (Moran, 2007). Po splynutí samčí a samičí pohlavní buňky postupně vzniká zygota, morula, blastula a jako poslední útvar gastrula. Oplozené vajíčko je při průchodu vejcovodem nejprve obalováno bílkem v bílkotvorných kličkách, následně podskořápečnými blánami v děložním krčku a nakonec skořápkou v děloze (Marvan a kol., 1992).

Podle Morana (2007) a Oliveiry a kol., (2008) lze období po snesení vejce rozdělit na 3 stádia – stádium vytvoření zárodku, stádium dokončení zárodku a stádium líhnutí.

2.5.1 Embryonální vývoj

2.5.1.1 Stádium vytvoření zárodku

Toto stádium představuje u kuřecích zárodků období mezi ovipozicí a 7. až 8. dnem inkubace. V době ovipozice je zárodek zpravidla ve fázi pozdní gastruly a je tvořen 40 – 60 tisíci buněk (Eyal-Gilandi a Kochav, 1976). Po vložení do líhně se postupně vyvíjí extraembryonální obaly. Jako první se vyvíjí amnion, pak chorion a nakonec se tvoří alantois (Lofts a Murton, 1973). Amnion chrání zárodek před otřesy, umožňuje zárodku pohyb (Rous a kol., 1971). Chorion ve spojení se žloutkovým váčkem a amniem resorbuje vodu, kyslík a bílek (Marvan a kol., 1992). Alantois shromažďuje odpadní látky a umožňuje dýchání a příjem živin (Rous a kol., 1971).

V tomto stádiu se vytvářejí základy nervového systému, srdce a cévního systému, pohlavních i vyměšovacích orgánů, jater, žláz s vnitřní sekrecí a pohybového aparátu.

Pupeny horní a dolní končetiny se například zakládají v průběhu 3. dne inkubace (Hamburger a Hamilton, 1951, Ainsworth a kol., 2010). Zahájení růstu chrupavčitých základů dlouhých kostí obou končetin začíná mezi 4. až 6. dnem inkubace (Landsdown, 1968, 1970; Summerbell, 1974; Nakane a Tsudzuky, 1999; Sophie, 2010). K osifikaci kostí horní i dolní končetiny dochází mezi 7. až 8. dnem inkubace (Hamburger a Hamilton, 1951; Lansdown, 1968, 1970; Nakane a Tsudzuky, 1999; Holder, 1978).

Kolem 7. dne inkubace dochází u kuřecího zárodku k funkčnímu dozrávání orgánů podílejících se na zpracování a využití živin (Romanoff a Romanoff, 1967). Například játra se začínají vyvíjet 5. den, 6. den již obsahují první enzymy, ale většina z nich se objevuje až později (Romanoff a Romanoff, 1967). Ze začátku mají tyto enzymy nízkou aktivitu, která se během inkubační doby zvyšuje (Brunström, 1986).

2.5.1.2 Stádium dokončení embrya

Stádium začíná u kuřete mezi 7. až 8. dnem a končí v průběhu 19. dne inkubace. V prvních dnech stádia se začíná spojovat alantois s choriem, což vede k vytvoření jednotné blány chorioalantois (Moran, 2007). Krátce po jejím vytvoření dochází ke kompletnímu vytvoření cévního systému (Levinshon a kol, 1984). Přibližně v polovině inkubace je vyvinuto 95% všech tkání rozeznatelných u dospělého organismu (Freeman a Vince, 1974) a strukturálně je kuřecí zárodek vyvinut ve 14. dni inkubace (Oliveira a kol., 2008). V tomto stádiu se rychle vyvíjejí ledviny, plíce a játra, postupně dochází ke specializaci jednotlivých orgánů a zahájení jejich činnosti.

2.5.1.3 Stádium líhnutí

Před začátkem samotného líhnutí zasychá chorioalantois (Moran, 2007), amniotická tekutina je pozřena embryem (Oliviera a kol., 2008) a reziduální žloutkový váček se postupně vtahuje do dutiny tělní (Moran, 2007). Některé tkáně vlastního embrya však naopak prodělávají výrazný

narůst. Například jaterní tkáň roste rychleji nežli celé embryo (Romanoff, 1967).

2.5.2 Výživa embrya

2.5.2.1 Stádium vytvoření zárodku

Živiny získává zárodek nejprve z přilehlého žloutku (Litke a Low, 1975) a bílku (Deeming, 1989) stále rostoucím cévním systémem (Ribatti, 1995). I když je vývoj cévního systému zárodku patrný již krátce po snesení vejce (Moran, 2007), je příjem kyslíku v tomto stádiu výrazně redukován a omezuje se pouze na difuzi pomocí primitivního hemoglobinu (Ciotto a Arangi, 1989). V této době získává proto zárodek energii glykolýzou dostupné glukózy (Kucera a kol., 1984), která pochází z vnějšího řídkého bílku (Moran, 2007). Celkový obsah cukrů, které má embryo ve vejci k dispozici, tvoří méně než 1% ze všech živin obsažených ve vejci (Sato a kol., 2006).

2.5.2.2 Stádium dokončení embrya

Krátce po dokončení chorioalantoisu je možná výměna plynů (O_2 a CO_2) (Levinshon a kol., 1984, Baumann a Mauer, 1992). Zárodek tak může zpracovávat mastné kyseliny obsažené ve žloutku, které jsou v tomto stádiu hlavním zdrojem energie (Romanoff, 1960; Sato a kol., 2006, Moran 2007). Současně dochází k enormní spotřebě bílku, který je hlavní stavební látkou rychle se vyvíjejícího jedince.

2.5.2.3 Stádium líhnutí

V tomto období se stává nedostatek kyslíku opět limitujícím faktorem pro využití tuků ze žloutkového váčku a energetický metabolismus se „přepíná“ na využívání cukrů jako hlavního substrátu (Romanoff, 1967). Podle Hoiby a kol., (1987) dochází k tomuto anaerobnímu metabolismu u kuřat asi kolem 19. dne inkubace. Potřebná glukóza se získává štěpením

aminokyselin a je v podobě glykogenu ukládána do svalů a jater (Moran, 2007; Oliveira 2008). Podle Donaldsona (1995) je přežití vznikajícího jedince závislé na zásobách glykogenu nejenom během procesu líhnutí, ale dokonce až do doby než začne přijímat vnější potravu.

2.5.3 Vliv hmotnosti a složení vajec

Vývoj a růst během embryogeneze je u drůbeže značně závislý na obsahu živin, které matka do vejce uložila. Vzájemnému vztahu mezi hmotností a složením vajec a jejich vlivu na růst a vývoj embrya byla proto logicky věnována značná pozornost.

Významný vliv násadového vejce na velikost embrya se údajně projevuje od 3. třetiny inkubace. Například podle Al-Muraniho (1978), lze u kuřat zaznamenat významný vliv hmotnosti násadového vejce teprve po 14. dni inkubace. Do dvou třetin inkubace jsou hodnoty korelací zpravidla mírně negativní nebo nulové a teprve později významně narůstají (McNary a kol., 1960; Hasan a Nordskog, 1969).

Nejlepší líhivost oplozených vajec je v rámci populace zjišťována u středně velkých vajec (Petersen, 1984; Connor, 1986; Narahari a kol., 1988; Lawrence a kol. 2004). Jak je však zřejmé z některých prací (Lerner a Guns, 1952; Xu a Mortola, 1988) může být obecná platnost tohoto pravidla omezena selekčním tlakem, který byl v dané populaci aplikován. Například v populaci selektované na vyšší hmotnost vajec byla lepší líhivost zaznamenána u vajec, jejichž hmotnost byla nižší nežli průměr celé populace (Lerner a Guns, 1952).

Podle řady autorů má hmotnost vajec vliv i na délku inkubace. Většina z nich uvádí, že v rámci populace se kuřata z malých vajec líhnou dříve než kuřata, jejichž vejce jsou větší (Rahn a Ar, 1974; Wilson, 1974; Krumpala a Fasenko, 2004; Ulmer-Franco a kol., 2010).

Pozitivní vztah mezi hmotností vejce a délkou inkubace však nebývá potvrzen v případech, kdy je délka inkubace ve vztahu k hmotnosti vejce sledována v téže populaci v závislosti na věku nosnic. Zvětšování vajec

s narůstajícím věkem bývá doprovázeno zkracováním inkubační doby (Smith a Bohren, 1975; Shanawany, 1984; Suarez et al., 1997; Vieira a Moran, 1998; Hudson a kol., 2004; Hamidu a kol., 2007; Ulmer-Franco a kol., 2010).

Tyto zdánlivé rozpory ve vztahu hmotnost vejce – doba inkubace naznačují, že hmotnost vejce (kvantita vaječné hmoty) nemusí být sama o sobě faktorem, který určuje rychlost embryonálního vývoje. Podle dostupných prací se zdá, že větší význam by mohla mít kvalita (složení) vaječné hmoty. Zatímco difference ve hmotnosti vajec v rámci populace/populací slepic jsou dány především odlišným podílem bílku (Kirikci a kol., 2007), rozdíly ve hmotnosti vajec v závislosti na věku jsou spojovány především s vyšším podílem žloutku (Ulmer-Franco a kol., 2010). Navíc je zřejmé, že i kvalita jednotlivých složek vejce může významně ovlivňovat rychlost či úspěšnost líhnutí. Například Benton et al. (1997) a Peebles a kol. (2000) uvádějí, že vyšší kvalita bílku (větší výška bílku, nižší obsah vody) snižuje líhivost a prodlužuje délku inkubace.

3 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo ověřit rozdíly v embryonálním růstu a vývoji mezi liniemi HG a LG, které byly více než 30 generací divergentně selektovány na tvar růstové křivky. Diference byly analyzovány jednak na úrovni celého embrya, jednak na úrovni kosterní soustavy. Zvláštní pozornost byla zaměřena na složení a hmotnost vajec obou linií, které by mohly ovlivňovat nejen velikost embrya na konci inkubace, ale i rychlost jeho vývoje během prvních inkubačních hodin.

Hypotéza

Odlišný tvar postnatální růstové křivky linie HG a LG je způsoben jejich odlišnou vývojovou rychlostí. Linie HG je ve srovnání s linií LG vývojově opožděná již během prenatalní periody. Vývojové opoždění se promítá do růstu celého embrya, stejně tak jako do růstu a vývoje jeho jednotlivých soustav. Lze předpokládat, že na konci inkubace stejně tak jako v jejich prvních hodinách se na tomto vývojovém opoždění může vedle genotypu vlastního embrya podílet i maternální efekt - hmotnost a složení vajec.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Vývoj a růst embryí HG a LG během inkubace

4.1.1 Sběr a inkubace vajec

Násadová vejce určená ke studiu embryonálního vývoje a růstu pocházela od nosnic linie HG a LG z 31. generace selekce. V době sběru násadových vajec byly nosnice ve stáří 14 až 18 týdnů.

Vejce byla sbírána každé ráno od 80 nosnic/linii. Po odstranění nestandardních vajec, byla zbylá vejce individuálně zvážena a uložena na proložky do skladu vajec, kde se teplota vzduchu pohybovala mezi 12 až 13°C. Druhý den byla vejce přemístěna do inkubátoru s automatickým naklápěním vajec, kde byla posléze inkubována při teplotě $37,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ a relativní vlhkosti 55%.

4.1.2 Raný embryonální vývoj

Rychlost vývoje obou linií během rané inkubační perody byla hodnocena na základě průměru blastodermu ve 12 a 24 hodinách inkubace, vývojových stádií ve 24 a 42 hodinách inkubace a počtu somitů ve 42 hodinách inkubace. Vývojová stádia byla určena s použitím binokulární lupy a klasifikována podle Hamburgera a Hamiltona (1951). Průměr blastodermu, vývojová stádia i počet somitů byly zjišťovány přímo ve vejci přes vyříznutý otvor ve skořápce po obarvení několika kapkami nilské modři (FLUKA, Switzerland) rozpuštěné ve fyziologickém roztoku (1:1000). Celkem bylo analyzováno 131 embryí každé linie.

4.1.3 Embryonální růst

Prenatální růst linie LG a HG byl charakterizován na základě hmotností ve 4., 5., 6., 8., 10., 12., 14. a 16. dni inkubace. Před vážením na digitálních vahách (přesnost na 0,001g) byla embrya ve většině věkových kategorií (4. – 14. den inkubace) pouze vyjmuta z vejce a osušena savým

papírem. Na konci inkubace (16. den) byla embrya před vážením a stanovením stupně vývoje navíc usmrcena parami formaldehydu. Embrya s viditelnými vývojovými vadami byla, podobně jako v 1. experimentu, vyřazena. V experimentu bylo použito celkem 774 embryí, tj. v průměru 48 embryí/linii/den.

4.1.4 Embryonální vývoj na konci inkubace

K hodnocení meziliniiových rozdílů ve stupni vývoje byla na konci inkubace (16. den inkubace) využita relativní hmotnost žloutkového váčku (1) a jeho zatažení do dutiny břišní (2). Rychlost prenatalního vývoje byla navíc definována na základě délky inkubace (3).

Pro stanovení výše uvedených vztahů (1 a 2) bylo využito 72 embryí každé linie. Na rozdíl od experimentu 2 (růst embryí), kdy byla využita pouze vejce s průměrnou hmotností, byla v tomto experimentu nasazena i vejce s extrémní hmotností. Před umístěním do inkubátoru byla rozdělena podle hmotnosti do tří početně stejných skupin. Jednalo se o malá vejce (hmotnost v rozpětí 11,5-12,5g), středně velká vejce (12,6-13,6g) a vejce velká (13,7-14,8g). Po ukončení inkubace (16. den) byla embrya opět usmrcena parami formaldehydu. Ke stanovení jejich hmotnosti a hmotnosti žloutkových váčků byly použity digitální váhy (přesnost na 0,001g).

Pro určení délky prenatalní periody (3) byl v pravidelných čtyřhodinových intervalech zaznamenáván celkový počet vylíhlých kuřat/linii v časovém intervalu 349 - 456 hodin inkubace, tj. od přenesení vajec do dolíhne (14,5. den inkubace) po ukončení celkového líhnutí (19. den inkubace). Meziliniiové rozdíly v délce prenatalní periody byly stanoveny na základě průměrné délky inkubace 95 kuřat linie LG a 85 kuřat linie HG.

4.1.5 Statistické vyhodnocení dat

Získaná data byla analyzována použitím statistického balíku SAS (SAS Institute, 2007). Procedura GLM byla využita pro analýzu většiny znaků.

Lineární model, který zahrnoval pouze efekt linie, byl použit pro analýzu průměru blastodermu, počtu somitů a hmotnosti embryí v jednotlivých dnech inkubace. Pro analýzu efektu hmotnosti vejce (experiment 3) zahrnoval lineární model kromě efektu linie i efekt hmotnostní kategorie vajec a jejich interakci:

$$Y_{ijk} = \mu + l_i + s_j + (ls)_{ij} + e_{ijk}$$

kde Y_{ijk} je hmotnost embrya nebo žloutkového váčku k-tého jedince z i-té linie a j-té kategorie vejce, μ je průměr, l_i je efekt i-té linie, s_j je efekt j-té kategorie vejce, $(ls)_{ij}$ je efekt interakce mezi liniemi a hmotností vejce a e_{ijk} je reziduální chyba. Významnost daných efektů byla v obou případech testována pomocí t-testu.

Pro hodnocení rozdílu mezi liniemi ve frekvenci vývojových stádií byla použita procedura GENMOD (SAS, 2007). Významnost efektu linie byla testovaná pomocí χ^2 -testu.

4.2 Embryonální růst a osifikace kostí

K charakteristice růstu kostí byla využita tatáž embrya, která v předchozím studiu sloužila k popisu prenatálního růstu obou linií. Konkrétně se jednalo o embrya vážená v 6., 8., 10., 12., 14. a 16. dni inkubace.

U dolní končetiny byla pozornost zaměřena na růst a osifikaci kosti stehenní, holenní a běhákové, u horní končetiny na kost pažní a loketní. Měřeny byly vždy končetiny na pravé straně embrya. V experimentu bylo použito celkem 360 embryí, tj. 30 embryí na linii a stádium.

