ROZPRAWA DOKTORSKA

MGR INŻ. ADRIANNA SOBOLEWSKA

WPŁYW STYMULACJI EMBRIOGENEZY ŚWIATŁEM I TEMPERATURĄ NA PROCES MIOGENEZY U KURCZĄT

PROMOTOR:
Dr Hab. Inż. Gabriela Elminowska – Wenda,
Prof. Nadzw. Utp

BYDGOSZCZ 2015

Praca częściowo realizowana w ramach grantu nr: N N311 3346 33

Praca naukowa współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego, Działania 2.6 „Regionalne Strategie Innowacyjne i transfer wiedzy" projektu własnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego „Stypendia dla doktorantów 2008/2009 – ZPORR"

Praca doktorska dofinansowana ze środków: Projektu Stypendialnego: „Krok w przyszłość – stypendia dla doktorantów IV edycja", realizowanego w ramach Poddziałania 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013 współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, budżetu państwa oraz budżetu województwa

Praca powstała przy wsparciu projektu „Realizacja II etapu Regionalnego Centrum Innowacyjności" współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2007-2013

Składam gorące podziękowania Promotor niniejszej pracy,
Szanownej Pani dr hab. inż. Gabrieli Elminowskiej - Wenda,
prof. nadzw. UTP
za nieocenioną i wszechstronną pomoc, cenne uwagi merytoryczne,
poświęcony czas oraz życzliwość

Składam serdeczne wyrazy podziękowania
Panu Profesorowi dr. hab. Markowi Bednarczykowi
za cenne wskazówki, które podniosły wartość merytoryczną
niniejszej pracy

Wyrazy podziękowania składam współpracownikom
z Katedry Biochemii i Biotechnologii Zwierząt, a zwłaszcza
Pani dr inż. Joannie Boguckiej,
mgr inż. Agacie Dankowiakowskiej
oraz mgr inż. Agacie Szczerbie
za pomoc na każdym etapie prowadzonych badań oraz nieocenioną
życzliwość w czasie realizacji niniejszej pracy

SPIS TREŚCI

1. WPROWADZENIE 11

2. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA 13

2.1. MIKROSTRUKTURA MIĘŚNI SZKIELETOWYCH 13

2.2. PROCES MIOGENEZY 14

2.3. KOMÓRKI SATELITOWE 19

2.4. ZNACZENIE BIAŁKA PAX7 DLA POPULACJI KOMÓREK SATELITOWYCH I PROCESU MIOGENEZY 23

2.5. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE WPŁYWAJĄCE NA ROZWÓJ EMBRIONALNY ORAZ WYNIKI WYLĘGU PTAKÓW: ŚWIATŁO I TEMPERATURA 24

3. HIPOTEZA BADAWCZA I CELE PRACY 28

4. MATERIAŁ I METODY 29

5. WYNIKI 44

6. DYSKUSJA 65

7. PODSUMOWANIE I WNIOSKI 78

PIŚMIENNICTWO 80

STRESZCZENIE 93

1. WPROWADZENIE

W ciągu ostatnich 30 lat produkcja mięsa drobiowego na świecie wzrasta bardziej dynamicznie niż tzw. mięsa czerwonego. Podstawowym surowcem rzeźnym są kurczęta brojlery, stanowiące w skali globalnej około 85% ptaków ubijanych na mięso (Nowak i Trziszka 2010).

Mięso drobiowe stanowi źródło pełnowartościowego białka zwierzęcego, które jest dobrze przyswajalne i zawiera wszystkie niezbędne dla organizmu aminokwasy egzogenne. Mięso kurcząt ze względu na większą zawartość białka ogólnego, przy jednocześnie mniejszej ilości kolagenu w stosunku do mięsa wieprzowego i wołowego ma lepsze właściwości odżywcze. Charakteryzuje się ono niższą wartością kaloryczną, wynikającą z mniejszej zawartości tłuszczu, który – co ważne – jest bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe (Kijowski 2000). Także niższy koszt produkcji mięsa drobiowego, a zwłaszcza mięsa kurcząt brojlerów w stosunku do innych gatunków mięsa przyczynia się do sukcesywnego wzrostu jego konsumpcji (Kozioł i Krzywoń 2014). Polska jest znaczącym producentem mięsa drobiowego. Według danych GUS z dnia 25. 05. 2015 roku – w pierwszym kwartale tego roku - produkcja mięsa drobiowego wzrosła o ponad 10% w stosunku do analogicznego okresu z roku ubiegłego i osiągnęła poziom 512 tys. ton, co dało Polsce pierwsze miejsce w Unii Europejskiej (KRD – IG 2015).

Stale zwiększający się popyt na wysokiej jakości, stosunkowo tanie białko, przyczynił się do powstania wyspecjalizowanych programów hodowlanych, skupiających się na zwiększaniu wydajności rzeźnej, a zwłaszcza na efektywności produkcji mięśni piersiowych. W następstwie prowadzonej selekcji, jak również dzięki osiągnięciom z zakresu żywienia i utrzymania kur, wydajność rzeźna współczesnych kurcząt brojlerów zwiększa się liniowo z każdym kolejnym rokiem. Przyrost masy żywej brojlerów w okresie odchowu wynosi 2,5 – 3,5 kg, a więc zwiększa się on w stosunku do lat poprzednich średnio o ok. 4% rocznie. W stosunku do końca lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku przekłada się to na dwukrotne zwiększenie masy ubojowej kurcząt brojlerów, przy jednoczesnym skróceniu o połowę okresu ich odchowu (Kijowski i Kupińska 2013). Z kolei, udział mięśni piersiowych w tuszce tych ptaków zwiększa się rocznie od 0,2 do 0,25% (Kijowski i Kupińska 2013 za KRD – Izba Gospodarcza 2012).

Oprócz pozytywnych aspektów selekcji genetycznej ptaków typu mięsnego, w tym kurcząt brojlerów, skupiającej się na pożądanych parametrach hodowlano – użytkowych, mogą wystąpić także zaburzenia równowagi między intensywnym wzrostem mięśni a rozwojem organów wewnętrznych i kości. Konsekwencją tego są liczne schorzenia układu krążenia, a także zmiany patologiczne układu kostnego i mięśniowego kurcząt oraz indyków rzeźnych (Hafez i Hauck 2005).

Do chorób metabolicznych, które najczęściej występują wśród drobiu typu mięsnego należą (Crespo i Shivaprasad 2003, Hafez i Hauck 2005):

- wodobrzusze (*łac. ascites*),
- syndrom nagłej śmierci sercowej ADS (*ang.acute death syndrome*),
- zespół nadciśnienia płucnego PHS (*ang. pulmonary hypertension syndrome*),
- dyschondroplazja kości piszczelowej TD (*ang. tibia dyschondroplasia*),
- uszkodzenie poduszki śródstopnej FPD (*ang. footpad dermatitis*),
- pęcherze piersiowe BB (*ang. breast blisters*).

W wyniku selekcji na większą mięsność ptaków rzeźnych mogą wystąpić także degeneracje mięśni piersiowych, do których zalicza się (Hafez i in. 2004, Hafez i Hauck 2005, Mc Ilroy i in. 2005, Kijowski i Kupińska 2013, Sihvo i in. 2014):

- DPM (*ang. deep pectoral myopathy*),
- miopatia ogniskowa,
- mięso typu PSE (*ang. pale, soft, exudative*),
- syndrom białych włókien (*white striping*).

Nowe oczekiwania i wymagania konsumentów wobec jakości mięsa wymuszają coraz wyższy jej standard, a co za tym idzie nowe spojrzenie na aspekt doskonalenia genetycznego drobiu. Współczesny konsument oczekuje mięsa kruchego, o określonych walorach smakowych i zdrowotnych. Zatem, w dalszych pracach hodowlanych wskazuje się na bezpośrednią selekcję na cechy związane z jakością mięsa, takie jak: smak, kruchość mięsa, otłuszczenie tuszki, grubość i typy włókien mięśniowych, cechy organoleptyczne i inne (Klont i in. 1998). Decydujący wpływ na w/w cechy ma struktura mięśni szkieletowych, a zwłaszcza liczba i grubość różnego typu włókien mięśniowych, zawartość tłuszczu śródmięśniowego oraz tkanka łączna, jako główny składnik śródmięsnej, omięsnej i namięsnej (Elminowska - Wenda 2007 za Henckel i in. 1997).

Opracowanie metod i programów selekcyjnych poprawy ilości i jakości mięsa może być możliwe, dzięki zrozumieniu molekularnych i histologicznych podstaw wzrostu i rozwoju tkanki mięśniowej, determinujących w znacznym stopniu masę mięśni szkieletowych.

2. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

2.1. MIKROSTRUKTURA MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Masę i objętość mięśnia kształtuje głównie całkowita liczba włókien mięśniowych, ich grubość i długość oraz typ . Większość mięśni charakteryzuje budowa heterogenna. Składają się one z różnych typów włókien mięśniowych o mniejszej (włókna czerwone) lub większej (włókna białe) średnicy, różniących się pod względem morfologicznym, metabolicznym i fizjologicznym, co w znacznym stopniu decyduje o jakości pozyskanego mięsa. Poznano już wiele czynników środowiskowych i genetycznych mających istotny związek z grubością (średnicą) i udziałem procentowym różnych typów włókien w mięśniach szkieletowych zwierząt gospodarskich. Tak więc, możliwość wpływania – w pewnym zakresie – na grubość, typ i całkowitą liczbę włókien mięśniowych umożliwia hodowlę i chów zwierząt o coraz większej wydajności mięsnej. Selekcja na większą mięsność kurcząt rzeźnych przebiega zasadniczo w oparciu o wybór osobników o największej masie ciała i największej masie mięśnia piersiowego. Mięsień piersiowy powierzchowny kurcząt brojlerów zbudowany jest głównie z włókien białych, które - według niektórych autorów - stanowią 100% wszystkich włókien wchodzących w skład tego mięśnia. Kłosowska i in. (1979), Rosser i in. (1987), Uhrin (1995) oraz Elminowska - Wenda i in. (2007) podają natomiast, że w mięśniu piersiowym tych ptaków, może znajdować się kilka procent włókien czerwonych lub pośrednich. Wraz ze wzrostem masy ciała brojlerów zwiększa się także proporcjonalnie masa mięśnia piersiowego. Jego udział w tuszce kurcząt typu mięsnego jest największy i jednocześnie jest on najbardziej wartościowym mięśniem (Pisula i Pospiech 2011). Badania Remignon i in. (1994 i 1995) oraz Sheuermann i in. (2004) wykazały, że u obecnych kurcząt typu rzeźnego tak duża masa mięśni piersiowych wynika zarówno z większej grubości (średnicy) włókien mięśniowych jak i/lub z większej całkowitej liczby włókien wchodzących w skład tego mięśnia. Remignon i in. (1995) stwierdzili także, że całkowita liczba włókien wchodzących w skład mięśnia piersiowego kurcząt jest już ustalona w dniu wylęgu i jest ona stała dla każdego mięśnia, zaś późniejszy przyrost masy mięśnia wynika z hipertrofii włókien. Natomiast późniejsze badania m. in. Halevy i in. (2006a, b) wykazały, że u kurcząt brojlerów przyrost masy mięśni szkieletowych w pierwszych dniach po wylęgu może odbywać się także dzięki zwiększaniu się liczby włókien mięśniowych wchodzących w skład tych mięśni. Zatem, kształtowanie się włókien mięśniowych mięśni szkieletowych kurcząt brojlerów, zachodzi nie tylko w okresie embrionalnym, ale również we wczesnym okresie po wylęgu (Halevy i in. 2000, Halevy i in. 2006a, b, Zammit i in. 2006). Proces powstawania włókien mięśniowych nazywamy miogenezą. Jest ona warunkowana czynnikami genetycznymi oraz środowiskowymi zarówno w okresie pre- jak

i postnatalnym (Lefaucheur i Gerrard 1998, Halevy i in. 2006 a, b, Zammit i in. 2006, Tajbakhsh 2009).

Czynniki genetyczne i środowiskowe wpływające na cechy mikrostruktury mięśni wybranych ssaków gospodarskich, za Lefaucheur i Gerrard (1998)

Czynnik	Całkowita liczba włókien	Typy włókien	
		udział (%)	grubość (średnica)
Mięsień	***	***	**
Gatunek	***	**	*
Rasa	***	**	*
Płeć	NS	**	**
Żywienie płodowe	**	*	**
Żywienie postnatalne	NS	*	**
Temperatura otoczenia	NS	**	*
Zmienność osobnicza	**	**	**
Aktywność fizyczna	NS	**	**
Promotory wzrostu:			
hormony wzrostu	NS	NS	**
β- agoniści/steroidy	NS	**	**

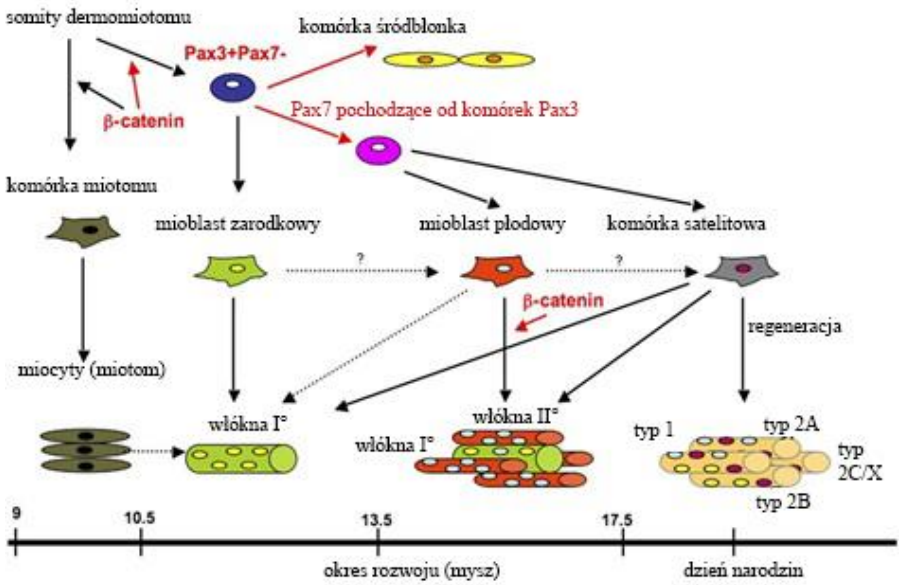
Intensywność wpływu: *** b. duży, ** duży, * średni, NS brak istotności

Jak wynika z danych w powyższej tabeli czynniki genetyczne i środowiskowe w największym stopniu oddziałują na grubość włókien mięśniowych oraz kompozycję różnych typów włókien w mięśniach, w mniejszym stopniu zaś na całkowitą liczbę włókien w danym mięśniu. Dlatego tak ważne jest poznanie mechanizmów miogenezy, a przede wszystkim czynników odpowiedzialnych za jej przebieg, co umożliwia ingerencję w ten proces. Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do kurcząt rzeźnych, właśnie ze względu na kontynuację rozwoju mięśni szkieletowych również we wczesnym okresie po wylęgu, w przeciwieństwie do ssaków (Halevy i in. 2006a, Rehfeldt i Kuhn 2006).

2.2. PROCES MIOGENEZY

U kręgowców, takich jak ptaki i ssaki, proces powstawania i różnicowania tkanki mięśniowej szkieletowej (miogeneza), rozpoczyna się już we wczesnym okresie rozwoju zarodkowego i obejmuje kilka odrębnych etapów. Komórki miogenne wywodzą się z mezodermy przyosiowej, która w rozwoju embrionalnym, tworzy symetrycznie ułożone wzdłuż struny grzbietowej i cewy nerwowej segmenty zwane somitami (Parker i in. 2003). Nowo powstały somit, w przypadku kury i przepiórki, przyjmuje kształt kuli wypełnionej komórkami mezenchymatycznymi, otoczonej warstwą komórek nabłonkowatych. Liczba somitów jest stała dla danego gatunku - u kury wynosi 52, u myszy 65 (Ishikawa i in. 2004). Różnicowanie somitu na część środkowo

- grzbietową tworzącą dermomiotom oraz część brzuszną tworzącą sklerotom warunkują białka: Bmp (ang. *Bone morphogenetic protein*), Wnt, Shh (*Sonic hedgehog*) i Msx (ang. *Muscle segment related homeo box genes*) (Przewoźniak i Brzóska 2008 za McKinell i Rudnicki 2005, Geetha - Loganathan i in. 2008), które jako czynniki zewnątrzpochodne są istotne dla przebiegu procesu miogenezy u kręgowców. Obok nich kluczową rolę w regulacji powstawania włókien mięśniowych pełni również sygnalizacja Notch, umożliwiająca kontakt komórka - komórka (Rios i in. 2011).