4.2.1 Příprava embryí na osteometrická měření

Pro zviditelnění chrupavčitých a osifikovaných tkání embrya byla použita modifikovaná metoda Wilsona (1965), která umožňuje sledování růstu a osifikace skeletu bez nutnosti preparace jednotlivých kostí. Embrya byla nejprve fixována v 100% ethanolu pro odstranění vody. Po té byla

chrupavčitá tkáň barvena alciánovou modří a embryo opět odvodněno v 100% ethanolu. Následně byla embrya projasněna v 1% KOH a jejich kostní tkáň barvena alizarinovou červení. Protože se s narůstajícím stářím a hmotností embryí měnila kompaktnost jednotlivých tkání embrya, a tím i prostupitelnost barviva měkkými tkáněmi, bylo nutné dobu působení jednotlivých roztoků úměrně prodlužovat:

doba inkubace (dny)	doba působení (hodiny/dny)				
	100% Etanol	alciánová modř	100% ethanol	1% KOH	alizarinová červeň
6	2 d	2 d	2 d	2 h	-
8	2 d	2 d	2 d	2 h	2 d
10	2 d	2 d	3 d	2 h	2 d
12	2 d	2 d	3 d	2 h	3 d
14	3 d	2 d	3 d	3 d	4 d
16	3 d	3 d	5 d	5 d	4 d

h-hodiny d-dny

Od 10. dne inkubace bylo nutné pro získání optimálního výsledku dokonce stahovat kůži, během fixace 100% ethanol několikrát vyměňovat a při barvení roztok pravidelně protřepávat. Chrupavčitá a kostní tkáň jednotlivých kostí byla měřena bezprostředně po dokončení barvení. K měření byla použita binokulární lupa s měřítkem v okuláru.

4.2.2 Statistické vyhodnocení dat

Získaná data byla analyzována použitím statistického balíku SAS (SAS Institute, 2007). Pro hodnocení všech sledovaných znaků (délky celých kostí a jejich osifikovaných částí) byla využita procedura GLM, jejíž lineární model zahrnoval pouze efekt linie:

$$Y_{ij} = \mu + l_i + e_{ij}$$

kde Y_{ij} je délka kosti nebo její osifikované části u j-tého jedince z i-té linie, l_i je efekt i-té linie, a e_{ij} je reziduální chyba. Významnost meziliniových diferencí byla testována pomocí t-testu na hladině významnosti $P = 0,05$.

4.3 Hmotnost a složení vajec

Násadová vejce použitá k charakteristice fyzikální kvality a chemického složení vajec obou linií pocházela od nosnic 32. generace selekce. V době sběru násadových vajec byly nosnice staré 22 až 24 týdnů

4.3.1 Fyzikální kvalita vajec

Fyzikální kvalita byla stanovena u 90 vajec každé linie, které byly sebrány ve dvou po sobě jdoucích dnech, vždy dopoledne v době mezi 8:00 až 12:00 hodinou. Všechna vejce byla zanalyzována do 24 hodin po snesení.

Vejce bylo nejprve zváženo. Následně byla posuvným měřítkem určena jeho šířka a výška, které byly využity k výpočtu indexu tvaru vejce (šířka vejce/délka vejce*100). Pevnost a deformovatelnost skořápky byla hodnocena s využitím přístroje QC-SPA device (TSS England). Tloušťka skořápky (bez podskořápečných blan) byla změřena digitální mikrometrickou hlavicí (Mitutoyo, Kawasaki, Japan). Po rozboru skořápky byl oddělen bílek od žloutku. Jejich výška byla určena digitální mikrometrickou hlavicí (Mitutoyo, Kawasaki, Japan) a průměr posuvným měřítkem (s přesností na 0,01mm). Jejich rozměry byly využity k výpočtu indexu bílku a indexu žloutku (výška/průměr*100). Výška bílku a hmotnost vajec byla použita také pro výpočet Haughových jednotek (Haugh, 1937):

$$100 * \log(\text{výška bílku} - 1,7 * \text{hmotnost vajec}^{0,37} + 7,6)$$

Nakonec byla zvážena skořápka a žloutek. Hmotnost bílku byla dopočítána z rozdílu hmotnosti celého vejce, skořápky a žloutku.

4.3.2 Nutriční analýza vajec

K chemické analýze vajec bylo použito 250 vajec/linie. Tato vejce představovala pro každou linii 10 analyzovatelných vzorků (1 vzorek = 25 žloutků nebo 25bílku).

Homogenní vzorky každé složky vejce byly sušeny při 105°C do konstantní hmotnosti. Tuky v suchém žloutku byly určeny Soxhletovou extrakcí pomocí petroletheru (2055 Soxtec Avanti Manual Systém, Foss Tecator, Högenäs, Sweden). Obsah bílkovin v suchém bílku nebo v suchém žloutku byl zjištěn Kjeldahlovou metodou (Autosampler Kjeltec 2460, Foss Tecator, Högenäs, Sweden).

4.3.3 Statistická analýza dat

K vyhodnocení meziliniových diferencí ve všech sledovaných znacích popisujících fyzikální a chemické složení vajec byla použita procedura GLM statistického balíku SAS (SAS, 2007). Lineární model zahrnoval pouze efekt linie:

$$Y_{ij} = \mu + l_i + e_{ij}$$

kde Y_{ij} je znak fyzikální (chemické) kvality vajec j -tého jedince (vzorku) z i -té linie, l_i je efekt i -té linie, a e_{ij} je reziduální chyba. Významnost meziliniových diferencí byla testována pomocí t -testu na hladině významnosti $P = 0,05$.

5 VÝSLEDKY

5.1 Hmotnost a fyzikální kvalita vajec

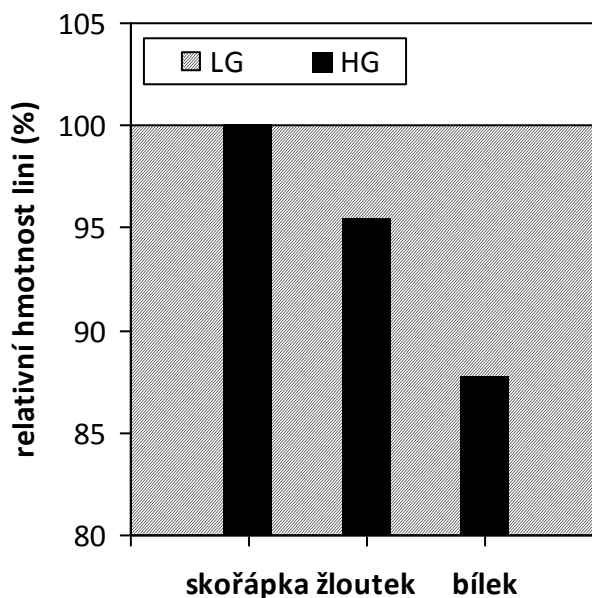
Liniové difference byly zjištěny v hmotnosti vajec a u 4 znaků charakterizujících fyzikální kvalitu vajec (tabulka 1). HG linie měla ve srovnání s linií LG o 1,5g nižší hmotnost vajec a její vejce byla charakteristická vyšším podílem skořápky a žloutku a nižším podílem a vyšší kvalitou bílku (Haughovy jednotky) ve srovnání s vejci linie LG. V dalších analyzovaných znacích, tj. v indexu tvaru vejce, žloutku a bílku, v barvě žloutku, deformovatelnosti, síle a tloušťce skořápky se linie významně nelišily.

Tabulka 1. Fyzikální vlastnosti vajec (průměr ± střední chyba)

Znaky		Linie	
		LG	HG
vejce			
	hmotnost (g)	13,39±0,14	12,39±0,08*
	index skořápky (%)	78,04±0,37	77,90±0,32
skořápka			
	podíl (%)	8,13±0,109	8,43±0,096*
	deformace (mm)	0,31±0,02	0,33±0,02
	pevnost (g.cm ²)	1558±30,92	1621±36,69
	tloušťka (mm)	0,20±0,003	0,19±0,002
bílek			
	podíl (%)	58,24±0,247	55,96±0,329*
	index (%)	10,81±0,305	11,54±0,347
	Haughovy jednotky	88,60±0,647	90,34±0,742*
žloutek			
	podíl (%)	30,22±0,221	31,58±0,262*
	index (%)	46,95±0,503	47,22±0,428
	barva	4,66±0,064	4,72±0,037

* P < 0,05

Graf 1. vyjadřuje hmotnost skořápky, žloutku a bílku u křepelk HG jako podíl hmotnosti těchto složek u křepelk LG. Dokumentuje, že nižší hmotnost HG vajec byla způsobena především nižší hmotností bílku. Relativní rozdíly mezi liniemi v hmotnosti skořápky, žloutku a bílku byly 0,5 a 12% ve prospěch linie LG.



Graf 1. Relativní difference v hmotnosti skořápky, žloutku a bílku mezi HG a LG křepelkami (LG = 100%; $HG = HG/LG * 100$)

5.2 Nutriční složení vajec

Výsledky uvedené v tabulce 2 demonstrují, že liniové difference byly zjištěny také v nutričním složení vajec. Vejce linie HG byla charakteristická vyšším obsahem dusíkatých látek v bílku i ve žloutku. Linie LG byla naopak charakteristická vyšším obsahem tuku ve žloutku a vyšším obsahem vody v bílku. Ve zbývajících znacích, tj. v sušině žloutku a v sušině celého vejce nebyly zjištěny podstatné meziliniové rozdíly.

Tabulka 2. Nutriční složení vajec (průměr ± střední chyba)

Znaky		Linie	
		LG	HG
vejce			
	sušina (g/kg)	312,90 ± 0,59	313,5 ± 0,87
	bílkoviny (g/kg)	110,7 ± 1,54	115,8 ± 0,85*
	tuk (g/kg)	153,5 ± 1,06	144,1 ± 0,85*
bílek			
	sušina (g/kg)	121,0 ± 0,57	123,4 ± 0,49*
	bílkoviny (g/kg)	100,3 ± 0,52	102,5 ± 0,47*
žloutek			
	sušina (g/kg)	504,9 ± 1,02	503,6 ± 1,71
	bílkoviny (g/kg)	121,0 ± 3,26	129,2 ± 2,15*
	tuk (g/kg)	307,0 ± 2,17	288,2 ± 1,70*

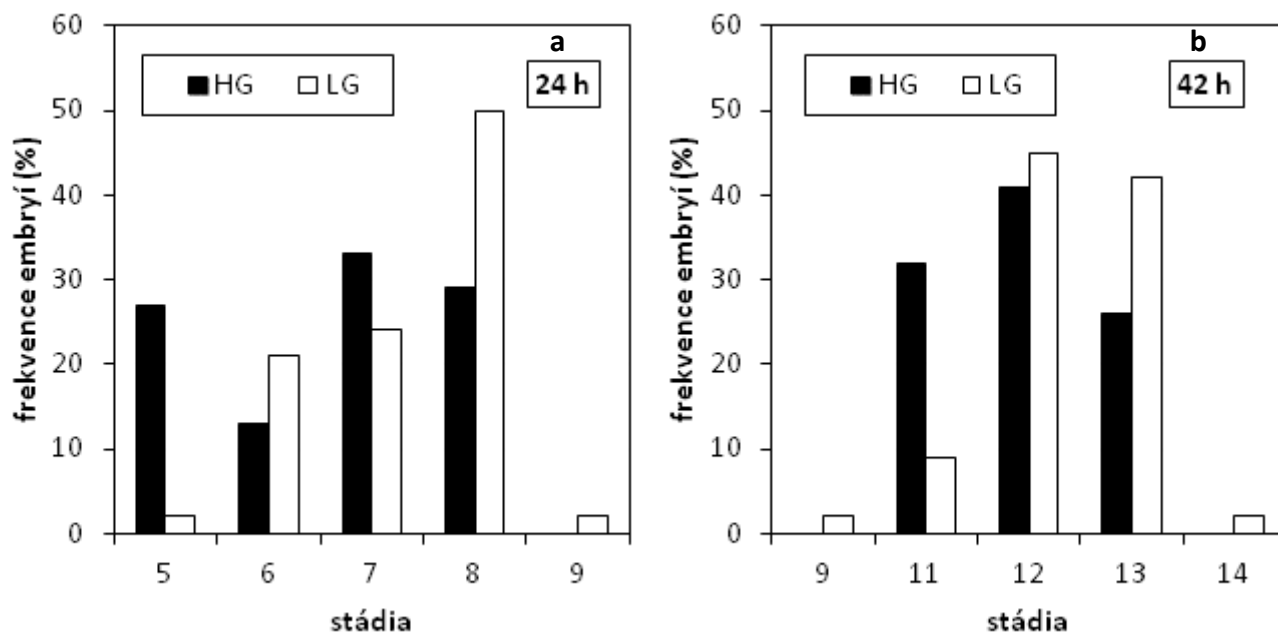
* P < 0,05

5.3 Raný embryonální vývoj

Výsledky získané při analýze časného embryonálního vývoje jsou uvedeny v tabulce 3 a grafech 2a a 2b. Tabulka 3 jasně dokládá, že embrya linie LG byla vývojově urychlená ve srovnání s embryi linie HG již v průběhu prvních 42 hodin inkubace. Je to zřejmé jak ze statisticky významně většího průměru blastodermu linie LG ve 12 (5,22 vs. 4,98 mm) a 24 (10,18 vs. 9,55 mm) hodinách inkubace, tak z jejího významně většího počtu somitů ve 42 (15,6 vs. 14,9) hodinách inkubace.

Vývojové urychlení linie LG je jednoznačně patrné také z grafu 2a, který znázorňuje frekvence výskytu jednotlivých vývojových stádií u linie LG a HG ve 24 hodinách inkubace. Graf dokumentuje, že ve 24 hodinách bylo více než 52% embryí linie LG ve stádiu 8 a 9, tj. nejvyšším možném stupni vývoje v této periodě inkubace, zatímco stejného stupně vývoje dosáhlo pouze 28% embryí linie HG. Zcela opačná situace nastává, jestliže hodnotíme frekvenci výskytu embryí v nejnižším stádiu zaznamenaném v tomto období inkubace, tj. ve stádiu 5 (HG 25,6% vs. LG 2,6%). Téměř stejné liniové diference jako v grafu 2a jsou zřejmé i v grafu 2b, který

zachycuje frekvence výskytu jednotlivých vývojových stádií u linie LG a HG ve 42 hodinách inkubace.



Graf 2. Frekvence vývojových stádií u obou linií ve 24 (a) a 42 hodinách (b) inkubace

Tabulka 3. Raný embryonální vývoj (průměr ± střední chyba)

vlastnost	diametr blastodermu (mm)				počet somitů	
	12		24		42	
inkubační doba (h)	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
linie HG	47	4,98 ± 0,130*	39	9,55 ± 0,177*	45	14,86 ± 0,315*
linie LG	45	5,22 ± 0,135	38	10,18 ± 0,177	48	15,63 ± 0,351

* P < 0,05 (ve sloupci)

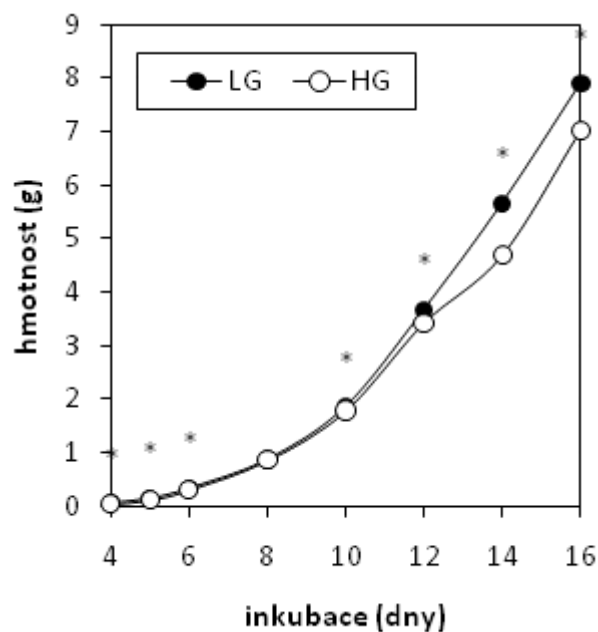
5.4 Pozdní embryonální vývoj

Rychlejší vývoj linie LG byl potvrzen také na konci inkubace. V 16. dni, kdy u křepelek dochází již k viditelnému proražení skořápky, měla u linie LG zatažený žloutkový váček do tělní dutiny většina embryí (95%), zatímco u linie HG pouze první třetina (32%). Také v délce inkubační periody došlo mezi liniemi k jednoznačnému rozlišení. Linie LG se

v průměru líhla o plných 17 hodin dříve než linie HG (doba líhnutí – LG : $390,5 \pm 1,17$ hodin, HG : $407,5 \pm 1,91$ hodin).