Rys. 1. Schemat prezentujący powiązania różnych klas mioblastów mięśni szkieletowych (za Messina i Cossu 2009), w modyfikacji własnej

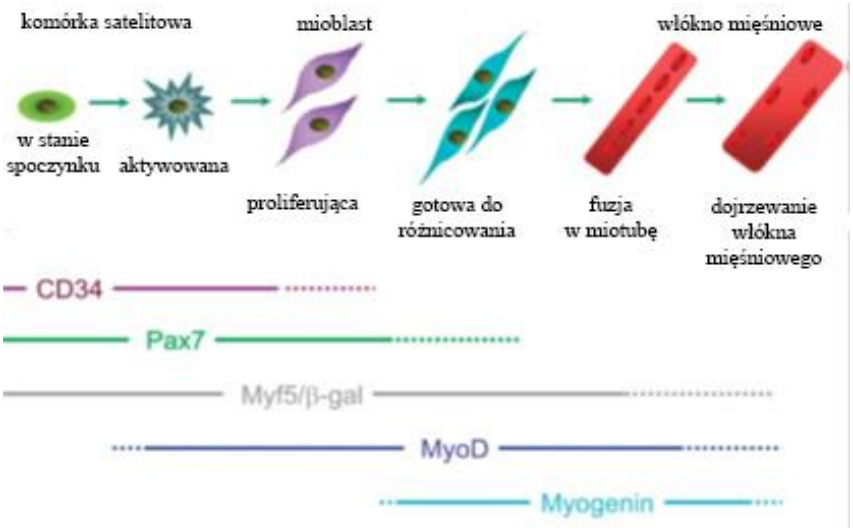
W czasie rozwoju zarodkowego wargi dermomiotomu, uznanego za potencjalne źródło komórek miogennych, rozwijają się w miotom i dermatom. To właśnie komórki mezenchymatyczne prymitywnej struktury mięśniowej jaką jest miotom różnicują się w prekursory komórek mięśniowych (Ordahl 2000), z których później powstaje frakcja komórek satelitowych, występujących w mięśniach zwierząt (Gros i in. 2005, Relaix i in. 2005).

Komórki miogenne przechodzą proces zwany cyklem komórkowym, regulowany przez szereg złożonych szlaków biochemicznych. Cykl komórkowy obejmuje cztery główne fazy: G1 (wzrost komórki), S (duplikacja chromosomów), G2 (kontynuacja wzrostu komórki) i M (podziały mitotyczne komórki) (de Luca i in. 2003, Blomen i Boonstra 2007). Przejście komórki przez kolejne fazy cyklu wymaga właściwego postępu i ukończenia każdej

z tych faz (de Luca i in. 2003). Prawidłowy przebieg cyklu komórkowego komórek miogennych możliwy jest dzięki obecności licznych czynników mitogennych w ich środowisku zewnętrznym, które zapobiegają niekontrolowanym podziałom komórkowym. Dzięki nim cykl komórkowy przebiega w sposób uporządkowany i nieodwracalny, co jest kluczowe dla zaangażowania prekursorowych komórek mięśniowych w różnicowanie mięśni szkieletowych. Do najważniejszych regulatorów cyklu komórkowego na poziomie molekularnym, determinujących jego postęp, należą kinazy cyklinozależne (cdk) i ich cykliny. Natomiast zatrzymanie cyklu wynika z działania inhibitorów cdk oraz białek: Rb (retinoblastoma), p107 i p130, należących do rodziny białek kieszeniowych (Milewska i in. 2014).

Najwcześniejszą formą komórek mięśniowych jest tzw. mioblast pierwotny, zwany również w niektórych źródłach sarkoblastem (Ostrowski 1995). Jest on komórką jednojądrzastą, nie posiadającą miofilamentów, o wrzecionowatym kształcie, którego błona komórkowa pozbawiona jest błony podstawnej. Mioblasty te mają zdolność replikacji DNA oraz wykazują aktywność mitotyczną. W wyniku podziałów mitotycznych dzielą się wytwarzając kolejne generacje mioblastów, aż do powstania klasy mioblastów bez zdolności podziałowych (mioblasty postmitotyczne), co ma miejsce w momencie ich wyjścia z cyklu komórkowego, tj. w fazie G1/G0. Mioblasty te układają się szeregowo, jeden za drugim i ściśle do siebie przylegają. W miejscu kontaktu poszczególnych mioblastów dochodzi do przerwania ciągłości ich błon komórkowych, dzięki czemu ulegają fuzji. W ten sposób powstają wydłużone komórki – tubule mięśniowe, zwane miotubami, zawierające centralnie położone jądra (Horsley i Pavlath 2004). Najprawdopodobniej to obecność specyficznych substancji na powierzchni błony komórkowej mioblastów warunkuje zajście fuzji. Przyłączanie się kolejnych mioblastów powoduje sukcesywne wydłużanie miotub, w których następnie zachodzi synteza określonych białek mięśniowych, m. in. aktyny mięśniowej sarkomerowej oraz miozyny typu II. Miotuby, podobnie jak dojrzałe włókna mięśniowe, wykazują poprzeczne prążkowanie. Mają jednak mniejszą średnicę, jądra są w nich położone centralnie i posiadają niekompletny system błon wewnątrzkomórkowych. Proces dojrzewania tubul mięśniowych obejmuje przyrost ich średnicy na grubość, lokalizowanie się jąder komórkowych pod sarkolemą, wypełnienie wnętrza komórki aparatem kurczliwym oraz wytworzenie błony podstawnej. Po utworzeniu połączeń synaptycznych pomiędzy komórkami mięśniowymi a neuronami powstają syncytia komórkowe, zwane włóknami mięśniowymi (Horsley i Pavlath 2004). Zatem, część mioblastów pierwotnych przyczynia się do powstania nowych włókien mięśniowych, natomiast pozostałe nie ulegają zróżnicowaniu, zachowując swoje właściwości. Ta cecha predysponuje do określenia ich mianem macierzystych komórek tkanki mięśniowej. Najprawdopodobniej to właśnie te mioblasty są tożsame z komórkami satelitowymi, co wynika z jednakowej budowy obu komórek i właściwości charakterystycznych dla

komórek macierzystych (Ostrowski 1995). Komórki satelitowe, jako niezróżnicowane prekursorowe komórki mięśniowe, pozostają związane z dojrzałym, wielojądrzastym włóknem mięśniowym i stanowią źródło komórek uczestniczących we wzroście i regeneracji mięśni w okresie pourodzeniowym (Charge i Rudnicki 2004).



Rys. 2. Schemat miogenezy komórek satelitowych oraz markerów identyfikujących je na każdym etapie tego procesu. CD34, Pax7 oraz Myf5/β - gal ulegają ekspresji w spoczynkowych komórkach satelitowych; MyoD – ekspresja w proliferujących i różnicujących komórkach satelitowych; miogenina – ekspresja we wczesnej fazie różnicowania komórek satelitowych (za Zammit i in. 2006), w modyfikacji własnej

Czynnikami kontrolującymi specyfikację oraz różnicowanie prekursorów mioblastów we włókna mięśniowe u kręgowców, w tym u ptaków, są geny z rodziny – MyoD (Davis i in. 1987), tj.: *MyoD1*, *Myf-5*, miogenina i *Mrf-4* (zidentyfikowany wcześniej jako herulina lub *Myf-6*), których ekspresja zachodzi w jądrach mioblastów postmitotycznych. Zatem, poza czynnikami zewnątrzpochodnymi regulującymi proces miogenezy istnieje hierarchia czynników genetycznych warunkujących prawidłowy jej przebieg. Geny *MyoD1*, *Myf-5*, miogenina i *Mrf-4* kodują białka należące do czynników transkrypcyjnych MRF (*Myogenic Regulatory Factors*). Doświadczenia z wykorzystaniem zmutowanych myszy, z uszkodzonymi odpowiednimi genami, umożliwiły identyfikację funkcji oraz podział wymienionych genów na: pierwszorzędowe, do których zaliczamy geny *Myf-5* i *MyoD1*- niezbędne podczas wyodrębniania się prekursorów mioblastów oraz drugorzędowe - geny miogeniny i *Mrf-4*, uczestniczące w ostatecznym różnicowaniu mioblastów w miotuby. Ponadto, charakterystyczny dla genów MyoD jest fakt, że ich

ekspresja odbywa się wyłącznie w komórkach mięśniowych lub w ich prekursorach, które na skutek produkcji białek MRF przekształcają się w komórki mięśniowe (Massarii i Murre 2000, Carosio i in. 2011). Ekspresja miogennych czynników transkrypcyjnych w prekursorowych komórkach mięśniowych zachodzi w sposób skoordynowany i w odpowiedniej kolejności. Najwcześniej, tj. już podczas miogenezy zarodkowej ekspresji ulega gen *Myf5* i *MyoD1* (Buckingham i in. 1992). Następnie syntetyzowana jest miogenina, a na końcu *Mrf-4* (Seale i Rudnicki 2000). Zachowanie właściwej chronologii ekspresji poszczególnych genów wynika przede wszystkim z ich funkcji, jaką pełnią w czasie rozwoju mięśni. Geny *Myf5* i *MyoD1* odpowiadają za specjalizacje komórek mięśniowych, miogenina kontroluje proces różnicowania, zaś *Mrf-4* jest związany z dojrzewaniem miotub (Rys 2.).