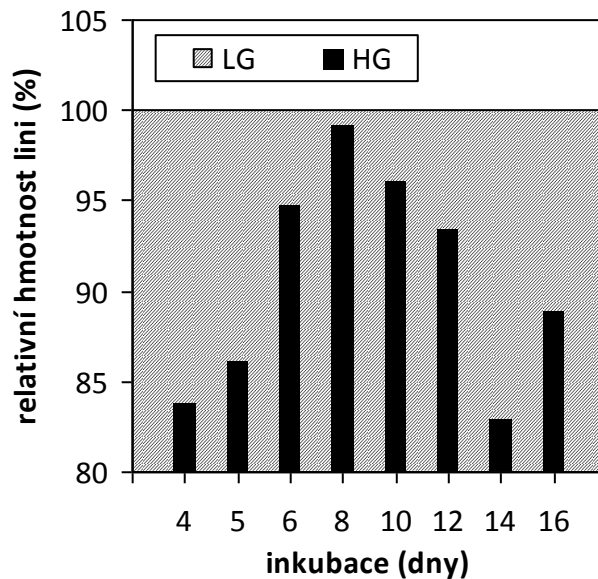
5.5 Embryonální růst

Hmotnosti embryí linií LG a HG v jednotlivých dnech inkubace jsou vyneseny v grafu 3. Graf na první pohled ukazuje, že průběh růstu obou linií měl stejný exponenciální trend pouze do 12. dne inkubace. Od 14. dne inkubace dosahovala vyšší hmotnosti embrya linie LG. Nicméně významné meziliniové rozdíly v hmotnosti embryí byly zaznamenány i v ranějších dnech inkubace.



Graf 3. Růstové křivky LG a HG embryí (*P < 0,05)

Tuto skutečnost lépe ilustruje graf 4, kde je hmotnost embryí HG vyjádřena jako podíl z hmotnosti embryí LG. Ukazuje, že s výjimkou 8. dne inkubace dosahovala HG embrya značně nižší hmotnosti než LG embrya. Odlišné meziliniové rozdíly v jednotlivých dnech inkubace navíc dokumentovaly, že rychlost růstu nebyla v jednotlivých fázích inkubace stejná u obou linií. V období mezi 4. až 8. a mezi 14. až 16. dnem rostla rychleji embrya linie HG, naopak před 4. dnem a mezi 8. až 14. dnem inkubace dosahovala vyšší rychlosti růstu linie LG.



Graf 4. Meziliniové rozdíly v hmotnosti embryí v jednotlivých dnech inkubace (LG=100%; HG=HG/LG*100)

5.5.1 Efekt hmotnosti vejce

Tabulka 4 ukazuje, že výrazné rozlišení linií v hmotnosti vajec se na konci inkubace významně promítalo do hmotnosti budoucího jedince. U linie LG, která měla vejce v průměru o 0,6g těžší než linie HG, vážila embrya včetně žloutkového váčku o 0,6g více než embrya linie HG. Tabulka 2 však současně dokládá, že na konci inkubace existovaly mezi liniemi také významné rozdíly v relativní hmotnosti embrya a residuálního žloutkového váčku. Jestliže byla jejich hmotnost vyjádřena jako podíl z hmotnosti násadového vejce, pak byla relativní hmotnost embrya linie LG významně větší než hmotnost embrya linie HG (59,3 vs. 55,2%), a naopak hmotnost žloutkového váčku linie LG významně menší než hmotnost žloutkového váčku linie HG (11,0 vs. 13,8%). Tyto liniové difference, byly jednoznačně patrné i v případě, že se násadová vejce v rámci každé linie rozdělila do 3 hmotnostně odlišných skupin. Přestože bylo zřejmé, že se v rámci obou linií měnila relativní hmotnost embrya i váčku v závislosti na hmotnosti násadového vejce (čím byla vejce větší, tím menší byla relativní hmotnost embrya a větší hmotnost váčku), zůstávaly difference mezi liniemi v podstatě konstantní.

Tabulka 4. Hmotnost embrya a žloutkového váčku v závislosti na hmotnosti vejce

Linie	Vejce		hmotnost (g)		podíl z násadového vejce (%)		
			vejce	embryo + váček	embryo	Váček	embryo + váček
LG	malá		12,62	8,90	59,9	10,6	70,6
	střední		13,28	9,27	59,1	10,7	69,8
	velká		14,06	9,91	58,9	11,6	70,5
HG	malá		11,93	8,26	55,8	13,4	69,2
	střední		12,71	8,80	55,5	13,7	69,2
	velká		13,51	9,25	54,2	14,2	68,4
		SEM	0,055	0,082	0,64	0,42	0,58
LG			13,32	9,36	59,3	11,0	70,3
HG			12,72	8,76	55,2	13,8	69,0
		SEM	0,034	0,051	0,38	0,25	0,35
	malá		12,27	8,58	57,9	12,0	69,9
	střední		13,00	9,03	57,3	12,2	69,5
	velká		13,78	9,58	56,5	12,9	69,5
		SEM	0,063	0,062	0,47	0,30	0,43

ANOVA (významnost efektů)

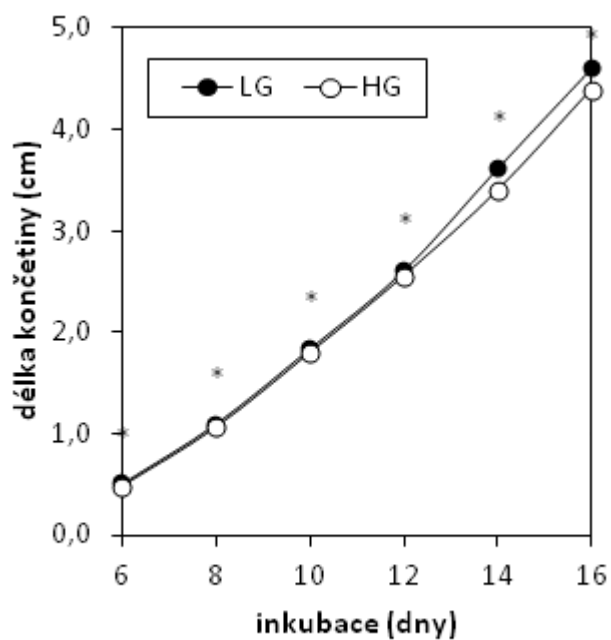
linie	*	*	*	*	*
hmotnost vajec	*	*	NS	NS	NS
linie x hmotnost vajec	NS	NS	NS	NS	NS

SEM – průměrná střední chyba; *P < 0,05; NS – nevýznamné difference

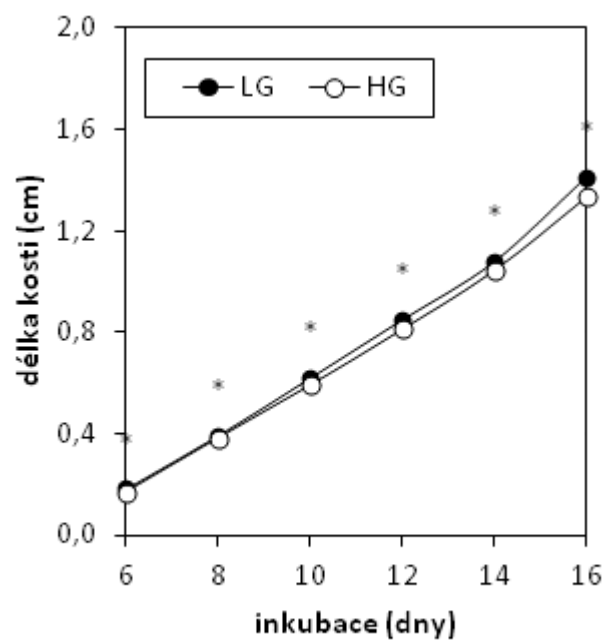
5.6 Růst kostí dolní a horní končetiny

Délka celé dolní končetiny a jejích jednotlivých kostí (kost stehenní, holenní a běháková) ve sledovaných dnech inkubace jsou znázorněny pro obě linie v grafech 5a - 5d. Grafy dokumentují, že růst všech kostí do délky měl u obou linií lineární trend. Lineární trend byl potvrzen také pro růst sledovaných kostí horní končetiny, tj. kosti pažní a loketní (grafy 6a – 6c). Pro podrobnější popis růstu jednotlivých kostí končetin byla proto využita jednoduchá lineární regrese, která umožnila porovnat růst sledovaných kostí nejenom z hlediska průměrného denního přírůstku (směrnice lineární funkce), ale také z hlediska nástupu jejich primární formace ($x = (y+b)/a$, kdy $y = 0$). Příslušné lineární regrese, jejich koeficienty determinace (R^2) a vypočtené nástupy tvorby chrupavčitého základu jednotlivých kostí jsou uvedeny v tabulce 5. Data dokumentují, že primární tvorba chrupavčitého základu budoucího skeletu měla u obou linií obdobné zákonitosti. Nejdříve vznikaly u obou linií základy kostí horní končetiny. O jeden až dva dny později se utvářely základy kostí dolní končetiny. V rámci každé končetiny existoval navíc v nástupu formace kostí proximálně distální trend (dolní končetina: stehenní → holenní → běhák; horní končetina: pažní → loketní).

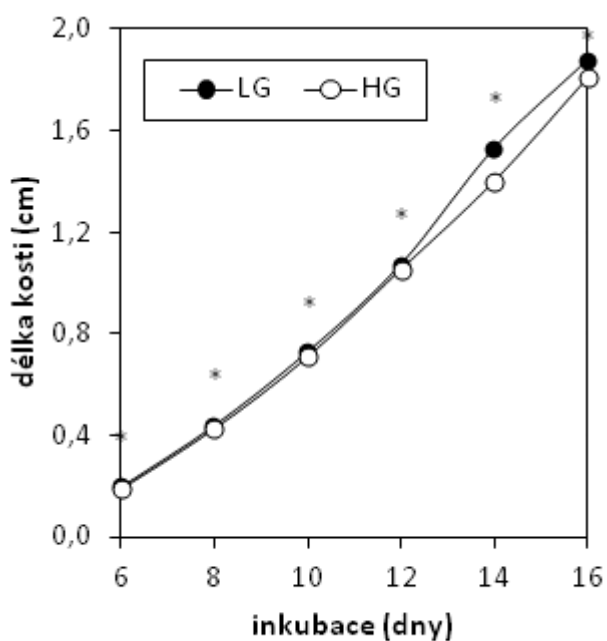
Z tabulky 5 dále vyplývá, že průměrná rychlost růstu (směrnice lineární funkce) byla během embryogeneze značně vyšší u kostí dolní končetiny nežli u kostí horní končetiny. U obou linií lze kosti z hlediska průměrného denního přírůstku seřadit následovným způsobem: holenní > stehenní > běhák > pažní > loketní. Tyto diference se logicky promítaly do délky jednotlivých kostí na konci inkubace. V 16. dni inkubace představovala průměrná délka sledovaných kostí (počítáno přes linie) konkrétně tyto hodnoty: kost holenní - 18,4 mm, kost stehenní - 13,8 mm, kost běháková - 12,9 mm, kost pažní 8,6 mm, kost loketní – 8,2 mm.



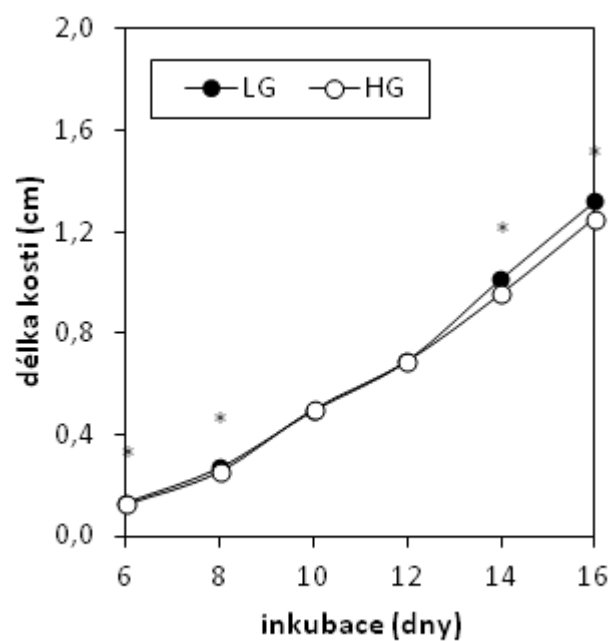
Graf 5a. Růst dolní končetiny (*P < 0,05)



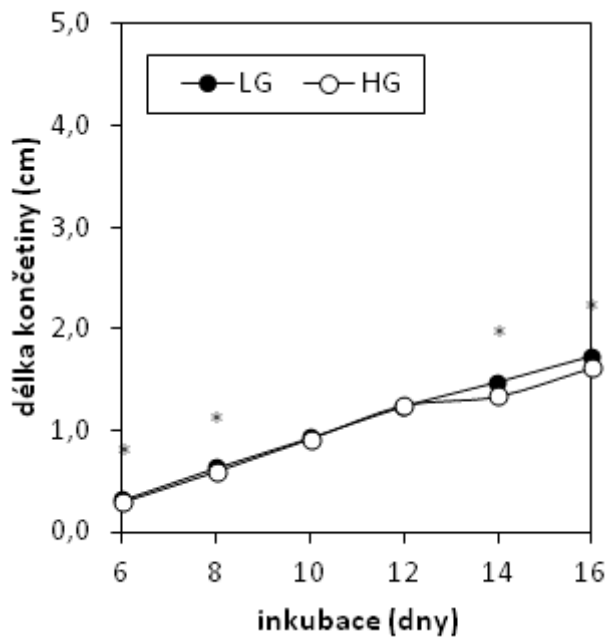
Graf 5b. Růst kosti stehenní (*P < 0,05)



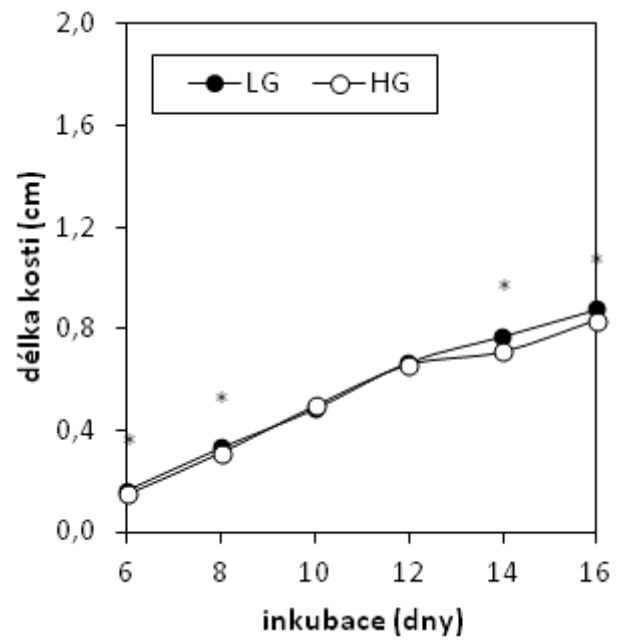
Graf 5c. Růst kosti holenní (*P < 0,05)