Złożoność procesu miogenezy na poszczególnych jej etapach wymaga zaangażowania wielu czynników transkrypcyjnych. Dlatego też indukcja tego procesu warunkowana jest również przez miogeniczne czynniki transkrypcyjne, takie jak: Pax3 oraz Pax7. Podczas miogenezy zarodkowej określona pula komórek dermomiotomu syntetyzuje białka Pax3 i Pax7, które są odpowiedzialne za ich miogeniczną specyfikację (Gros i in. 2005). Białko Pax3 pełni kluczową rolę w powstawaniu miotomu i warunkuje właściwy przebieg miogenezy zarodkowej (Buckingham i Relaix 2007). Jest ono syntetyzowane przez aktywne mitotycznie komórki bocznej części dermomiotomu oraz przez wyciszone mitotycznie komórki migrujące do zawiązków kończyn. Z komórek $Pax3^{+}$ wywodzą się komórki syntetyzujące białko Pax7, odpowiedzialne za przebieg miogenezy płodowej i dojrzałej. Dodatkowo, w badaniach Buckingham i Relaix (2007) przeprowadzonych na modelu myszy zaobserwowano, że białko Pax7 determinuje losy komórek satelitowych biorących udział w miogenezie pourodzeniowej.

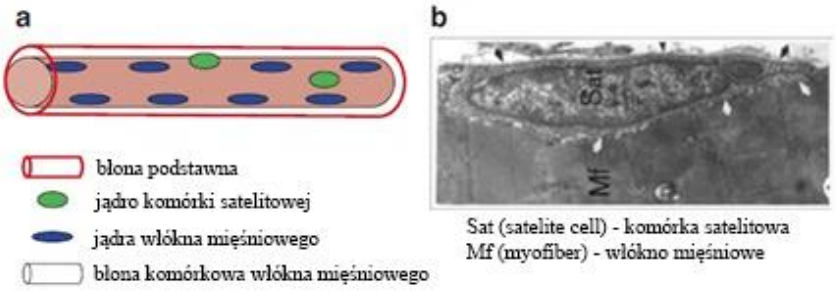
Proces proliferacji mioblastów oraz ich różnicowania w czasie rozwoju mięśni i regeneracji u ssaków i ptaków, regulowany jest także przez czynniki wzrostu i hormony. Proces ten został dobrze poznany, dzięki badaniom prowadzonym w hodowlach komórkowych oraz *in vivo* (Halevy i in. 2006).

Do czynników tych, jako mitogenów dla komórek mięśniowych, zalicza się inhibitory procesu różnicowania mioblastów, tj.: hormon wzrostu GH (*ang. growth factor*) (Halevy i in. 1996), czynnik wzrostowy hepatocytów HGF (*ang. hepatocyte growth factor*) (Sheehan i in. 2002) oraz czynnik wzrostu fibroblastów FGF (*ang. fibroblast growth factor),* należący do rodziny czynników wzrostu i odgrywających kluczową rolę m. in. w procesach proliferacji i różnicowania wielu typów komórek i tkanek (Halevy i in. 1994). Natomiast zasadniczym czynnikiem indukującym proces różnicowania i proliferacji komórek mięśniowych, zwiększając tym samym hipertrofię mięśni oraz chroniąc przed zanikiem mięśni postępującym wraz z wiekiem jest insulinopodobny czynnik wzrostu IGF-I (*ang. insulin – like growth factor I*) (Florini i in. 1996, Musaro i in. 2001).

Kolejnym genem istotnym dla prawidłowego przebiegu procesu miogenezy, regulującym procesy proliferacji i różnicowania komórek mięśniowych, jest gen kodujący miostatynę (MSTN). Miostatyna należy do rodziny transformujących czynników wzrostu TGFβ. Wykryto ją u podwójnie umięśnionego bydła rasy belgijskiej biało - błękitnej, w przypadku której o około 20% większa masa mięśniowa wynika z mutacji genu miostatyny, inicjującej hiperplazję komórek mięśniowych. Miostatyna, zwana też negatywnym czynnikiem wzrostu mięśni, odpowiedzialna jest za ograniczony rozwój mięśni szkieletowych hamując proliferację komórek miogennych i determinuje głównie ostateczną całkowitą liczbę włókien mięśniowych (Grobet i in. 1997, Motyl i in. 2004). Im większy poziom miostatyny w organizmie, tym trudniejszy jest przyrost masy mięśniowej. Jest ona zlokalizowana w sarkoplazmie włókien mięśniowych. Może wykazywać aktywność autokrynną (wytwarzana przez włókna mięśniowe), endokrynną (wydzielana poza komórkę i do osocza krwi) oraz parakrynną (wydzielana do komórek satelitowych). Gen miostatyny hamując namnażanie i różnicowanie komórek satelitowych (Thomas i in. 2000, Joulia i in. 2003) utrzymuje je w stanie spoczynku (McCroskery i in. 2003) oraz obniża poziom ekspresji genów z rodziny MyoD (Langley i in.2002).

2.3. KOMÓRKI SATELITOWE

Komórki satelitowe zostały odkryte w 1961 roku przez dwóch badaczy: Bernarda Katz'a i Alexandra Mauro, prowadzących badania, niezależnie od siebie, na szczurach i żabach. Opisali oni populację jednojądrowych komórek zlokalizowanych na obwodzie włókna mięśniowego, w niszy pomiędzy błoną komórkową włókna - sarkolemą a błoną podstawną otaczającą każde pojedyncze włókno. Na podstawie ich anatomicznego położenia, nazwano je komórkami satelitowymi.



Rys. 3. Schemat (a) oraz zdjęcie (b) spod mikroskopu elektronowego komórki satelitowej w jej anatomicznym położeniu. Immunodetekcja błony podstawnej i błony komórkowej włókna mięśniowego z wykorzystaniem przeciwciał przeciw lamininie i dystrofinie (za Yablonka - Reuveni i Day 2011), w modyfikacji własnej

Pochodzenie i rola komórek satelitowych przez długi czas nie była do końca wyjaśniona. Dotychczasowe badania generalnie potwierdzają hipotezę, że źródłem prekursorowych komórek mięśniowych, tj. mioblastów oraz komórek satelitowych, są multipotencjalne mezodermalne komórki somitów (Ordahl i in. 2000, Charge i Rudnicki 2004, Gros i in. 2005, Relaix i in. 2005, Schienda i in. 2006, Hutcheson i in. 2009, Lepper i in. 2009, Lepper i Fan 2010). Zatem wiadomo było, że mioblasty i komórki satelitowe uczestniczą w procesie miogenezy, natomiast dyskusyjną kwestią był fakt, w którym dokładnie momencie rozwoju embrionalnego komórki satelitowe stają się odrębną klasą mioblastów. W celu wyjaśnienia tego problemu skupiono się na określeniu cech fenotypowych obu typów komórek. Badania prowadzono w hodowlach komórkowych, które umożliwiły eliminację wpływu środowiska na fenotyp tych komórek. Obserwacje mioblastów w różnym wieku embrionalnym ptaków, gryzoni i ludzi dowiodły, że wykazują one zróżnicowane wymagania do optymalnego wzrostu (Shultz i McCormick 1994 za Hauschka 1974 oraz White i in. 1975), tworzą zróżnicowane morfologicznie miotuby (Shultz i McCormick 1994 za Bonner i Hauschka 1974), reagują odmiennie na ester forbolu (Shultz i McCormick 1994 za Cossu i in.1978) i czynniki wzrostu (Shultz i McCormick 1994 za Seed i Hauschka 1988) oraz wykazują różną ekspresję izoform białek mięśniowych (Cusella - De Angelis i in. 1992, Shultz i McCormick 1994 za Smith i Miller 1992). Z powyższych badań wynika, że istnieje kilka populacji mioblastów dominujących na różnych etapach procesu embriogenezy. Pierwszą z nich stanowią mioblasty zarodkowe (embryonic myoblasts) obecne we wczesnej (zarodkowej) embriogenezie. U kurcząt najliczniej mioblasty te występują w 5. dniu rozwoju embrionalnego (E5). Drugą populację tworzą mioblasty płodowe (fetal myoblasts), dominujące na etapie późnej embriogenezy (embriogeneza płodowa), tj. pomiędzy E8 a E12 (Stockdale 1992). Natomiast w 15. dniu embriogenezy (E15) pojedyncze włókno mięśniowe jest już otoczone błoną podstawną i na tym etapie rozwoju embrionalnego możliwe jest wyróżnienie na podstawie cech morfologicznych i położenia trzeciej populacji mioblastów, a mianowicie mioblastów dojrzałych (adult myoblasts), zwanych komórkami satelitowymi (Hartley i in. 1991). W przypadku kurcząt jest ich najwięcej w ostatnim dniu embriogenezy (Hartley i in. 1992, Stockdale 1992, Yablonka - Reuveni 1994).

Komórki satelitowe wykazują wiele odmiennych cech w stosunku do mioblastów zarodkowych i płodowych. W momencie wyjścia z cyklu komórkowego ich kształt jest wrzecionowaty, podczas gdy mioblasty zarodkowe są okrągłe (Cossu i in. 1980). Komórki satelitowe różnią się m. in. od mioblastów także ekspresją receptorów acetylocholiny (Cossu i in.1987) oraz miogenicznych czynników transkrypcyjnych (Cusella - DeAngelis i in. 1992). Badania prowadzone przez Hartley i in. (1992) dowiodły, że głównym wyznacznikiem odróżniającym komórki satelitowe od mioblastów zarodkowych, wyizolowanych z mięśni regenerujących i nieregenerujących, jest przede wszystkim ekspresja łańcuchów ciężkich miozyny. Według innych

autorów, komórki satelitowe wykazują dodatkowo różną ekspresję desminy (Yablonka - Reuveni i Nameroff 1990) i enzymu glikolitycznego - enolazy (Peterson 1992). Na podstawie przeprowadzonych obserwacji obu typów komórek stwierdzono, że w porównaniu do mioblastów komórki satelitowe różnicują się ostatecznie w późniejszym okresie embriogenezy, co pozwala na sugestię, że są one ostatnimi mioblastami w procesie tworzenia włókien, rozmieszczonymi na ich obwodzie w mięśniach zwierząt (Feldman i Stockdale 1992). Wymienione różnice dotyczące cech morfologicznych, ekspresji białek oraz wymogów co do warunków hodowli w/w komórek wskazują, że mioblasty, wędrując podczas rozwoju zarodkowego z miotomu do zawiązków przyszłych mięśni, są bezpośrednimi prekursorami komórek mięśniowych na tym etapie. Natomiast podstawowym źródłem komórek mięśniowych w okresie wzrostu postnatalnego i regeneracji mięśni szkieletowych są komórki satelitowe (Seale i in. 2000, Hawke i Garry 2001, Zammit i Beauchamp 2001).

Komórki satelitowe występują w mięśniach szkieletowych wszystkich kręgowców, niezależnie od wieku, typu włókien czy mięśnia. Najczęściej są one zlokalizowane w pobliżu naczyń kapilarnych, które zaopatrują je w podstawowe substancje odżywcze (Christov i in. 2007) oraz w pobliżu jąder włókien mięśniowych i motoneuronów. Z takiego położenia komórek satelitowych może wynikać odmienny rozkład ich populacji w poszczególnych typach włókien mięśniowych oraz mięśniach. I tak, włókna oksydatywne wykazują obecność nawet sześciokrotnie większej liczby komórek satelitowych aniżeli włókna glikolityczne, co przekłada się na zróżnicowany rozmiar populacji tych komórek także w mięśniach. W mięśniach oksydatywnych jest więcej komórek satelitowych w porównaniu z mięśniami glikolitycznymi, niezależnie od gatunku zwierząt (Dusterhoft i in. 1990). Może to wynikać z faktu, że w czasie wzrostu włókna oksydatywne wymagają włączenia większej liczby jąder mioblastów, powstałych na drodze intensywnych podziałów komórek satelitowych.

Liczba komórek satelitowych zależy od gatunku i wieku zwierząt oraz typu włókien mięśniowych (Shultz i Lipton 1982). Wraz z wiekiem ich liczba spada. Malejący odsetek komórek satelitowych w rosnących mięśniach wynika z ich wbudowywania się już w istniejące włókna mięśniowe w efekcie czego zwiększa się ich grubość i długość, co przekłada się na znaczące zwiększenie liczby jąder komórkowych tych włókien (Bischoff 1994, Hawke i Garry 2001 za Schultz i Lipton 1982).

Jak wspomniano wcześniej, komórki satelitowe występują w charakterystycznej dla siebie niszy. Tę niszę tworzą włókna mięśniowe wraz z błoną podstawną oraz wewnątrzmięśniowe adipocyty i fibroblasty (Kuang i in. 2008). W warunkach fizjologicznych nisza dojrzałych komórek satelitowych pozwala im pozostać w stanie uśpienia. Dopiero w momencie uszkodzenia mięśnia ulegają one aktywacji i dzielą się. Możliwość pozostania komórek satelitowych w stanie spoczynku w momencie, gdy nie ma żadnej

stymulacji w postaci bodźców różnego pochodzenia, jest kluczowa dla utrzymania puli tych komórek przez całe życie osobnicze (Kuang i Rudnicki 2008).

Ze względu na wielkość i anatomiczne położenie komórek satelitowych w mięśniach szkieletowych bardzo częstym narzędziem umożliwiającym ich obserwację jest mikroskop elektronowy (Mauro 1961, Katz 1961,Yablonka – Reuveni 1995, Brooks i in. 2009). Inną z kolei, obecnie najczęściej stosowaną metodą, pozwalającą na detekcję i obserwację pod mikroskopem świetlnym większej liczby komórek satelitowych jest analiza immunohistochemiczna (Biressi i Rando 2010). Początkowo, jedyną i pewną metodą pozwalającą na precyzyjne określenie topograficznego położenia komórek satelitowych w badanym mięśniu było jednoczesne zastosowanie swoistych przeciwciał znakujących niektóre elementy strukturalne sarkolemy (dystrofinę) lub błony podstawnej (lamininę) oraz przeciwciał swoistych dla komórek satelitowych, np. Pax7. Znakowanie podwójne z zastosowaniem przeciwciała lamininy S oraz Pax7 w mięśniu piersiowym kurcząt brojlerów w celu immunodetekcji komórek satelitowych przeprowadzono w badaniach Halevy i in. (2004). Dopiero badania zespołu badawczego Kuang i Rudnicki przeprowadzone w 2008 roku potwierdziły ostatecznie, że zastosowanie samego przeciwciała Pax7 pozwala na jednolity sposób identyfikacji tych komórek w ich natywnym położeniu u szeregu gatunków zwierząt, np.: myszy (Seale 2000, Collins i in. 2005, Shefer 2006, Day 2007, Day 2010), szczurów (Shefer 2010), kurcząt (Halevy 2004, Allouh 2008) oraz ludzi (Lindstrom 2009, Lindstrom 2010). W przeciwieństwie do markerów takich jak: Myf5, CD34 czy M - kadheryna, znakujących tylko niektóre subpopulacje komórek satelitowych w mięśniach (Kuang i in. 2007, Beauchamp i in. 2000), białko Pax7 wykazuje ekspresję we wszystkich komórkach satelitowych w stanie spoczynku u wszystkich gatunków zwierząt i ludzi. Ponieważ w mięśniach, poza komórkami satelitowymi, nie ma innych komórek produkujących to białko, stwierdzono, że Pax7 jest jedynym markerem znakującym tylko te komórki (Kuang i Rudnicki 2008).

W związku z tym, że dotychczas poznane i opisane markery komórek satelitowych, oprócz wymienionego wyżej białka Pax7, nie występują we wszystkich komórkach zlokalizowanych w charakterystycznej dla nich niszy (Biressi i Rando 2010, Boldrin i in. 2010) oraz, że tylko część komórek satelitowych z tej niszy wykazuje właściwości komórek macierzystych stwierdzono, że populacja komórek satelitowych jest heterogenna (Collin i in. 2005, Sacco i in. 2008).

Identyfikacja komórek satelitowych przyczyniła się do uznania je za długo poszukiwane macierzyste komórki mięśniowe, które wykazują niezwykły potencjał regeneracyjny mięśni szkieletowych zarówno u ludzi, jak i wszystkich gatunków zwierząt.