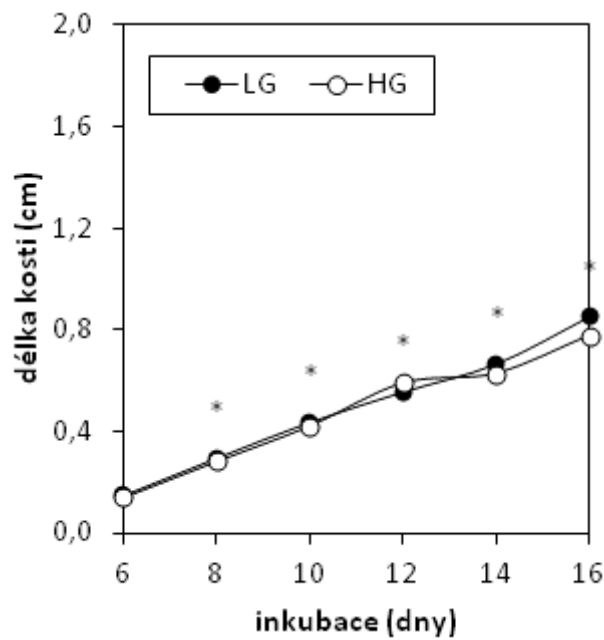
Graf 5d. Růst kosti běhákové (*P < 0,05)



Graf 6a. Růst horní končetiny (*P < 0,05)



Graf 6b. Růst kosti pažní (*P < 0,05)



Graf 6c. Růst kosti loketní (*P < 0,05)

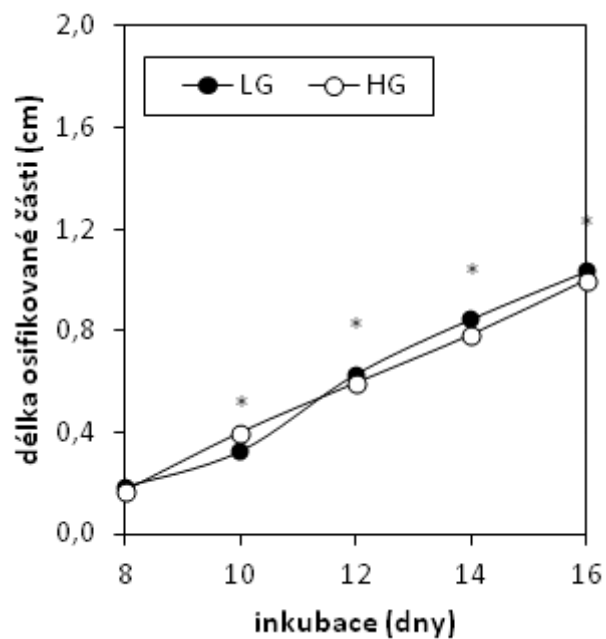
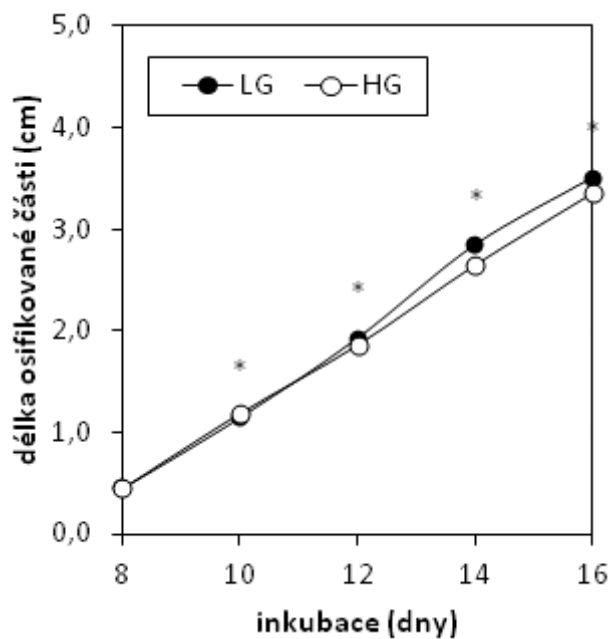
Tabulka 5. Charakteristika růstu kostí pomocí lineární regrese

Kost	Rovnice		Nástup chondrogenese (dny)		R ²	
	LG	HG	LG	HG	LG	HG
stehenní	$y = 0,120x - 0,57$	$y = 0,111x - 0,54$	4,75	4,86	0,98	0,97
holenní	$y = 0,171x - 0,91$	$y = 0,160x - 0,86$	5,32	5,38	0,97	0,97
běháková	$y = 0,121x - 0,66$	$y = 0,112x - 0,62$	5,45	5,54	0,98	0,98
pažní	$y = 0,070x - 0,25$	$y = 0,060x - 0,22$	3,57	3,67	0,98	0,97
loketní	$y = 0,069x - 0,25$	$y = 0,059x - 0,21$	3,62	3,68	0,97	0,98

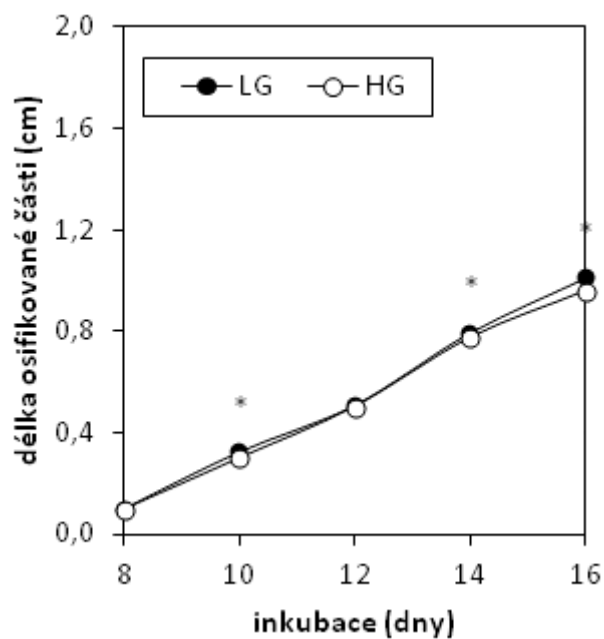
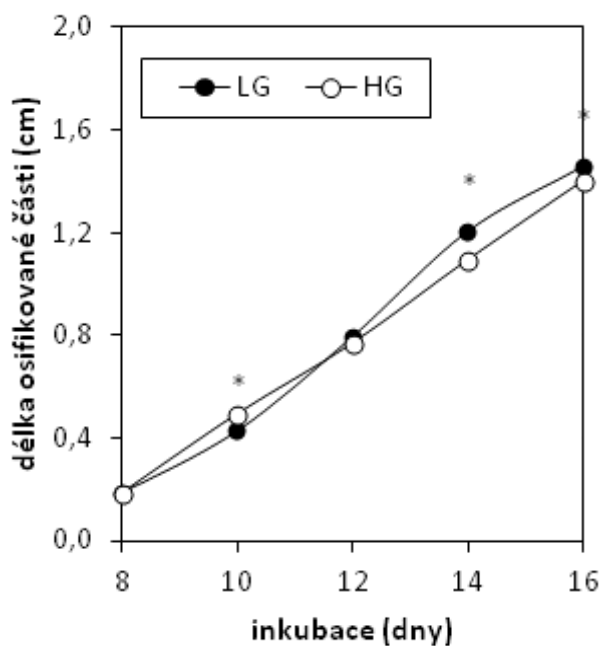
R² - koeficient determinace

5.7 Osifikace kostí horní a dolní končetiny

Osifikace sledovaných kostí dolní a horní končetiny měla některé společné rysy s růstem daných kostí do délky. Společným znakem obou procesů bezesporu bylo, že osifikace kostí podobně jako její růst vykazovala lineární trend. U dolní končetiny to bylo patrné během celé inkubace (grafy 7a – 7d), u kostí horní končetiny byl lineární trend nalezen pouze mezi 8 až 12 dnem inkubace (grafy 8a – 8c). Jestliže byl pro tuto období opět využit popis pomocí lineární regrese (tabulka 6), byly potvrzeny další vztahy mezi osifikací a růstem kostí do délky. Bylo zřejmé, že k nástupu osifikace dochází ve stejné posloupnosti jako při formaci základů jednotlivých kostí. Nejdříve se objevila centra osifikované tkáně u kostí horní končetiny. Později nastupovala osifikace kostí dolní končetiny. Navíc měl nástup osifikace v každé končetině proximálně distální směr (dolní končetina: stehenní → holenní → běhák; horní končetina: pažní → loketní). Další souvislost mezi osifikací a růstem kostí do délky potvrdily hodnoty průměrné rychlosti osifikace pro jednotlivé kosti (směrnice lineární funkce, tabulka 6). Čím byla kost na konci inkubace delší (holenní > stehenní > běhák > pažní > loketní), tím měla přírůstek osifikované části v jednotlivých dnech větší (holenní > stehenní > běhák > pažní > loketní).

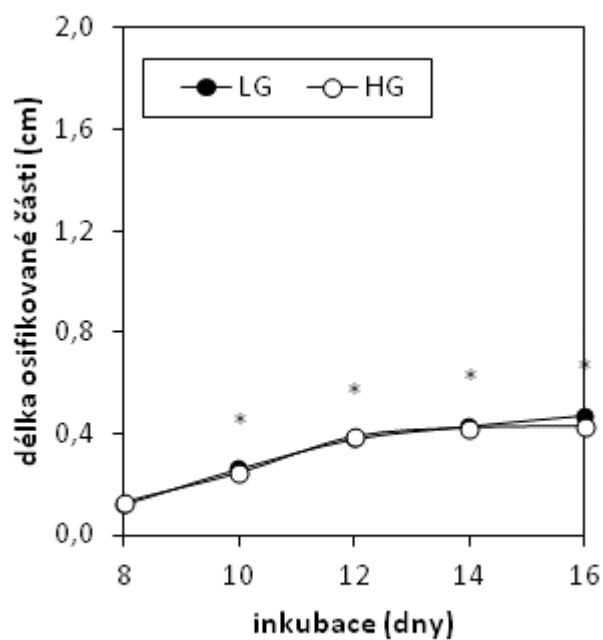
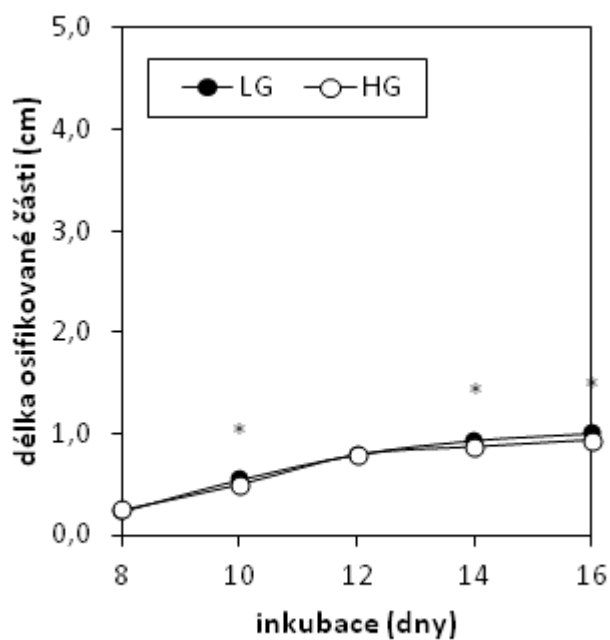


Graf 7a. Osifikace dolní končetiny (*P < 0,05) **Graf 7b.** Osifikace kosti stehenní (*P < 0,05)

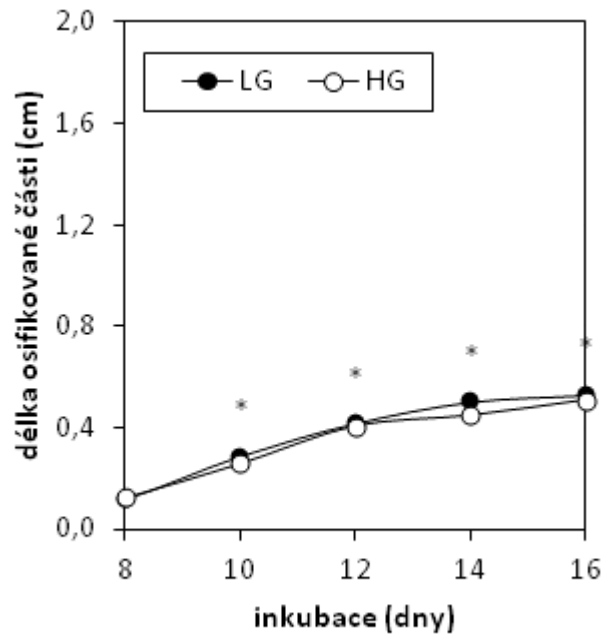


Graf 7c. Osifikace kosti holenní (*P < 0,05)

Graf 7d. Osifikace kosti běhákové (*P < 0,05)



Graf 8a. Osifikace horní končetiny (*P < 0,05) **Graf 8b.** Osifikace kosti pažní (*P < 0,05)



Graf 8c. Osifikace kosti loketní (*P < 0,05)

Tabulka 6. Charakteristika osifikace kostí pomocí lineární regrese

Kost	Rovnice		Nástup osifikace (dny)		R ²	
	LG	HG	LG	HG	LG	HG
stehenní	$y = 0,111x - 0,71$	$y = 0,100x - 0,65$	6,40	6,50	0,98	0,98
holenní	$y = 0,170x - 1,17$	$y = 0,150x - 1,04$	6,88	6,93	0,97	0,98
běháková	$y = 0,115x - 0,83$	$y = 0,109x - 0,79$	7,22	7,25	0,98	0,98
pažní	$y = 0,071x - 0,43$	$y = 0,067x - 0,41$	6,06	6,12	0,97	0,98
loketní	$y = 0,064x - 0,39$	$y = 0,063x - 0,40$	6,19	6,25	0,97	0,97

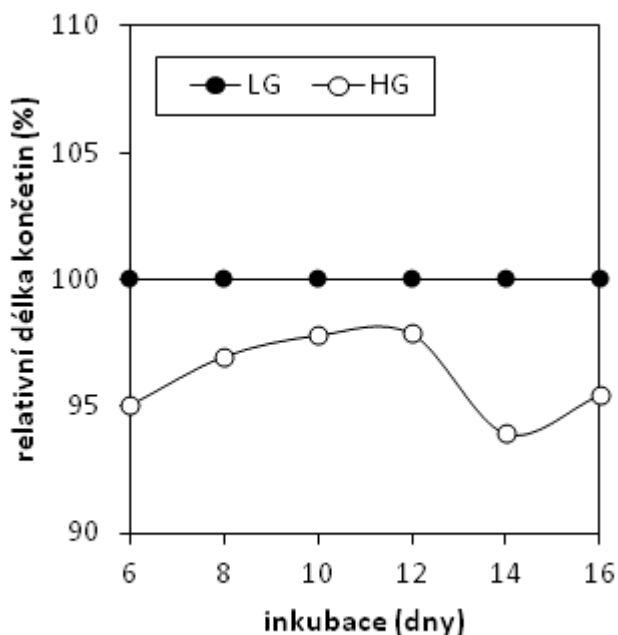
R² - koeficient determinace

5.8 Meziliniové rozdíly v růstu a osifikaci kostí končetin

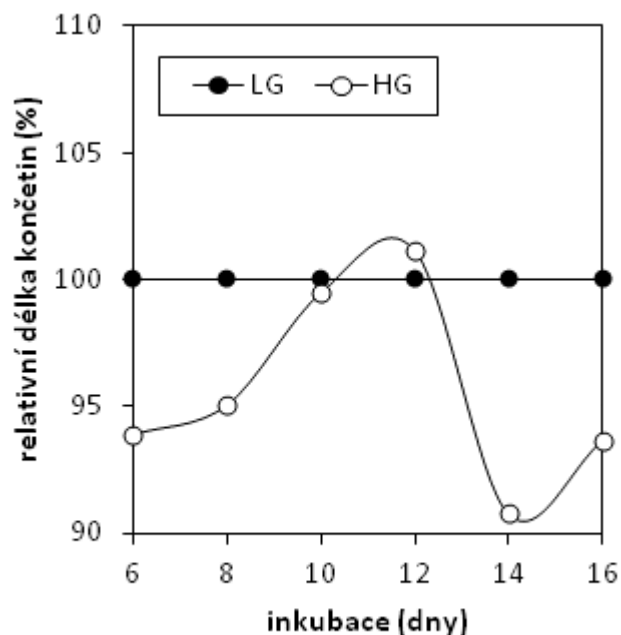
Přestože růst a osifikace kostí končetin vykazovaly u obou linií stejné zákonitosti, získaná data potvrdila, že formace sledovaných kostí byla závislá také na liniové příslušnosti embrya. Již z grafů 5a – 5d a 6a – 6c je na první pohled zřejmé, že difference mezi liniemi existovaly v délce kostí ke konci inkubace. Zhruba od 12. dne byla délka všech kostí končetin podstatně menší u linie HG než u linie LG. Tabulka 5 dokládá, že se do těchto diferencí promítaly meziliniové rozdíly jak v nástupu formace jednotlivých kostí, tak rozdíly v průměrném denním přírůstku kostí do délky. Průměrný denní přírůstek byl u linie HG nižší u všech sledovaných kostí než u linie LG a jejich formace nastupovala zhruba o 2 hodiny později než u linie LG.