2.4. ZNACZENIE BIAŁKA PAX7 DLA POPULACJI KOMÓREK SATELITOWYCH I PROCESU MIOGENEZY

Prekursorowe komórki mięśniowe syntetyzują czynniki transkrypcyjne z rodziny Pax, tj. Pax3 oraz Pax7 (Gros i in. 2005, Kassar – Duchossoy i in. 2005). Czynniki te należą do grupy genów (Pax1 - Pax9), zawierających sekwencję kodującą domenę „*paired*" wiążącą DNA, stąd ich nazwa *ang. Paired – box transcription factor*. Blisko 90% komórek znajdujących się w środkowej części dermomiotomu, z którego później wykształcą się mięśnie, wykazuje obecność zarówno czynnika Pax3 jak i Pax7 (McKinnell i Rudnicki 2005). Białka te są kluczowymi regulatorami procesu miogenezy, przy czym, jak już wspomniano w poprzednim rozdziale, to obecność białka Pax7 w mięśniach jest charakterystyczna tylko dla komórek satelitowych (Kuang i Rudnicki 2008). Jest ono syntetyzowane w niezróżnicowanych komórkach satelitowych na wysokim poziomie i w znacznym stopniu decyduje o powstaniu odpowiednio dużej puli tych komórek (Olguin i in. 2004). Białko to pełni także kluczową rolę w utrzymaniu ich populacji w stanie spoczynku oraz odpowiada za jej samoodnawianie (Przewoźniak i Brzóska 2008 za Buckingham i Relaix 2007). Białko Pax7, determinując losy komórek satelitowych w okresie pourodzeniowym, ma znaczący wpływ na tempo i prawidłowy przebieg procesu wzrostu mięśni różnych gatunków zwierząt. Co prawda, w badaniach prowadzonych na myszach, których mięśnie szkieletowe były pozbawione tego czynnika (myszy Pax7-/-), nie zaobserwowano zaburzeń procesu miogenezy, ale zanotowano gwałtowny spadek liczby komórek satelitowych krótko po urodzeniu. Doprowadziło to w efekcie do wolniejszego przyrostu masy mięśni badanych myszy (Oustanina i in. 2004, Relaix i in. 2005). Z innych danych piśmiennictwa wynika, że brak czynnika Pax7 prowadzi do całkowitej utraty puli komórek satelitowych oraz nieprawidłowej budowy włókien mięśniowych, co może świadczyć o pełnieniu roli tego białka w specyfikacji komórek satelitowych (Seale i in. 2004). Za zmniejszenie liczby komórek satelitowych w mięśniach zwierząt Pax7-/- odpowiada apoptoza. Zatem, kolejną ważną funkcją opisywanego czynnika transkrypcyjnego jest również zapobieganie procesom apoptozy (Buckingham i Relaix 2007, Archacka i in. 2013).

Ekspresja białka Pax7 w komórkach satelitowych mięśni szkieletowych ssaków oraz ptaków, jest najwyższa w pierwszym dniu po urodzeniu/wylęgu i zmniejsza się wraz z wiekiem (Halevy i in. 2004). Aktywacja niezróżnicowanych komórek satelitowych, w wyniku uszkodzenia włókien mięśniowych, prowadzi do obniżenia poziomu tego białka i syntezy mięśniowych czynników regulatorowych – MRF (ang. *myogenic regulatory factors*), tj. *MyoD* i *Myf5* (Seale i in.2004). Białko Pax7 kontroluje także ekspresję czynnika *MyoD* (Olguin i in. 2004).

Analizując powyższe fakty, można stwierdzić, że obecność białka Pax7 w mięśniach szkieletowych zwierząt jest niezbędna dla ich prawidłowego wzrostu po urodzeniu.

2.5. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE WPŁYWAJĄCE NA ROZWÓJ EMBRIONALNY ORAZ WYNIKI WYLĘGU PTAKÓW: ŚWIATŁO I TEMPERATURA

W efekcie intensyfikacji produkcji kurcząt rzeźnych, okres embrionalny oraz wczesny okres po wylęgu piskląt stanowią większą część życia brojlerów (Halevy i in. 2006b, Hulet 2007). Rozwój embrionalny oraz wyniki wylęgu ptaków zależą od czynników różnego pochodzenia, do których można zaliczyć głównie: genotyp, wiek, żywienie i utrzymanie stad rodzicielskich, a także masę i skład chemiczny jaja oraz technologię lęgu. Dlatego, z punktu widzenia produkcji mięsa w przypadku kurcząt brojlerów - poddanych selekcji na szybkie tempo wzrostu - najważniejszym okresem jest ich pierwszy tydzień życia. W związku z tym, w celu optymalizacji wylęgowości piskląt oraz przyspieszenia wzrostu mięśni i produkcji mięsa brojlerów, a także w celu poprawy możliwości adaptacyjnych piskląt po wylęgu do otaczającego środowiska, skoncentrowano się przede wszystkim na manipulacji środowiskiem zewnętrznym zarodków (Tzschentke i Plaggeman 2006, Xie i in. 2008).

Jak podają dane piśmiennictwa (Deeming i Ferguson 2004) wpływ wielu bodźców działających we wczesnym okresie wzrostu i rozwoju ptaków jest już stosunkowo dobrze poznany. Niewiele jest natomiast dostępnych danych dotyczących długości trwania ich wpływu i skali oddziaływania na wzrost i rozwój oraz kształtowanie się cech produkcyjnych w okresie postembrionalnym ptaków. Spośród wielu dotychczas przeprowadzonych badań wynika, że szczególnie istotne dla poziomu organizacji komórek, tkanek i narządów oraz dla cech produkcyjnych drobiu jest zastosowanie we wczesnym okresie rozwoju ptaków promieniowania elektromagnetycznego lub też promieniowania cieplnego (temperatura).

Wpływ promieniowania elektromagnetycznego uzależniony jest przede wszystkim od długości jego fali. Jako skuteczny środek odkażający jaja wylęgowe stosowane jest promieniowanie ultrafioletowe, które zmniejsza z reguły odsetek zarodków niewyklutych, przekładając się tym samym na poprawę wyników lęgu ptaków (Bednarczyk 1983). Światło fluorescencyjne natomiast, stymuluje rozwój embrionalny zarodków kurzych, tj. liczbę somitów, masę ciała zarodka, poziom metabolitów oraz czas trwania lęgu (Bednarczyk i in. 1984, Bednarczyk i Coudert 1984). Pobudza także rozwój układu immunologicznego drobiu, poprzez zwiększenie całkowitej liczby erytrocytów i wcześniejsze pojawienie się leukocytów we krwi obwodowej zarodków.

Istotny wpływ na rozwój postembrionalny ptaków jako czynnik środowiskowy wywiera światło. We współczesnym przemyśle drobiarskim jego głównym

źródłem jest oświetlenie sztuczne, które w zależności od zastosowanego cyklu świetlnego, barwy oraz jego natężenia może wywierać szczególny wpływ na wzrost ptaków oraz ich cechy reprodukcyjne (Andrews i Zimmerman 1990). Na przestrzeni wielu lat podejmowano próby ustalenia, czy określona barwa i rodzaj światła może wpłynąć na wskaźniki produkcyjne młodych ptaków rzeźnych, cechy użytkowe ptaków dorosłych oraz na jakość mięsa drobiu (Andrews i Zimmermann 1990, Gwara i in 1999, Rozenboim i in. 1999, Gwara i Hoder 2001, Rozenboim i in. 2004a). Wyniki niektórych badań sugerują, że barwa światła aplikowanego w czasie odchowu kurcząt brojlerów może być korzystnie skorelowana z ich masą ciała i masą mięśni szkieletowych. Kurczęta typu mięsnego naświetlane w czasie odchowu fluorescencyjnym światłem niebieskim lub zielonym mają istotnie większą masę ciała w porównaniu z tymi, które naświetlano światłem czerwonym lub białym (Halevy i in. 2006a za Wabeck i Skoglund 1974). Podobny wpływ światła zanotowano u przepiórek (Phogat i in. 1985). Stymulacja monochromatycznym światłem barwy niebieskiej lub zielonej zastosowana u kurcząt od 1. doby życia wpłynęła korzystniej na zwiększenie ich masy ciała i masy mięśni w porównaniu z grupą naświetlaną światłem czerwonym i białym (Rozenboim i in. 1999). Halevy i in. (1998) zaobserwowali, że istotne zwiększanie się masy ciała i masy mięśni szkieletowych kurcząt brojlerów jest wysoko skorelowane ze wzrostem liczby komórek satelitowych w mięśniach w 3. dniu po wylęgu. Porównując wpływ monochromatycznego światła różnej barwy zastosowanej w czasie odchowu autorzy ci stwierdzili, że szczególnie światło zielone przyspiesza wczesny, postnatalny rozwój mięśni kurcząt, co pozytywnie przekłada się na cechy mięsne ptaków w końcowym okresie tuczu. Światło jest także jednym z czynników środowiskowych, które zastosowane w okresie embriogenezy wpływa na tempo rozwoju embrionalnego ptaków (Shafey i Al – Mohsen 2002 za Lauber i Shutze 1964 oraz Lauber 1975), wylęgowość (Szymkiewicz i in. 1985) oraz na czas wylęgu (Adam i Dimond 1971, Shafey i Al – Mohsen 2002za Lauber i Shutze 1964). Badania wielu zespołów badawczych wykazały, że stymulacja światłem białym w okresie embriogenezy przyspiesza rozwój embrionalny i wylęg różnych gatunków ptaków (Walter i Voitle 1972, Walter i Voitle 1973, Coleman i McDaniel 1975, Coleman i McDaniel 1976, Fairchild i Christensen 2000). Z kolei, światło zielone stosowane w cyklu ciągłym zmniejsza zamieralność zarodków kurzych (Shafey i Al - Mohsen 2002). Badania Rozenboim i współautorów (2003) nad stymulacją monochromatycznym światłem barwy zielonej i białej w okresie inkubacji jaj indyczych dowiodły, że indyczki naświetlane podczas embriogenezy światłem zielonym miały wyższą masę ciała między 28. a 59. dniem życia niż ptaki z grupy naświetlanej światłem białym i z grupy kontrolnej. Podobne efekty uzyskano w doświadczeniach Halevy i in. (2006a) oraz Rozenboim i in. (2004b) przeprowadzonych na kurczętach brojlerach, których jaja inkubowano z zastosowaniem monochromatycznego światła zielonego. Halevy i in. (2006a) naświetlając jaja wylęgowe w cyklu