Relativní srovnání délek horní a dolní končetiny (součet délek jednotlivých sledovaných kostí) v průběhu celé inkubace ($LG = 100\%$, $HG = HG/LG * 100$) ukazuje (graf 9a, 9b), že délka dolní a ve většině případů i horní končetiny byla významně menší u linie HG také v průběhu dalších věkových kategorií. Relativní srovnání navíc prokázalo, že podobně jako při růstu embryí, nebyly liniové rozdíly v rychlosti růstu konstantní v průběhu celé inkubace. Bylo možné opět zaznamenat periody, ve kterých rostly obě končetiny rychleji u linie HG (mezi 6 – 12 a 14 – 16 dnem

inkubace) a naopak periody, ve kterých růst kostí linie HG výrazně retardoval ve srovnání s růstem kostí linie LG (mezi 12 – 14 dnem inkubace). Na rozdíl od růstu celých embryí, kdy byla retardace linie HG pozorována mezi 8. až 14. dnem, byla však retardační růstová fáze kostí omezena pouze na období mezi 12. až 14. dnem inkubace.



Graf 9a. Relativní rozdíly v délce kostí dolní končetiny mezi liniemi (LG=100%)



Graf 9b. Relativní rozdíly v délce kostí horní končetiny mezi liniemi (LG=100%)

Podle očekávání byly obdobné rozdíly nalezeny mezi liniemi také v jejich osifikaci. Z grafů 7a – 7d a 8a – 8c (strana 48 a 49) je patrné, že kosti linie LG měly v jednotlivých dnech embryogeneze delší osifikovanou část než kosti linie HG. Tabulka 6 (strana 50) opět dokládá, že se do těchto diferencí promítaly meziliniové rozdíly jak v nástupu osifikace kostí, tak rozdíly v průměrném denním přírůstku osifikované tkáně. Kostí linie LG začaly osifikovat v průměru o 1,5 hodiny dříve než u linie HG a jejich průměrný denní přírůstek osifikované tkáně byl vyšší než u linie HG.

6 DISKUZE

Výsledky současného studia jednoznačně potvrdily výsledky předchozí práce (Hyánková et al. 2004), která prokázala, že selekce na tvar růstové křivky je doprovázena korelovanými změnami v rychlosti vývoje a růstu během embryogeneze.

6.1 Embryonální vývoj

Analýza embryonálního vývoje potvrdila, že linie LG je vývojově urychlená ve srovnání s linií HG již během prvních hodin inkubace. Významné diference ve vývoji ve prospěch linie LG byly zjištěny ve 12-ti, 24 i 42 hodinách inkubace. Podle Fasenka a kol. (1992) zastavuje teplota, kterou jsme použili během skladování vajec (12°C), veškerý vývoj pozorovatelný mikroskopickou technikou. Získané výsledky tedy naznačují, že embrya linie LG dosahují vyššího stupně vývoje než HG embrya již v době snesení vejce.

Vývojová urychlenost linie LG byla podle očekávání potvrzena i na konci inkubace. Podobně jako v předchozí práci (Hyánková a kol., 2004) se linie LG vyznačovala relativně větším počtem 16-ti denních embryí, která měla residuální žloutkový váček zatažený do dutiny tělní. Její vývojové urychlení bylo zřejmé také z výrazně kratší inkubační doby a z vyšší relativní hmotnosti vlastního embrya (nižší relativní hmotnosti žloutkového váčku) v 16-ti dnech inkubace. Vedle těchto zjevných podobností mezi embryonálním vývojem v raných a pozdní generaci selekce, byly zaznamenány i některé podstatné rozdíly.

Základní rozdíl mezi generacemi představoval odlišný trend liniové divergence na začátku a konci inkubace. Porovnáme-li vývoj na začátku inkubace, lze mezi generacemi pozorovat značnou shodu. Embrya linie HG, podobně jako embrya linie LG dosahovala v obou fázích selekčního procesu obdobný stupeň vývoje. Další selekční tlak se tedy v meziliniových rozdílech výrazně neprojevil. Porovnáme-li však vývoj na konci inkubace,

je očekávané prohloubení meziliniových rozdílů jednoznačně patrné. Potvrzují to všechny čtyři ukazatele, které byly k hodnocení vývoje na konci inkubace použity. Divergence v délce inkubační periody se přes generace zvýšila ze 4 na 17 hodin, ve frekvenci zatažených žloutkových váčků do dutiny tělní z 17% na 60%, v relativní hmotnosti embrya z 2,9% na 4,1% a v relativní hmotnosti žloutkového váčku z 0,2% na 2,8%. Tyto výsledky tedy prokazují, že postupující selekce prohloubila liniové rozdíly v rychlosti vývoje zejména na konci prenatální periody.

6.2 Embryonální růst

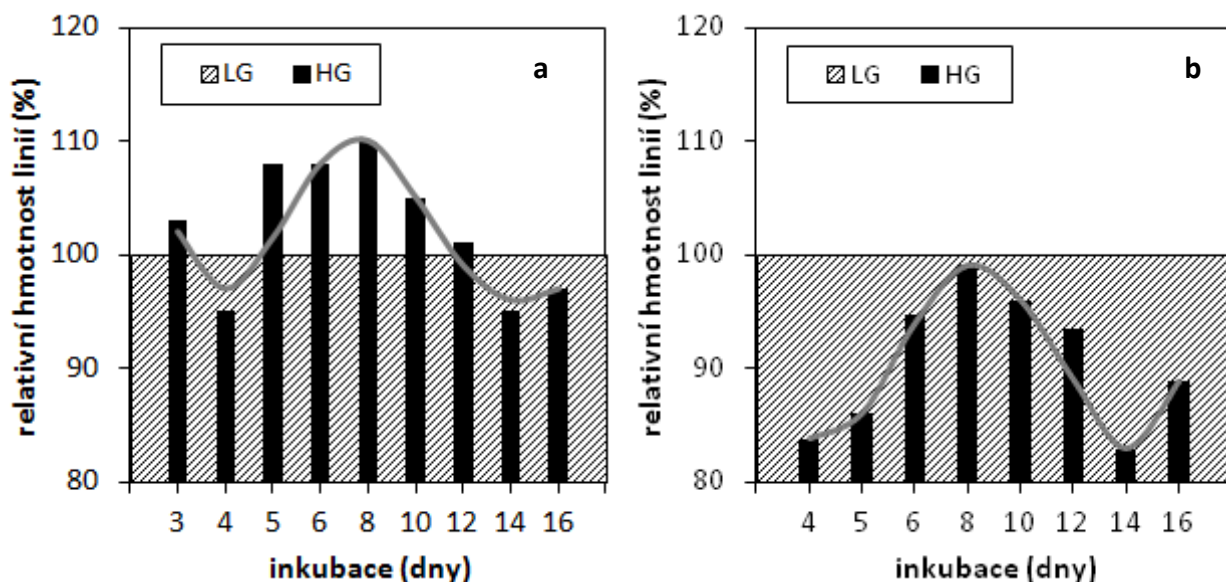
Srovnáme-li stejným způsobem růstová data získaná v raných a pozdní generaci, můžeme opět identifikovat některé znaky, které jsou typické pro obě stádia selekčního procesu, a znaky, ve kterých se generace výrazně liší.

Ve shodě s dalšími pracemi na kuřecích (Coleman a kol., 1964, Anthony a kol., 1989) a křepelčích zárodcích (Lilja a Olsson, 1987; Hyánková a kol., 2004) můžeme například konstatovat, že růst HG a LG embryí vykazoval exponenciální trend. Na rozdíl od raných generací selekce (Hyánková a kol., 2004) se však exponenciely obou linií zcela nepřekrývaly. Vyšší hmotnosti během embryogeneze dosahovala embrya linie LG.

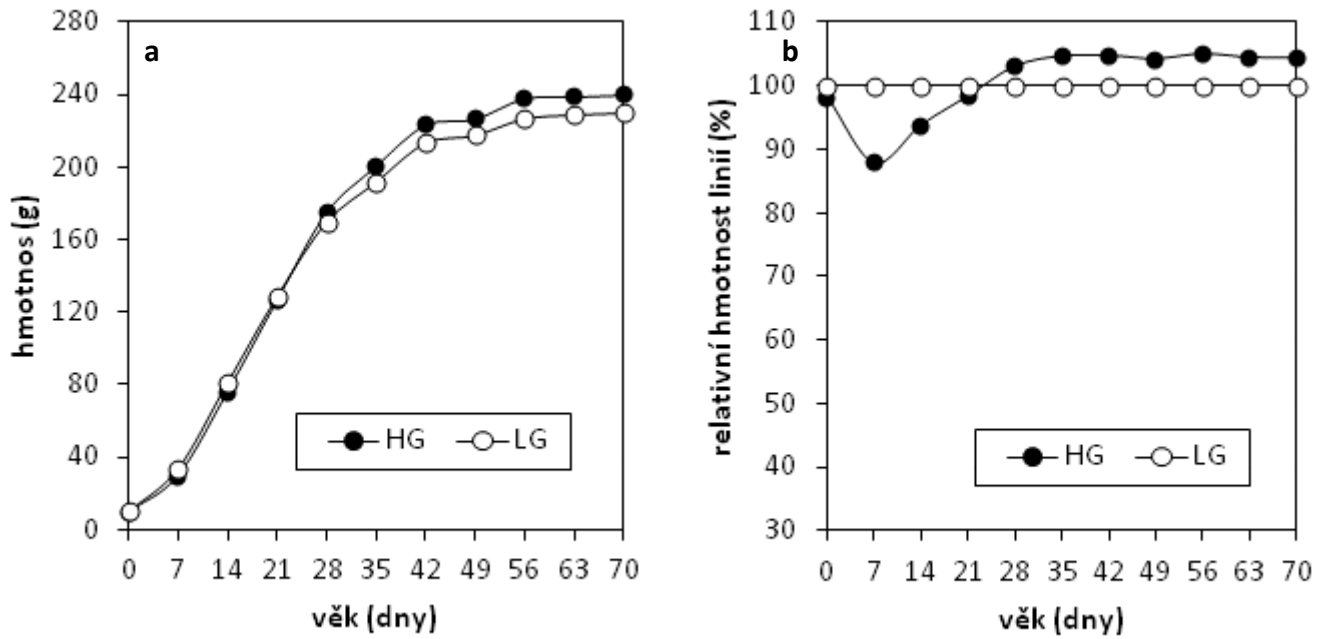
Ve shodě s předchozí prací (Hyánková a kol., 2004) bylo potvrzeno, že se linie liší také v rychlosti růstu v jednotlivých periodách inkubace. Během embryogeneze bylo možné opět zaznamenat 3 periody, kdy rostla linie HG na přechodnou dobu pomaleji než linie LG a následně své hmotnostní ztráty kompenzovala vyšší rychlostí růstu. Rozdíly mezi generacemi byly patrné pouze ve stupni meziliniových diferencí. Zatímco v raných generacích byly rozdíly mezi linií LG a HG v klíčových dnech inkubace (4, 8 a 14 dní) -5, 10 a -5%, v současné generaci se tyto rozdíly změnilly na -16, -1 a -17%. Podstata této změny je nejlépe patrná z grafického srovnání obou fází selekce (grafy 10a – 10b). Ukazuje, že další

selekcí došlo pouze k posunutí křivky linie HG zhruba o 11 až 12% dolů po ose y.

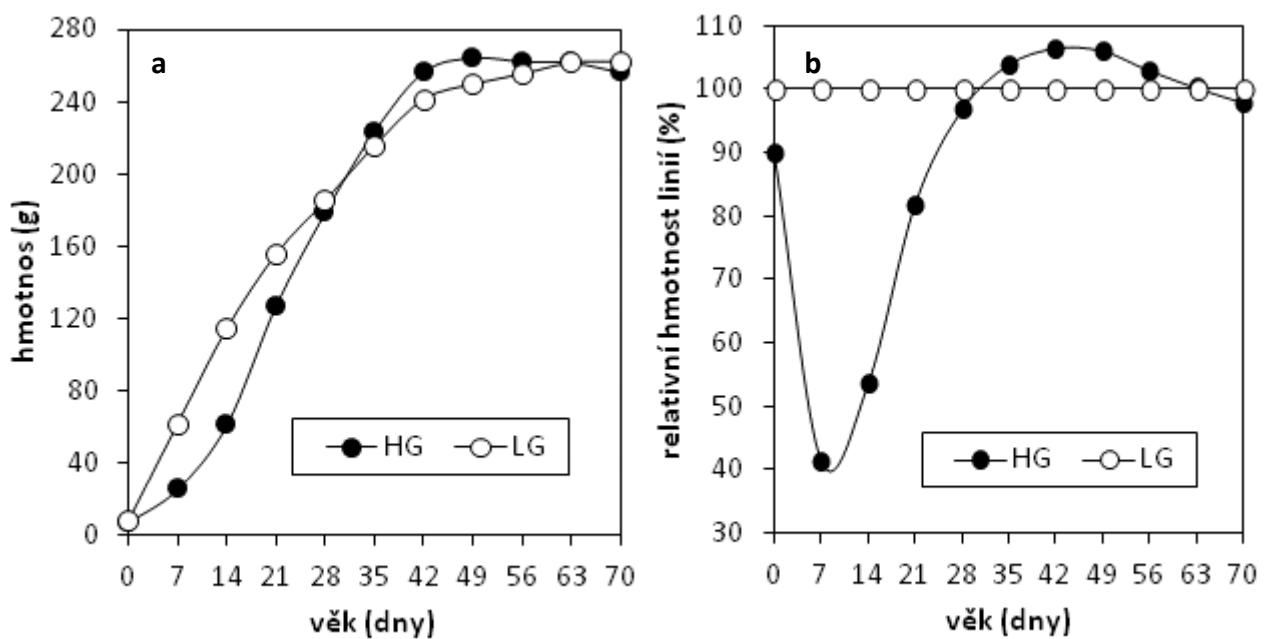
Předchozí práce (Hyánková a kol. 2004) naznačila, že meziliniové rozdíly v rychlosti embryonálního růstu bezprostředně souvisí s meziliniovými diferencemi v rychlosti vývoje. Navíc ukázala, že obdobný vztah existuje mezi vývojem a růstem také v postnatálním období. Meziliniové rozdíly v hmotnosti těla mezi 3. a 8. dnem, tj. do poloviny inkubace, kdy je vytvořeno 95% všech tkání těla (Freeman a Vince, 1974), plně odpovídaly meziliniovým rozdílům mezi 1. a 70. dnem (ukončení růstu) postnatálního období. Pravdivost tohoto předpokladu potvrdily i současné výsledky. V rané generaci, kdy dosahovala linie HG dospělou hmotnost o 6% vyšší než linie LG, byly meziliniové rozdíly v 7. až 8. dni inkubace zhruba 8% ve prospěch linie HG (grafy 11a – 11b). V současné generaci, kdy se dospělá hmotnost (70 dní věku) obou linií téměř vyrovnala, dosáhly obě linie obdobnou hmotnost také v 8. dni inkubace (grafy 12a – 12b). Tyto výsledky tedy naznačují, že meziliniové rozdíly v postnatálním růstu by mohly být predikovány již na základě růstových diferencí během embryogeneze.



Graf 10. Meziliniové rozdíly v hmotnosti embryí v jednotlivých dnech inkubace (LG=100%; HG=HG/LG*100) v raných (a) (Hyánková a kol., 2004) a současné (b) generaci



Graf 11. Rané generace selekce - růstové křivky LG a HG křepelek (a) a meziliniové rozdíly v hmotnosti křepelek v postnatálním období ($HG=HG/LG*100$) (b) (Hyánková a kol., 2004)



Graf 12. Pozdní generace selekce - růstové křivky LG a HG křepelek (a) a meziliniové rozdíly v hmotnosti křepelek v postnatálním období ($HG=HG/LG*100$) (b) (nepublikovaná data)

6.3 Růst a osifikace kostí končetin

Tvorba chrupavčité a kostní tkáně obou končetin podle našich výsledků podléhala stejným zákonitostem. Nejdříve začínaly růst a osifikovat kosti bezprostředně u těla, později docházelo ke stejnému ději u kostí, které jsou od těla vzdálenější. Stejnou zákonitost pozorovali u embryí kuřat a krůt i jiní autoři (Summerbell, 1976; Holder, 1978; Maxwell, 2008).

Využitím lineární funkce bylo zjištěno, že chrupavčitá tkáň jednotlivých kostí končetin se objevuje mezi 3. až 6. dnem inkubace. K obdobným závěrům došli ve svých studiích i Nakane a Tsudzuky (1999) a Ainsworth se svými spolupracovníky (2010). Shodně udávají, že se kosti končetin u embryí japonských křepelk začaly formovat mezi 4. až 5. dnem inkubace. Podle Lansdowna (1967, 1970) dochází k tomuto procesu zhruba o den později, tj. mezi 5. a 6. dnem inkubace.

Nástup osifikace lze na základě lineární funkce odhadovat u kostí obou končetin mezi 6. až 7,5. dnem inkubace. Tyto výsledky jsou v dobré shodě s pozorováním Lansdowna (1968, 1970) a Nakane a Tsudzukyho (1999), kteří uvádějí, že k osifikaci kostí končetin dochází u embryí japonských křepelk mezi 7. a 8. dnem inkubace. Podle Holdera (1978) jsou u kuřecích zárodků pozorovatelné první osifikované úseky kostí končetin ve stádiu 32/33, což podle Hamburgera a Hamiltona (1951) odpovídá také období mezi 7,5. a 8. dnem inkubace. Tyto výsledky jasně podporují závěry Ainswortha a jeho spolupracovníků (2010), kteří konstatují, že japonské křepelky a kuřata se do stádia 35 (8. – 9. den inkubace) od sebe ve vývoji neliší, přestože je inkubační doba kuřat v průměru o 4 dny delší nežli u křepelk.

6.4 Meziniové rozdíly v růstu a osifikaci končetin

Vývojové urychlení LG linie pozorovatelné na začátku i konci inkubace při studiu celého embrya, bylo jednoznačně potvrzeno i při analýze embryonálního skeletu. Dřívější nástup formace kostí i dřívější

nástup jejich osifikace potvrdily, že vývojové urychlení linie LG přetrvává i ve střední části inkubace. Stejný závěr lze vyvodit i z dat Novákové (2002), která sledovala růst a osifikaci kostí končetin na stejném materiálu v raných generacích selekce. Při aplikaci lineární funkce na její datový soubor bylo možné opět konstatovat, že formace i osifikace kostí obou končetin nastupovala u linie LG o něco dříve než u linie HG. Nápadnější rozdíly mezi ranou a pozdní generací selekce byly pozorovatelné pouze v meziliniových diferencích v délce kostí končetin na konci inkubace. Zatímco v našem experimentu byly všechny sledované kosti u 16-ti denních HG embryí významně kratší než u embryí LG, v rané generaci se obdobný trend ve prospěch LG embryí neprojevoval. Některé z kostí byly delší u linie HG (loketní), u některých kostí se linie v délce nelišily (stehenní, holenní), a jen u běháku a kosti pažní byla potvrzena větší délka u linie LG.

Genetické studie, které se zabývají vztahem mezi postnatálním růstem a embryonálním vývojem skeletu, jsou v podstatě omezeny pouze na dvě práce. Na rozdíl od nás však neanalyzují difference mezi liniemi, které se liší tvarem růstové křivky, ale difference mezi liniemi, které mají rozdílný růstový potenciál (dospělou hmotnost). První z těchto prací srovnávala rozdíly ve vývoji a růstu kostí končetin mezi dvěma liniemi slepic (Clum a kol., 1995). Druhá práce se zaměřila na vztah mezi postnatálním růstem a osifikací kostí končetin u japonských křepelek (Blom a Lilja, 2004). Obě práce shodně konstatují, že linie s nižším růstovým potenciálem byla z hlediska skeletu vývojově urychlená. Bylo to zřejmé z dřívějšího nástupu osifikace (Clum a kol., 1995) nebo z vyššího podílu osifikovaných částí skeletu ve 12-ti dnech inkubace (Blom a Lilja, 2004). Práce na slepicích (Clum a kol., 1995), která navíc analyzovala vývoj embryí obou linií v dalších fázích inkubace uvádí, že podobně jako u našeho experimentálního materiálu bylo možné pozorovat vývojové urychlení/opoždění daných linií v průběhu celé embryogeneze.

6.5 Embryogeneze a hmotnost a složení vejce

Na rozdíl od raných generací selekce, kdy byla provedena první analýza embryogeneze (Hyánková a kol., 2004), došlo v současné generaci k výraznému rozlišení linií v hmotnosti vajec. Linie LG dosahovala vyšší hmotnosti vajec nežli linie HG. K meziliniiovému rozlišení došlo také ve fyzikálním a nutričním složení vajec. Tato skutečnost naznačuje, že na změnách, které byly v průběhu embryogeneze zaznamenány mezi generacemi, by se vedle genotypu embrya mohly významně podílet i některé maternální efekty, tj. konkrétně změny v množství živin, které měla embrya linie HG a LG k dispozici v jednotlivých fázích prenatalního období.

Z literatury je zřejmé, že studiu vzájemného vztahu mezi růstem embrya a množstvím živin, které mají embrya k dispozici během inkubace, byla věnována značná pozornost. Ve většině případů se však práce omezily pouze na studium vztahu mezi hmotností embrya a hmotností násadového vejce (McNary a kol., 1960; Hassan a Nordskog, 1969; Al-Murrani, 1978). Takto zaměřené práce shodně konstatují, že se hmotnost násadového vejce projevuje v hmotnosti embrya až v poslední třetině inkubace. Al-Murrani (1978) například udává, že hmotnost kuřecího vejce neovlivňovala růst embrya během prvních 14. dnů inkubace. Stejnou informaci uvádí i práce Hassana a Nordskoga (1969). Podle ní jsou u kuřat hodnoty korelací do 14. dne inkubace slabě negativní nebo nulové, od 16. dne narůstají ($r_p=0,5$) a teprve v době líhnutí nabývají vysokých hodnot ($r_p=0,9$). V kontrastu s těmito pracemi, které sledovaly závislost hmotnosti vejce a embrya v rámci jednoho genotypu (populace), ukázalo relativní srovnání HG a LG embryí, že významné rozdíly v hmotnosti existovaly mezi liniemi v průběhu celé inkubace. S výjimkou 8. dne inkubace, dosahovaly zárodky linie LG významně vyšší hmotnosti než zárodky linie HG. Tyto výsledky tedy s největší pravděpodobností dokumentují, že odlišné množství živin, které měla embrya HG a LG k dispozici během prenatalního období, měly významný dopad na hmotnost embryí již v od nejranějších fází inkubace.

Vyšší hmotnost LG vajec v pozdní generaci nebyla spojena s úměrně vyšší hmotností jednotlivých vaječných komponent. Ve shodě s řadou dalších prací (Kirikci a kol., 2010, Ulmer-Franko a kol., 2010) bylo zjištěno, že liniové difference v hmotnosti vajec se projevily především v rozdílech v hmotnosti bílku. Zatímco hmotnost skořápky byla u obou linií stejná, byla hmotnost žloutku u linie LG o 5% a hmotnost bílku dokonce o 12% vyšší než hmotnost těchto komponent u linie HG. Z nutričního složení vajec sice vyplynulo, že bílek i žloutek linie HG obsahuje relativně více dusíkatých látek, jejich koncentrace však nebyly natolik vysoké, aby mohly výrazné mezilinové rozdíly v celkovém obsahu vaječného proteinu eliminovat. Dá se tedy předpokládat, že na prohloubení liniových diferencí v hmotnosti embryí se podílel zejména odlišný obsah vaječného proteinu. Tento předpoklad podporují i relativní srovnání embryonálních hmotností v rané a pozdní generaci. Ukazuje, že „relativní hmotnost LG embryí se přes generace zvýšila o 11 až 12% v každém inkubačním dni (grafy strana 54). Výše uvedený předpoklad se zdá reálný i z hlediska současných poznatků o embryonálním metabolismu (Kucera a kol., 1984; Moran 2007; Oliveira 2008). Ukazují, že aminokyseliny nejsou pouze významnými stavebními jednotkami živé hmoty, ale že v rané a pozdní fázi inkubace je bílek klíčovým, i když nepřímým zdrojem energetických zásob embrya. V rané fázi inkubace je vnější řídký bílek zdrojem glukózy (Kucera a kol., 1984), která představuje v tomto období (nedostatku kyslíku) hlavní zdroj energie (Moran, 2007). V pozdní inkubační fázi, kdy embryo přechází opět na anaerobní metabolismus (Hoiby a kol., 1987), představují bílkoviny základní surovinu pro vytvoření dostatečných glykogenových zásob (Moran, 2007; De Oliveira 2008).

Prohloubení vývojových rozdílů mezi liniemi na konci inkubační periody dokumentovalo, že se selekční tlak promítal také do liniové divergence v rychlosti prenatálního vývoje. Na rozdíl od našeho předpokladu však nebylo prohlubování divergence spojeno se současným prodlužováním doby inkubace u linie HG a zkracováním doby inkubace u

linie LG. U obou linií byla průměrná doba inkubace kratší než v raných generacích selekce (HG o 8 a LG o 21 hodin). Na této skutečnosti se bezesporu podílela částečná změna v metodice. Zatímco v rané generaci byla vejce skladována 1 až 5 dní a inkubace probíhala při teplotě 37,2°C (Hyánková a kol., 2004), v současné práci byla vejce skladována pokaždé pouze 1 den a teplota v inkubátoru byla zvýšena na 37,5°C. Obě změny mohly vést k podpoře vyšší rychlosti vývoje u HG a LG linií v generaci 31., protože delší doba skladování (použitá v rané generaci) zpomaluje rychlost embryonálního vývoje (Mather a Laughlin, 1976) a vyšší teplota v inkubátoru (použitá v generaci 31.) ji naopak zvyšuje (Nakage a kol., 2003). Je tedy pravděpodobné, že ke skutečné změně v délce inkubace došlo přes generace pouze u linie LG. Logickou souvislost tohoto faktu s divergencí linií v hmotnosti vajec mohou dokumentovat data obou linií z generace 12., 18. a 32. (Hyánková a Starosta, 2010).

Srovnání výše uvedených generací prokázalo, že se u linie HG hmotnost vajec přes generace neměnila (12,6; 12,4; 12,4), zatímco u linie LG docházelo k jejímu výraznému zvyšování (12,7; 12,8; 13,5). To z hlediska selekčního procesu znamená, že u linie LG začaly mít postupem času selekční výhodu jedinci s nadprůměrnou hmotností vajec. Ta vedla k vyššímu přísunu živin během embryogeneze a v postnatálním období umožňovala zvýšení hmotnosti na úroveň linie HG (grafy strana 55). U linie HG však s postupující selekcí docházelo korelovaně ke stabilizační selekci z hlediska hmotnosti vajec. Selekcční výhodu měli jedinci s průměrnou hmotností vajec. V postnatálním období se pro to dospělá hmotnost HG jedinců přes generace výrazněji neměnila.

V této souvislosti však vzniká otázka, co bylo příčinou stabilizační selekce u linie HG? Proč selekční tlak korelovaně nevedl k přednostnímu výběru jedinců s menší hmotností vajec, tj. vajec s nižším zdrojem živin? Ze složení vajec se můžeme domnívat, že selekční tlak začal dokonce preferovat jedince s vejci o vyšší koncentraci bílkovinné složky. Odpovědi na tyto otázky jsou pravděpodobně výsledky poslední práce (Hyánková a

Starosta, 2012 v tisku), která srovnávala HG a LG křepelky z hlediska líhivosti a embryonální mortality.

Srovnání úspěšnosti líhnutí odhalilo, že vývojově opožděná linie HG má za standardních podmínek skladování a inkubace vajec významně nižší líhivost oplozených vajec než linie LG (78,3% vs. 93,2%). Navíc ukázalo, že pouze v rámci linie HG docházelo s prodlužováním doby skladování ke zvýšenému úhynu embryí, která měla podprůměrně velká vejce. Mortalita embryí, která byla bezprostřední příčinou nižší líhivosti, se přitom u linie HG zvyšovala pouze v rané a pozdní fázi inkubace. To logicky naznačuje, že růstové retardace, které byly u linie HG zaznamenány během selekčního procesu vždy ve stejném věku embryí (mezi 3. až 4. a 8. až 14. dnem inkubace) musejí se zvýšenou embryonální mortalitou HG linie bezprostředně souviset.

Jak popsala již předchozí práce (Hyánková a kol. 2004), není růstová retardace linie HG v těchto obdobích náhodná. Začíná vždy kolem doby, kdy kuřecí či křepelčí zárodek přechází na vyšší vývojový stupeň, který umožňuje efektivnější čerpání živin. Mezi 3. a 4. dnem je růstová retardace HG zárodku vyvolána nejpravděpodobněji opožděným spojením extra- a intra- embryonálního systému (2. – 2,5. den, Romanoff a Romanoff, 1967). HG embrya, u kterých do 4. dne dojde ke spojení obou systémů zřejmě přežívají a v následné fázi vykazují kompenzační růst. Vývojově opožděnější embrya musí zákonitě hynout.

Další růstová retardace HG embryí (mezi 8. a 14. dnem) signalizuje logicky další riziko zvýšeného úhynu. Dochází k ní v období, které je charakteristické funkčním dozráváním orgánů, včetně těch, které se podílejí na zpracovávání a využívání živin. Jejich opožděný vývoj se sice bezprostředně neprojevuje zvýšeným úhynem, má však výrazně negativní dopad na kumulaci energetických zdrojů potřebných v následné fázi líhnutí. Jak dokumentuje práce Christensena a jeho spolupracovníků (2001), úhyn v této pozdní fázi inkubace je spojen s nedostatečnými glykogenovými zásobami embryí v prsní a srdeční svalovině.

Z výše uvedených poznatků vyplývá, že hmotnost vajec (zdroj živin) linie HG měla již ve 12. generaci selekce natolik omezenou kapacitu, že její další redukce byla fyziologicky neúnosná. Požadavek vysoké dospělé hmotnosti (selekční tlak) by zřejmě při snižování hmotnosti vajec nebyl splnitelný za prostředových podmínek, které byly během selekce aplikovány.

7 ZÁVĚR

Cílem práce bylo ověřit dopad odlišného průběhu postnatálního růstu na vývoj a růst během prenatálního období použitím dvou linií (HG a LG), které byly více než 30 generací divergentně selektovány na tvar růstové křivky bez podstatného ovlivnění dospělé hmotnosti. Řešení probíhalo jednak na úrovni celého embrya, jednak na úrovni kosterní soustavy. Navíc byla pozornost věnována maternálním efektům (složení a hmotnosti vajec), které by mohly růst a vývoj embrya během inkubace ovlivňovat.