przerywanym 15 minut światła i 15 minut ciemności między 5. a 14. dniem inkubacji, a następnie w cyklu ciągłym od 15. do ostatniego dnia lęgu, stwierdzili w 6. dniu życia kurcząt istotnie większą masę mięśni piersiowych w grupie stymulowanej światłem w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei, zespół badawczy Rozenboim i in. (2004b) stosując stymulację embriogenezy monochromatycznym światłem zielonym w cyklu 15 minut światła i 15 minut ciemności, jednak w odróżnieniu od wyżej wspomnianych badań Halevy i in. (2006a), stosowali je od 5. dnia inkubacji aż do wylęgu stwierdzili, że zastosowana fotostymulacja nie zwiększyła masy ciała kurcząt brojlerów bezpośrednio po wylęgu, ale istotnie zwiększyła wartość tego parametru w grupie naświetlanej w pierwszym tygodniu życia tych ptaków. Dodatkowo, w jednej z grup badali oni wpływ nie tylko stymulacji światłem w okresie embriogenezy, ale także wpływ kontynuacji naświetlania kurcząt takim samym światłem w okresie ich odchowu. Badania te sugerują, że stymulacja światłem zielonym w okresie embriogenezy kurcząt – jak określili autorzy tej pracy - „maksymalnie" zwiększyła ich postnatalną masę ciała i masę mięśni szkieletowych. Zatem dalsza fotostymulacja zastosowana w okresie odchowu była już nieskuteczna.

Wyniki doświadczeń obu zespołów badawczych dowiodły, że to głównie światło barwy zielonej przyspiesza rozwój mięśni w pierwszych dniach po wylęgu kurcząt.

Temperatura to kolejny czynnik fizyczny wpływający istotnie na procesy lęgu. Zastosowanie optymalnej temperatury w czasie inkubacji jaj warunkuje wyższą wylęgowość oraz lepszy stan zdrowotny piskląt. Podczas inkubacji jaj ptaków dzikich utrzymuje się temperaturę na poziomie 33 - 30°C, natomiast w przypadku jaj ptactwa domowego: 37 - 38°C (Visschedijk 1991). Badania Yahav i in. (2004) dowiodły, że oddziaływanie na zarodki kurze zróżnicowaną temperaturą w okresie inkubacji jaj zwiększa zdolności adaptacyjne piskląt do wysokiej lub niskiej temperatury otoczenia po wylęgu. Termoregulacja związana jest z rozwojem hormonalnego szlaku: podwzgórze - przysadka - tarczyca, a także podwzgórze - przysadka - nadnercza, ze względu na to, że zarówno tarczyca, jak i nadnercza w znacznym stopniu pobudzają metabolizm, a tym samym produkcję ciepła.

Piestun i in. (2009) zaobserwowali, że w wyniku termomanipulacji zastosowanej w późnym okresie embriogenezy (między E16 a E18) następuje intensyfikacja procesu proliferacji mioblastów już w okresie prenatalnym (E17) i jego kontynuacja trwa we wczesnym okresie postnatalnym. Zwiększona pula prekursorowych komórek mięśniowych - uczestniczących w procesie wzrostu i rozwoju mięśni – przełożyła się po wylęgu na większą grubość włókien mięśniowych oraz na większą całkowitą masę mięśni szkieletowych i masę ciała ptaków z grup doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną. Uzyskane przez ten zespół badawczy wyniki podkreślają, iż chcąc ingerować w proces wzrostu i rozwoju mięśni ptaków bardzo ważny jest dobór odpowiedniej temperatury oraz okresu, w którym może ona być zastosowana.

Zarówno światło, jak i temperatura mogą wpływać pośrednio na miogeniczną aktywność komórek poprzez układ hormonalny lub poprzez mitogeny zewnątrzkomórkowe, wydzielane przez sąsiadujące tkanki. Prawdopodobnie mechanizm stymulacji embriogenezy światłem polega na otrzymaniu przez zarodki ptaków sygnałów z siatkówki lub z fotoreceptorów szyszynki. Natomiast podwyższenie temperatury lęgu oddziałuje głównie na oś termoregulacyjną w krytycznych fazach rozwoju embrionalnego lub w pierwszych dniach po wylęgu piskląt (Halevy 2006b). Halevy i in. (1998) zaobserwowali, że w wyniku stymulacji światłem zielonym nastąpił wzrost poziomu hormonu wzrostu (GH) we krwi, który uznano za mitogen komórek satelitowych (Halevy i in. 1996, Sadowski i in. 2001). Natomiast w przypadku podwyższenia temperatury w 3. dniu po wylęgu piskląt zwiększył się poziom hormonu trójjodotyroniny (T3) w osoczu, co było skorelowane z przyspieszeniem wzrostu mięśni ptaków (Yahav i Hurwitz 1996, Yahav i McMurtry 2001). Wcześniejsze badania innych zespołów badawczych wykazały korzystny wpływ tego hormonu na procesy różnicowania i fuzji komórek mięśniowych u ptaków oraz ssaków (Carnac i in. 1992, Marchal i in. 1993). IGF-I odgrywa kluczową rolę w proliferacji i różnicowaniu komórek satelitowych, a jego zwiększony poziom we krwi wykryto w pierwszych dniach życia piskląt, których jaja poddawano stymulacji świetlnej bądź manipulacjom temperatury (Halevy i in. 2006a). Zatem, stymulacja okresu embriogenezy światłem lub temperaturą może stworzyć właściwe środowisko, które w postaci sygnałów z zewnątrz korzystnie wpływa na proliferację komórek satelitowych w mięśniach szkieletowych ptaków. W standardowych warunkach lęgu aktywność mioblastów dojrzałych pojawia się dopiero w późnych stadiach rozwoju (Halevy i in. 2006b).

Na podstawie wyżej opisanych obserwacji można wnioskować, że istnieje potencjalna możliwość regulacji wzrostu i rozwoju mięśni szkieletowych ptaków poprzez działanie światłem o odpowiednich parametrach oraz podwyższoną temperaturą lęgu, co może korzystnie wpłynąć na dalszy wzrost efektywności ich selekcji, a tym samym ich użytkowania.

3. HIPOTEZA BADAWCZA I CELE PRACY

Nieustanne poszukiwania nowych metod poprawy ilości i jakości mięsa drobiowego koncentrują się m. in. na manipulacji środowiskiem zewnętrznym zarodków kurzych. W piśmiennictwie naukowym brakuje prac dotyczących wpływu monochromatycznego światła barwy zielonej, zastosowanego między 1. a 18. dobą embriogenezy kurcząt w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności lub w cyklu 12 godzin światła i 12 godzin ciemności. Analogicznym założeniem kierowano się dobierając odpowiedni program manipulacji podwyższoną temperaturą lęgu.