1. Analýza embryogeneze potvrdila, že:

- selekce na vyšší masnou užitkovost, která snižuje rychlost růstu bezprostředně po vylíhnutí, je doprovázena snižováním rychlosti vývoje během embryogeneze. K poklesu vývojové rychlosti dochází v průběhu celé prenatální periody. Prodlužování délky inkubace může být tedy jeden ze signálních ukazatelů vývojového opoždění. Jiným dobře měřitelným znakem vývojového opoždění je nižší stupeň vývoje zárodka v době ovipozice.
- vývojové opoždění snižuje rychlost růstu v inkubačních periodách, kdy embryo přechází na vyšší vývojový stupeň umožňující efektivnější čerpání živin. Tyto růstové retardace zvyšují riziko úhynu embrya v rané a pozdní fázi inkubace a mají proto negativní dopad na líhnivost oplozených vajec.
- rozdíly v embryonální hmotnosti mezi liniemi v polovině inkubační doby odpovídají meziliniovým rozdílům v dospělé hmotnosti. Diference v růstu mezi populacemi (generacemi) v postnatálním období lze tedy predikovat na základě růstu v prenatálním období.

2. Analýza embryogeneze prokázala, že:

- změna rychlosti vývoje se neprojevovala jen na úrovni celého embrya, ale i na úrovni kosterní soustavy. Lze tedy předpokládat, že

změna rychlosti vývoje se zákonitě projevuje i na úrovni ostatních tělních soustav.

2. Analýza embryogeneze ve vztahu k hmotnosti a složení vajec ukázala, že:

- hmotnost a složení vajec jsou faktory, které se podílejí nejenom na hmotnosti vyvíjejících se jedinců, ale i na jejich vývojové rychlosti a životnosti v prenatalním období.
- pokud v rámci populací masného typu dochází přes generace ke zvyšování hmotnosti vajec bez ovlivnění dospělé hmotnosti, lze korelovaně očekávat zkracování inkubační doby, což se pozitivně projeví ve vyšší líhivosti oplozených vajec. V opačném případě (snižování hmotnosti vajec), bude docházet k prodlužování inkubační doby a zhoršování úspěšnosti líhnutí.

Současná práce jednoznačně dokumentuje, že průběh postnatálního růstu výrazně ovlivňuje růst, vývoj a životnost během embryogeneze. Jednou z cest pro dosažení optimální líhivosti u masného typu drůbeže by proto mohla být úprava skladovacích a inkubačních podmínek v závislosti na rychlosti prenatalního vývoje dané populace. Studium optimálních podmínek v závislosti na genotypu tak reprezentuje jednu z klíčových cest dalšího výzkumu v této oblasti.

8 POUŽITÁ LITERATURA

ABPLANALP, H.; OGASAWARA, F. X.; ASMUNDSON, V. S.: Influence of selection for body weight at different ages on growth of turkeys. *British Poultry Science*, 4, 1963, s. 71-82.

AINSWORTH S., J.; STANLEY R., L.; EVANS D., R., J.: Developmental stages of the Japanese mail. *J. Anat*, 216, 2010, s. 3-15.

ANTHONY, N. B.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.: Embryo growth of normal and dwarf chickens from lines selected for high and low 56-day body weight. *Archiv für Geflügelkunde*, 53, 1989, s. 116-122.

ANTHONY, N. B.; EMMERSON, D. A.; NESTOR, D. A.; BACON, W. L.; SIEGEL, P. B.; DUNNINGTON, E. A.: Comparisons of growth curves of weight selected populations of turkeys, quail and chickens. *Poultry Science*, 70, 1991, s. 13-19.

BARBATO, G. F.: Genetic architecture of carcass composition in chickens. *Poultry Science*, 71, 1992, s. 798-798.

BARBATO, G. F.; CHERRY, P. B.; SIEGEL, P. B.; VAN KREY, H. P.: Quantitative analysis of the feeding behavior of four population of chickens. *Physiol. Behav.*, 25, 1980, s. 885-881.

BARBATO, G. F.; SIEGEL, P. B.; CHERRY, J. A.; NIR, I.: Selection for body weight at eight weeks of age. 17. overfeeding. *Poultry Science*, 63, 1984, s. 11-18.

BAUMANN, R.; MEUER, H., J.: Blood oxygen transport in the early avian embryo. *Physiological Reviews*, 72, 1992, s. 941-965.

BECKER, W. A.; SPENCER, J. V.; MIROSH, L. W.; VERSTRATE, J. A.: Genetic variation of abdominal fat, body weight and carcass weight in a female broiler line. *Poultry Science*, 63, 1984, s. 607-611.

BLOOM, J.; LILJA, C.: A komparative study of growth, skeletal development and eggshell composition in some species of birds. *Journal of Zoology*, 262, 2004, s. 361-369.

BRAY, D. F.; ITON, E. L.: The effect of egg weight on strain differences in embryonic and postembryonic growth in the domestic fowl. *British Poultry Science*, 3, 1962, s. 175-188.

BRODY, T. B.; SIEGEL, P. B.; CHERRY, J. A.: Age, body-weight and body-composition requirements for the onset of sexual maturity of dwarf and normal chickens. *British Poultry Science*, 25, 1984, s. 245-258.

BRUNSTRÖM, B.: Activities in chick embryos of 7-ethoxycoumarin O-deethylase and aryl hydrocarbon (benzo[a]pyrene) hydroxylase and their induction by 3,3',4,4' tetrachlorobiphenyl in early embryos. *Xenobiotica*, 16, 1986, s. 865-872.

BUYSE, J.; LEENSTRA, F. R.; ZEMAN, M.; RAHIMI, G.; DECUYPERE, E.: A comparative study of different selection strategies to breed leaner meat-type poultry. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 10, 1999, s. 121-142.

CAHANER, A.; KRINSKY, M.; NITSAN, Z.: The response to one cycle of divergent selection for abdominal fat in broilers raised under different conditions. *Poultry Science*, 64, 1985, s. 1813-1820.

CAHANER, A.; NITSAN, Z.: Evaluation of simultaneous selection for live body weight and against abdominal fat in broilers. *Poultry Science*, 64, 1985, s. 1257-1236.

CAHANER, A.; NITSAN, Z.; NIR, I.: Weight and fat content of adipose and nonadipose tissues in broilers selected for and against abdominal adipose tissue. *Poultry Science*, 65, 1986, s. 215-222.

CALABOTTA, D. F.; CHERRY, J. A.; SIEGEL, P. B.; GREGORY, E. M.: Lipogenesis and lipolysis in normal and dwarf chickens from lines selected for high and low body weight. *Poultry Science*, 62, 1983, s. 1830-1837.

CALABOTTA, D. F.; CHERRY, J. A.; SIEGEL, P. B.; JONES, D. E.: Lipogenesis and lipolysis in fed and fasted chicks from high and low body weight lines. *Poultry Science*, 64, 1985, s. 700-704.

CIROTTA, C.; ARANGI, I.: How do avian embryos breathe? Oxygen transport in the blood of early chick embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 94, 1989, s. 607-613.

CLUM, N. J.; MCCLEARN, D. K.; BARBATO, G. F.: Comparative embryonic development in chicken with different patterns of postnatal growth. *Growth Dev. Aging*, 59, 1995, s. 129-138.

COLEMAN, J. W.; SIEGEL, H. S.: Selection for body weight at eight weeks of age. *Poultry Science*, 45, 1966, s. 1008-1011.

COLEMAN, J. W.; SIEGEL, H. S.; SIEGEL, P. B.: Embryonic development of two lines of White Rocks. *Poultry Science*, 42, 1963, s. 453-458.

CONOR, J. K.: The significance of age of breeder flock and Chin weight in meat chicken production. Proceedings Poultry Information Exchange, 1986, Queensland, s. 37-50.

DARDEN, J. R.; MARKS, H. L.: Divergent selection for growth in Japanese quail under split and complete nutritional environments. 1. Genetic and correlated responses to selection. Poultry Science, 67, 1988, s. 519-529.

DARDEN, J. R.; MARKS, H. L.: Divergent selection for growth in Japanese quail under split and complete nutritional environments. 3. Influences of selection for growth on heterotic effects for body weight, feed and water intake patterns, abdominal fat, and carcass lipid characteristics. Poultry Science, 68, 1989, s. 37-45.

DEEMING, D., C.: Importance of sub-embryonic fluid and albumen in the embryo's response to turning of the egg during incubation. British Poultry Science, 30, 1989, s. 591-606.

DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V.; BARBATO, G. F.; BUYSE, J.: Growth and reproduction problems associated with selection for increased broiler meat production. In: MUIR, W. M.; AGGREY, S. E. (Eds). Poultry genetics, breeding and biotechnology. Wallingford, USA, 2003, s. 13-28.

DONALDSON, W. E.: Carbohydrate, hatchery stressors affect poult survival. Feedstuffs, 67, 1995, s. 16-17.

DUNNINGTON, E. A.; CHERRY, J. A.; JONES, D. E.; SIEGEL, P. B.: Growth associated traits in parental and F1 populations of chickens under different feeding programs. 3. Eating behavior and body temperatures. Poultry Science, 66, 1987, s. 23-31.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.; CHERRY, J. A.; JONES, D. J.; ZELENKA, D. J.: Physiological traits in adult female chickens after selection and relaxation of selection for 8-week body weight. *J. Anim. Breeding Genet*, 103, 1986, s. 51-58.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.; CHERRY, J. A.; SOLLER, M.: Relationship of age and body weight at sexual maturity in selected lines of chicken. *Archiv für Geflügelkunde*, 47, 1983, s. 85-89.

DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.: Long-term divergent selection for eight-week body weight in White Plymouth Rock Chickens. *Poultry Science*, 75, 1996, s. 1168-1179.

EYAL-GILADI, H.; KOCHAV, S.: From cleavage to primitive streak formation: A complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick: I. General morphology. *Developmental Biology*, 49, 1976, s. 321-337

FREEMAN, B. M.; VINCE, M. A.: Development of the avian embryo. A behavioural and physiological study. 1974, s. 362, ISBN 0-412-11520-4.

GERAERT, P. A.; LECLERCQ, B.; LARBIER, M.: Effects of dietary glucogenic amino acid supplementation on growth performance, body composition and plasma free amino acid levels in genetically lean and fat chickens. *Reprod. Nutr. Develop.*, 27, 1987, s. 1041-1051.

GERAERT, P. A.; MACLEOD, M. G.; LECLERCQ, B.: Energy metabolism in genetically fat and lean chickens: diet- and cold- induced thermogenesis. *American Institute of Nutrition*, 1988, s. 1232-1239.

GRIFFITH, L. S.; LEESON, S.; SUMMERS, J. D.: Fat deposition in broilers: effect of dietary energy to protein balance and early life caloric restriction on production performance and abdominal fat pad size. *Poultry Science*, 56, 1977, s. 639-646.

HARDIN, R. T.: Growth of Bantam breeds of poultry. *Poultry Science*, 51, 1972, s. 283-286.

HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. L.: A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology*, 88, 1951, s. 49-92.

HAMIDU, J. A.; FASENKO, G. M.; FEDDES, J. J. R.; O'DEA, E. E.; OUELLETTE, C. A.; WINELAND, M. J.; CHRISTENSEN, V. L.: The Effect of Broiler Breeder Genetic Strain and Parent Flock Age on Eggshell Conductance and Embryonic Metabolism. *Poultry Science*, 86, 2007, s. 2420-2432.

HARTMANN, W.: From Mendel to multi-national in poultry breeding. *World's Poultry Science*, 45, 1989, s. 5-26.

HASSAN, G. M.; NORDSKOG, A. W.: Effects of egg size and heterozygosity on embryonic growth and hatching speed. *Genetics*, 67, 1969, s. 279-285.

HERMIER, D.; CHAPMAN, J.; LECLERCQ, B.: Plasma lipoprotein profile in fasted and refed chickens of two strains selected for high or low adiposity. *Journal of Nutrition*, 114, 1984, s. 1112-1121.

HOLDER, N.: The onset of osteogenesis in the developing chick limb. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 44, 1978, s. 15-29.

HORT, J.; KNÍŽETOVÁ H.; HYÁNKOVÁ, L.: Selekcce na vysokou hmotnost těla a některé korelované odpovědi v reprodukčních vlastnostech drůbeže. Czech Journal of Animal Science, 45, 2000, s. 519-523.

HOIBY, M.; AULIE, A.; BJONNSEN, P. O.: Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. Comparative Biochemistry and Physiology, 86, 1987, s. 91-94.

HUDSON, P. B.; FAIRCHILD, B. D.; WILSON, J. L.; DOZIER III, W. A.; BUHR, R. J.: Breeder Age and Zinc Source in Broiler Breeder Hen Diets on Progeny Characteristics at Hatching. J. Appl. Poult. Res., 13, 2004, s. 55-64.

HUEY, D. F.; CHERRY, J. A.; SIEGEL, P. B.; DENBOW, D. M.; VAN KREY, H. P.: Self selection of dietary protein and energy by diverse populations of chickens. Nutr. Behav., 1, 1982, s. 55-64.

HYÁNKOVÁ, L.; DĚDKOVÁ, L.; KNÍŽETOVÁ, H.; KLECKER, D.: Responses in growth, food intake and food conversion efficiency to different dietary protein concentrations in meat-type line of Japanese mail, British Poultry Science, 38, 1997, s. 564-570.

HYÁNKOVÁ, L.; DĚDKOVÁ, L.; KNÍŽETOVÁ, H.; HORT, J.: Heterosis in body weight related to growth performance of parental lines of Japanese mail and to heterosis in lay. British Poultry Science, 43, 2002, s. 508-517

HYÁNKOVÁ, L.; KNÍŽETOVÁ H.; DĚDKOVÁ L; HORT J.: Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 1. Responses in growth parameters and food conversion. British Poultry Science, 42, 2001, s. 583-589.

HYÁNKOVÁ, L.; KNÍŽETOVÁ, H. Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 5. Growth pattern and low protein level in starter diet. *British Poultry Science*, 50, 2009, s. 451-458.

HYÁNKOVÁ, L.; KNÍŽETOVÁ, H.: Nové směry ve šlechtění brojlerových kuřat- selekce na snížení obsahu tělního tuku. *Živočišná Výroba*, 1993, s. 927-939.

HYÁNKOVÁ, L.; NOVOTNÁ B.; KNÍŽETOVÁ H.; HORÁČKOVÁ S.: Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 2. Embryonic development and growth. *British Poultry Science*, 45, 2004, s. 171-179.

HYÁNKOVÁ, L.; NOVOTNÁ, B. Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 3. Onset of sexual maturity and basic characteristics of early lay. *British Poultry Science*, 48, 2007, s. 551-558.

HYÁNKOVÁ, L.; NOVOTNÁ, B.; DARRAS, V. M. Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 4. Carcase composition and thyroid hormones. *British Poultry Science*, 49, 2008, s. 96-102.

HYÁNKOVÁ, L., STAROSTA F.: Selection for shape of growth curve and female reproduction traits. XIIIth European Poultry Conference, 2010, Tours, France, 23.-27.8.

HYÁNKOVÁ, L.; STAROSTA, F.: Divergent selection for shape of growth curve in Japanese quail. 6. Hatching time, hatchability and embryo mortality. *British Poultry Science*, 2012 (v tisku).

CHAPUIS H.; MIGNON-GRASTEAU, S.; BEAUMONT, C.: Genetics of sexual dimorphism in poultry. *Poultry Genetics Symposium*, Germany, 1999, s. 59-65.

JAAP, R. G.; MUIR, F. V.: Erratic oviposition and egg defects in broiler-type pullets. Poultry Science, 47, 1968, s. 147-423.

KATANBAF, M. N.; SIEGEL, P. B.; DUNNINGTON, E. A.: Organ growth of selected lines of chickens and their F1 crosses to a common body weight or age. Theor. Appl. Genet., 74, 1988, s. 540-544.

KIRIKCI, K.; GÜNLÜ, A.; CETIN, O.; GARIP, M.: Effect of hen weight on egg production and some egg quality characteristics in the partridge (*Alectoris graeca*). Poultry Science, 1986, 2007, s. 1380-1383

KNÍŽE, B.; HYÁNEK, J.: Charakteristika analýzy růstu hospodářských a laboratorních zvířat. Biologické listy, 46, 1981, s. 193-201.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; HÁJKOVÁ, L.; KNÍŽE, B.; ŠILER, R.: Growth curves of chickens different type of performance. Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie, 202, 1985, s. 256-270.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; HYÁNKOVÁ, L.: Využití matematických růstových modelů u drůbeže. Živočišná výroba, 37, 1992, s. 1029-1036.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; HYÁNKOVÁ, L.; BĚLÍČEK, P.: Comparative study of growth curves in poultry. Genetics Selection Evolution. 27, 1995, s. 365-375.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; HYÁNKOVÁ, L.; DĚDKOVÁ, L.: Matematické funkce a jejich využití při analýze růstu ve vztahu ke konverzi krmiva a jatečné kvalitě. (Závěrečná zpráva). VÚŽV Praha – Uhřetěves, 1996.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; KNÍŽE, B.; PROCHÁZKOVÁ, H.: Analysis of growth curves of fowl. 2. Duck. *British Poultry Science*, 32, 1991a, s. 1039-1053.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; KNÍŽE, B.; ROUBÍČEK, J.: Analysis of growth-curves of fowl. 1. Chickens. *British Poultry Science*, 32, 1991b, s. 1027-1038.

KNÍŽETOVÁ, H.; HYÁNEK, J.; VESELSKÝ A.: Analysis of growth-curves of fowl. 3. Geese. *British Poultry Science*, 35, 1994, s. 335-1344.

LANSDOWN A, B, G.: An investigation of the development of the wing skeleton in the quail (*Coturnix c. japonica*). *J. Anat.*, 105, 1969, s, 103-114.

LANSDOWN A, B, G.: A study of the normal development of the leg skeleton in the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Anat.*, 106, 1970, s, 147-160.

LAWRENCE, J. J.; GEHRING, A. D.; KANDERKA, A. D.; FASENKO, G. M. AND ROBINSON, F. E. The impact of egg weight on hatchability, chick weight, chick length, and chick weight to length ratios. *Poult. Sci.*, 83, 2004, s. 75-83

LECLERCQ, B.: Adipose tissue metabolism and its control in birds. *Poultry Science*, 63, 1984, s. 2044-2054.

LECLERCQ, B.: Genetic selection of meat- type chickens of high or low fat content. In: LECLERCQ, B.; WHITEHEAD, C. C. (Eds.): *Leanness in Domestic Birds: Genetic, Metabolic and Hohormonal aspect*. London, Butterworths, 1988.

LECLERCQ, B.: The influence of dietary protein content on the performance of genetically lean or fat growing chickens. *British Poultry Science*, 24, 1983, s. 581-587.

LECLERCQ, B.; BLUM, J. C.; BOYER, J. P.: Selection broilers for low or high abdominal fat: initial observation. *British Poultry Science*, 61, 1980, s. 107-113.

LECLERCQ, B.; GUY, G.; RUDEAUX, F.: Growth characteristics and lipid distribution in two lines of chicken selected for low or high abdominal fat. *Genetic Selection Evolution*, 21, 1989, s. 69-80.

LECLERCQ, B.; KOUASSI-KOUAKOU, J.; SIMON, J.: Laying performances, egg composition, and glucose tolerance of genetically lean or fat meat-type breeders. *Poultry Science*, 64, 1985, s. 1609-1616.

LECLERCQ, B.; SAADOUN, A.: Selecting broilers for low or high abdominal fat: Comparison of energy metabolism of the lean and fat lines. *Poultry Science*, 61, 1982, s. 1799-1803.

LEENSTRA, F. R., PIT, R.: Fat deposition in a broiler sire strain. 3. Heritability and genetic correlations among body weight, abdominal fat, and feed conversion. *Poultry Science*, 67, 1988, s. 1-9.

LEPORE, P. D.; SIEGEL, P. B.; SIEGEL, H. S.: Nucleic acid composition of chicks and chick tissues from growth selected lines of White Rocks. *Poultry Science*, 44, 1965, s. 126-130.

LEVINSOHN, E., M., M., D.; PACKARD, D., S.; WEST, E., M.; HOOTNICK, D., R.: Arterial anatomy of chicken embryo and hatchling. *American Journal of Anatomy*, 169, 1984, s. 377-405.

LITKE, L., L.; LOW, F., N.: Scanning electron microscopy of yolk absorption in early chick embryos. *American Journal of Anatomy*, 142, 1975, s. 527-531.

LIU, G.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.: Correlated responses to long-term divergent selection for eight-week body weight in chickens: Growth, sexual maturity and egg production. *Poultry Science*, 74, 1995, s. 1259-1268.

LOFTS, B.; MURTON, R. K.: Reproduction in birds. In: FARNER, D. S.: *Avian biology* 3, 1973, s. 1-109.

MACLEOD, M. G.; GERAERT, P. A.: Energy metabolism in genetically fat and lean birds and mammals. In: LECLERCQ, B.; WHITEHEAD, C. C. (Eds.): *Leanness in Domestic Birds: Genetic, Metabolic and Hormonal aspects*. London, Butterworths, 1988, s. 109-120.

MARKS, H. L.: Direct and correlated responses to selection for growth. In: HILL, W. G.; MANSOM, J. M.; HEWITT, D. (eds): *Poultry Genetics and Breeding*. Harlow, England, U. K., Longman Group, 1985, s. 47-51.

MARKS, H. L.: Growth curve changes associated with long-term selection for body-weight in Japanese quail. *Growth*, 42, 1978, s. 129-140.

MARKS, H. L.: Changes in unselected traits accompanying long-term selection for four-week body weight in Japanese quail. *Poultry Science*, 58, 1979, s. 269-274.

MARKS, H. L.: Selection for four-week body weight in Japanese quail under two nutritional environments. *Poultry Science*. 50, 1971, s. 931-937.

MARVAN, F.; HAMPL, A.; HLOŽÁNKOVÁ, E.; KRESAN, J.; MASSANYI, L.; VERNEROVÁ, E.: Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze a Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1992, ISBN 80-209.0273-2, s. 303.

MATHER, CH. M.; LAUGHLIN, K. F.: Storage of hatching eggs: The effect on total incubation period. *British Poultry Science*, 5, 1976, s. 471-479.

MERRITT, E. S.: Selection for growth rate in broilers with a minimum increase in adult size. 1st. World congress on genetics applied to livestock production, 1974, Madrid, Spain, 7.-11. October, s. 951-958.

MORAN, E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*. 86, 2007, s. 1043-1049

NAKANE, Y.; TSUDZUKI, M.: Development of the skeleton in Japanese quail embryos. *Development, Growth a Differentiation*, 41, 1999, s. 523-534.

NARAHARI, D.; MUJEER, A. K.; THANGAVEL, A.; RAMAMURTHY, N.; VISWANATHAN, S.; MOHAN, B.; MURAGANANDAN, B.; SUNDARARASU, V.: Traits influencing the hatching performance of Japanese mail eggs. *British Poultry Science*, 29, 1988, s. 101-112

NESTOR, K. E.: The influence of genetic increases in body-weight on the abdominal fat pad of turkeys. *Poultry Science*, 61, 1982, s. 2301-2304.

NESTOR, K. E.; BACON, W. L.; ANTHONY, N. B.; HAVENSTEIN, G. B.: Divergent selection for body weight and yolk precursor in *Coturnix coturnix japonica*. 7. Influences of genetics changes in body weight and yolk precursor on egg production. *Poultry Science*, 66, 1987, s. 390-396.

NESTOR, K. E.; BACON, W. L.; LAMBIO, A. L.: Divergent selection for body weight and yolk precursor in *Coturnix coturnix japonica*. 1. Selection response. *Poultry Science*, 61, 1982, s. 12-17.

NOVÁKOVÁ, M. Genové aspekty vývoje skeletu u japonských křepelek. Diplomová práce, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2002, s. 37.

DE OLIVEIRA, J. E.; UNI, Z.; FERKET, P. R.: Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. *World's Poultry Science Journal*, 64, 2008, s. 488-499.

PEEBLES, E. D.; GARDNER, C. W.; BRAKE, J.; BENTON, C. E.; BRUZUAL, J. J.; GERARD, P. D.: Albumen height and yolk and embryo compositions in broiler hatching eggs during incubation. *Poultry Science*, 79, 2000, s. 1373-1377.

PEEBLES, E. D.; MARKS, H. L.: Effect of selection for growth and selection diet on egg shell quality and embryonic development in Japanese quail. *Poultry Science*, 70, 1991, s. 1474-1480.

PETERSEN, CH. B.: Egg weight and weight of day old chicks – the influence on growth rate and feed efficiency. *National Committee for Poultry and Eggs (1984)*, Denmark, s. 1-44.

PYM, R. A. E.: Direct and correlated responses to selection for improved food efficiency. In: HILL, W. G.; MANSON, J. M.; HEWITT, D. (Eds): *Poultry Genetics and Breeding*, Essex, U. K., Longman Ltd., 1985, s. 97-115.

PYM, R. A. E.; THOMPSON, J. M.: A simple caliper technique for the estimation of abdominal fat in liver broilers. *British Poultry Science*, 21, 1980, s. 281-286.

RAHN, H.; PAGANELLI, C. V.; AR, A.: The avian egg: air-cell gas tension, metabolism and incubation time. *Respiration Physiology*, 22, 1974, s. 297-309.

REDDY, P. R. K.; SIEGEL, P. B.: Selection for body weight at eight weeks of age. 11.Ovulation and oviposition patterns. *Poultry Science*, 55, 1976, s. 1518-1530.

REDDY, R. P.: The effects of long-term selection on growth of poultry. *Poultry Science*, 75, 1966, s. 1164-1167.

RIBATTI, D.: A morphometric study of the expansion of the chick area vasculosa in shell-less culture. *J. Anat.*, 186, 1995, s. 639-644.

RICARD, F. H.: Essai de selection sur la forme de la courbe de croissance chez le poulet. *Annales Génétique Sélection Animales*, 7, 1975, s. 427-443.

RICARD, F. H.: Indice de conformation at état d engraissement de poulet appartenant a des souches sélectionnés sur la forme de la courbe de croissance. In: *Proc. XVI World Poultry Congress, Rio de Janeiro, September 17-21, 1978*, s. 1786-1798.

RICARD, F. H., ROUVIER, R.: Etude de la composition anatomique du poulet. II. Variabilite de la repartition des parties corporelles dans une souche de type Cornish. *Ann. Zootech*, 1, 1969, s. 151-386.

ROBINSON, F. E; WILSON J. L.; Yu, M. W.; FASENKO, G. M.; HARDIN, R. T.: The relationship between body weight and reproductive efficiency in meat-type chicken. *Poultry Science*, 72, 1993, s. 912-992.

ROMANOFF, A. L.; ROMANOFF, A. J.: Biochemistry of the avian embryo: Quantitative Analysis of prenatal development. New York, John Wiley, 1967, s. 398.

ROUS, J.; ČECHOVSKÝ, J.; GROM, A.; MIKOLÁŠEK, A.; STAŠKO, J.; ŠATAVA, M.; ŠPAČEK, F.: Chov drůbeže. Státní zemědělské nakladatelství, 1971, s. 378.

SAADOUN, A.; LECLERCQ, B.: In vivo lipogenesis in genetically fat and lean chickens of various ages. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83B, 1986, s. 607-611.

SAS INSTITUTE: SAS/STAT User's guide, Release 6, 3rd edn. Cary. NC, SAS, Institute, 2007.

SHANAWANY, M. M.: Inter-relationship between egg weight, parental age and embryonic development. *British Poultry Science*, 25, 1984, s. 449-455.

SATO, M.; TACHIBANA, T.; FURUSE, M.: Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143, 2006, s. 382-388.

SHEELE, C. W.; VAN SCHAGEN, P. J. W.; TEN HAVE, H. G. M.: Abdominal and total fat content of three broiler strains at two ages affected by nutritional factors. In: MULDER, R. W. A. W.; SCHEELE, C. W.; VEERKAMP, C. H. (Eds). *Quality of Poultry Meat*. Beekbergen, The Netherlands, 1981, s. 397-407.

SIEGEL, P. B.: Selection for body weight at eight weeks of age. 1. Short term response and heritabilities. *Poultry Science*, 41, 1962, s. 954-962.

SIEGEL, P. B.; WISMAN, E. L.: Selection for body weight at eight weeks of age. 6. Changes in appetite and feed utilization. *Poultry Science*, 45, 1966, s. 1391-1397.

SIMON, J.; LECLERCQ, B.: Longitudinal study of adiposity in chickens selected for high or low abdominal fat content: further evidence of a glucose-insulin imbalance in the fat line. *Journal of Nutrition*, 112, 1982, s. 1961-1973.

SMITH, K. P.; BOHREN, B. B.: Age of Pullet Effects on Hatching Time, Egg Weight and Hatchability. *Poultry Science*, 54, 1975, s. 959-963.

SØRENSEN, P.: The influence of leanness on selection [of White Cornish line birds] for feed efficiency. In: LECLERCQ, B.; WHITEHEAD, C. C.: *Leanness in domestic birds: genetic, metabolic and hormonal aspects*. Tiptree, Essex (UK): Butterworths and Co. (Publishers) Ltd., 1988. ISBN 0-408-01036-3. p. 127-128

STEEL, R. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, T. A.: *Principles and practice of statistics: A biomedical approach*. Mc Graw Hill, USA, pp. 297-299.

SUAREZ, M. E.; WILSON, H. R.; MATHER, F. B.; WILCOX, C. J.; MCPHERSON, B. M.: Effect of strain and age of the broiler breeder female on incubation time and chick weight. *Poultry Science*, 76, 1997, s. 1029-1036.

SUMMERBELL, D.: A descriptive study of the rate of elongation and differentiation of the skeleton of the developing chick wing. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 35, 1976, s. 241-260.

ŠILER, R.; KNÍŽE, B.; KNÍŽETOVÁ, H.: *Růst a produkce masa u hospodářských zvířat*. SZN, Praha, 1980.

ULMER-FRANCO, A. M.; A. M.; FASENKO, G. M.; O'DEA CHRISTOPHER, E. E.: Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poultry Science*, 89, 2010, s. 2735-2742.

UDALE, R. W.; SIEGEL, P. B.; VAN KREY, H. P.: Rates of ovulation and oviposition in growth selected lines of chicken. *Poultry Science*, 51, 1972, s. 2008-2010.

VIEIRA, S. L.; MORAN, E. T.: Eggs and Chicks from Broiler Breeders of Extremely Different Age. *J. Appl. Poult. Res.*, 7, 1998, s. 372-376.

WHITEHEAD, C. C.: Divergent selection of lean and fat lines of broilers over eight generations using plasma very low density lipoprotein as selection criterion. *British Poultry Science*, 31, 1990, s. 293-305.

WHITEHEAD, C. C.: Selecting leaner broilers on the basis of plasma lipoprotein concentration. In: 7th Int. Symp. Actual problems of Avian Genetics, Smolenice, ČSSR, 1987, s. 108-112.

WHITEHEAD, C. C.; GRIFFIN, H. D.: Development of divergent lines of lean and fat broilers using plasma very low density lipoprotein concentration as selection criterion: the first three generations. *British Poultry Science*, 25, 1984, s. 573-582.

WHITEHEAD, C. C.; GRIFFIN, H. D.: Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers. Effect of age and diet. *British Poultry Science*, 23, 1982, s. 299-305.

WILSON, J. G.; Methods for administering agents and detecting malformation in experimental animals. In: WILSON J. G.; WARLANY, J. (eds.), Teratology: Principles and Techniques, 1965, Chicago Univ. Press, Chicago, s. 277.

XU, L.; MORTOLA, J. P.: Development of the chick embryo: effects of egg mass. Respiration Physiology, 74, 1988, s. 177-185.

ZELENKA, D. J.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B.: Growth to sexual maturity of dwarf and nondwarf White Rock chickens divergently selected for juvenile body weight. Theoretical and Applied Genetics, 73, 1986a, s. 61-65.

ZELENKA, D. J.; SIEGEL, P. B.: Selection for body weight at eight weeks of age. 19. Influences of heterozygosity and dwarfism on early egg production and associated traits. Poultry Science, 66, 1987, s. 915-920.

ZELENKA, D. J.; SIEGEL, P. B.; DUNNINGTON, E. A.; CHERRY, J. A.: Inheritance of traits associated with sexual maturity when populations of chickens reach 50% lay. Poultry Science, 65, 1986b, s. 233-240.