Przeprowadzone badania zweryfikują hipotezę, czy zastosowane podczas embriogenezy kurcząt monochromatyczne światło barwy zielonej o długości fali 560 nm oraz podwyższona temperatura stymulują proces miogenezy, wyrażony grubością włókien mięśniowych, liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w mięśniu piersiowym, a także masą ciała i masą mięśni piersiowych w 1. i/lub 4. i 8. dobie życia kurcząt.

Cele pracy:

1. Ocena wpływu naświetlania jaj wylęgowych (od 1. do 18. doby lęgu) światłem barwy zielonej w dwóch różnych cyklach na masę ciała i miogenezę mięśnia piersiowego kurcząt, wyrażoną grubością włókien mięśniowych oraz liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w 1. dobie życia (doświadczenie IA).
2. Ocena wpływu optymalnego programu świetlnego (w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności od 1. do 18. doby lęgu) – wybranego na podstawie analizy wyników w doświadczeniu IA – na masę ciała i miogenezę mięśnia piersiowego kurcząt, wyrażoną jego masą, grubością włókien mięśniowych oraz liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w 1., 4. i 8. dobie życia (doświadczenie IB).
3. Ocena wpływu podwyższonej temperatury lęgu (do 38,5°C lub do 39,0°C między 15. a 18. dobą lęgu przez 5 godzin/dobę) na masę ciała i miogenezę mięśnia piersiowego kurcząt, wyrażoną grubością włókien mięśniowych oraz liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w 1. dobie życia kurcząt (doświadczenie II).
4. Ocena wpływu optymalnego programu świetlnego i optymalnej podwyższonej temperatury zastosowanych podczas embriogenezy kurcząt (j. w.) na ekspresję genu Pax7 w 18. dobie lęgu oraz na masę ciała i miogenezę mięśnia piersiowego kurcząt wyrażoną jego masą, grubością włókien mięśniowych oraz liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w 4. i 8. dobie życia kurcząt (doświadczenie III).

We wszystkich doświadczeniach uwzględniono również wyniki wylęgu piskląt z jaj nałożonych.

4. MATERIAŁ I METODY

Badania podzielono na cztery doświadczenia: IA i IB, II i III, w których zastosowano stymulację procesu miogenezy podczas embriogenezy kurcząt monochromatycznym światłem barwy zielonej o długości fali 560 nm lub podwyższoną temperaturą między 15. a 18. dobą lęgu przez 5 godzin/dobę. Doświadczenia częściowo realizowano w ramach projektu badawczego nr N N311 3346 33.

Materiał doświadczalny dla każdego etapu badań stanowiły jaja wylęgowe i kurczęta brojlery w różnym wieku. Inkubację jaj kur typu mięsnego firmy Hubbard (mieszaniec F15) - zakupione w firmie Drobex - Agro sp. z o.o.- przeprowadzano w aparatach lęgowych firmy Fest, model ALMD-1 z oddzielną komorą klujnikową, model: ALMU1-10. Jeden z aparatów lęgowych był wyposażony w diody LED, emitujące światło barwy zielonej (o w/w parametrach).

Fot. 1. Aparat lęgowy z włączonym monochromatycznym światłem barwy zielonej o długości fali 560 nm

W przeprowadzonych doświadczeniach jaja przeznaczone do nakładu pochodziły zawsze z tego samego stada. Po zniesieniu były dezynfekowane

oraz przechowywane - do 5 dni – w temperaturze 14-16°C. Jaja wylęgowe przed nakładem do aparatów lęgowych oraz przed przekładem do klujnika ważono indywidualnie. We wszystkich aparatach lęgowych utrzymywano wilgotność względna na poziomie 60-64%. W 18. dobie lęgu prześwietlano je w celu eliminacji martwych embrionów, a następnie umieszczano w klujnikach, w których temperatura wynosiła 37,6°C, a wilgotność względna 65-73%.
Badając wpływ zastosowanej w okresie embriogenezy fotostymulacji lub podwyższonej temperatury na proces miogenezy kurcząt analizowano następujące parametry:

- masa jaj wylęgowych przed nakładem i w 18. dobie inkubacji (g)
- wylęgowość piskląt z jaj nałożonych (%)
- masa ciała w dniu uboju (g)
- masa mięśni piersiowych (g)
- udział (%) mięśni piersiowych w żywej masie ciała
- średnica włókien w mięśniu piersiowym powierzchownym (µm)
- liczba komórek satelitowych obliczona na danej jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego

Po przeprowadzeniu doświadczenia IA wybrano optymalny program świetlny i zastosowano go w doświadczeniu IB i III. Natomiast na podstawie analizy wyników z doświadczenia II wybrano optymalny wariant podwyższonej temperatury lęgu i zastosowano go w doświadczeniu III.

Do badań histochemicznych we wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach, zamrożone w ciekłym azocie próby z mięśni piersiowych (lewy i prawy), ścinano w kriostacie firmy Leica JUNG CM 3000 (Fot. 2.) na skrawki o grubości 10 µm i przeprowadzono na nich histochemiczną reakcję z zastosowaniem hematoksyliny Mayer'a oraz eozyny – barwienie H+E, według Dubowitz'a i in. (1973).

Fot. 2 . Sporządzanie skrawków mrożeniowych w kriostacie firmy Leica

Celem badań histomorfologicznych był pomiar średnicy 200. prawidłowych włókien mięśniowych u każdego osobnika na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego kurcząt w różnym wieku. Dokonano pomiaru najkrótszej średnicy włókien według metody Brooke'a (1970), która pozwala uniknąć ewentualnych błędów w czasie pomiarów na skrawkach histologicznych, gdzie włókna mogą być ścięte skośnie do długiej osi lub uległy zgięciu.

Próby z mięśni piersiowych utrwalone w formalinie zatapiano w parafinie. Następnie, w celu wyróżnienia komórek satelitowych - we współpracy z Zakładem Patologii Nowotworów i Patomorfologii z Centrum Onkologii im. Prof. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy - na przygotowanych skrawkach parafinowych przeprowadzano reakcję immunohistochemiczną. Była to reakcja na obecność białka swoistego dla komórek satelitowych - Pax7. W tym celu zastosowano następującą procedurę: antygeny w skrawkach tkankowych o grubości 4µm, po odparafinowaniu i uwodnieniu, odkrywano w buforze EDTA o pH 9,0 i po zablokowaniu endogennej aktywności peroksydazy (3,0% H_2O_2 i 5% BSA), przeprowadzono inkubację z przeciwciałem Pax7, rozcieńczonym 1:100. Zastosowano system detekcyjny EnVisionAnti Mouse firmy DAKO. Zabarwione chromogenem (DAB) skrawki podbarwiono hematoksyliną Mayer'a. Na podstawie wykonanego barwienia immunohistochemicznego określano u każdego osobnika liczbę komórek satelitowych (Pax7 - pozytywnych) na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego kurcząt.

Sporządzone preparaty histologiczne i immunohistochemiczne analizowano pod mikroskopem świetlnym. W celu pomiarów najkrótszej

średnicy włókien mięśniowych na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego kurcząt do pamięci komputera wczytywano 6 obrazów cyfrowych z każdego preparatu/osobnika (powiększenie 125x). Natomiast, w celu określenia liczby komórek satelitowych na jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego ($1mm^2$), do pamięci komputera wczytano 3 obrazy cyfrowe z każdego preparatu/osobnika (powiększenie 400x). Analizy te przeprowadzono przy pomocy cyfrowego systemu MultiScanBase v. 14.02.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej i przedstawiono je dla każdego analizowanego parametru jako średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe (±SD). Zgodność rozkładu zmiennych z rozkładem normalnym sprawdzano za pomocą testu W Shapiro - Wilka. W przypadku rozkładu normalnego do porównania średnich pomiędzy badanymi grupami ptaków zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Natomiast w przypadku, gdy rozkład różnił się istotnie od rozkładu normalnego istotność różnic pomiędzy grupami kurcząt sprawdzano testem nieparametrycznym Kruskala – Wallisa. Jednorodność wariancji sprawdzano testem Levene'a. Obliczeń statystycznych dokonano za pomocą programu Statistica AXAP wersja 10.0. MR1.

Doświadczenie IA:

Celem badań była ocena wpływu światła zastosowanego w okresie embriogenezy (między 1. a 18. dobą lęgu) na wybrane parametry kurcząt w 1. dobie życia:

* standardowe warunki lęgu
** cykl świetlny: Grupa Ś1 - 30 minut światła i 30 minut ciemności od 1. do 18. dnia inkubacji jaj wylęgowych, Grupa Ś2 - 12 godzin światła i 12 godzin ciemności od 1. do 18. dnia inkubacji jaj wylęgowych

Rys. 4. Schemat układu doświadczenia i analizowane parametry

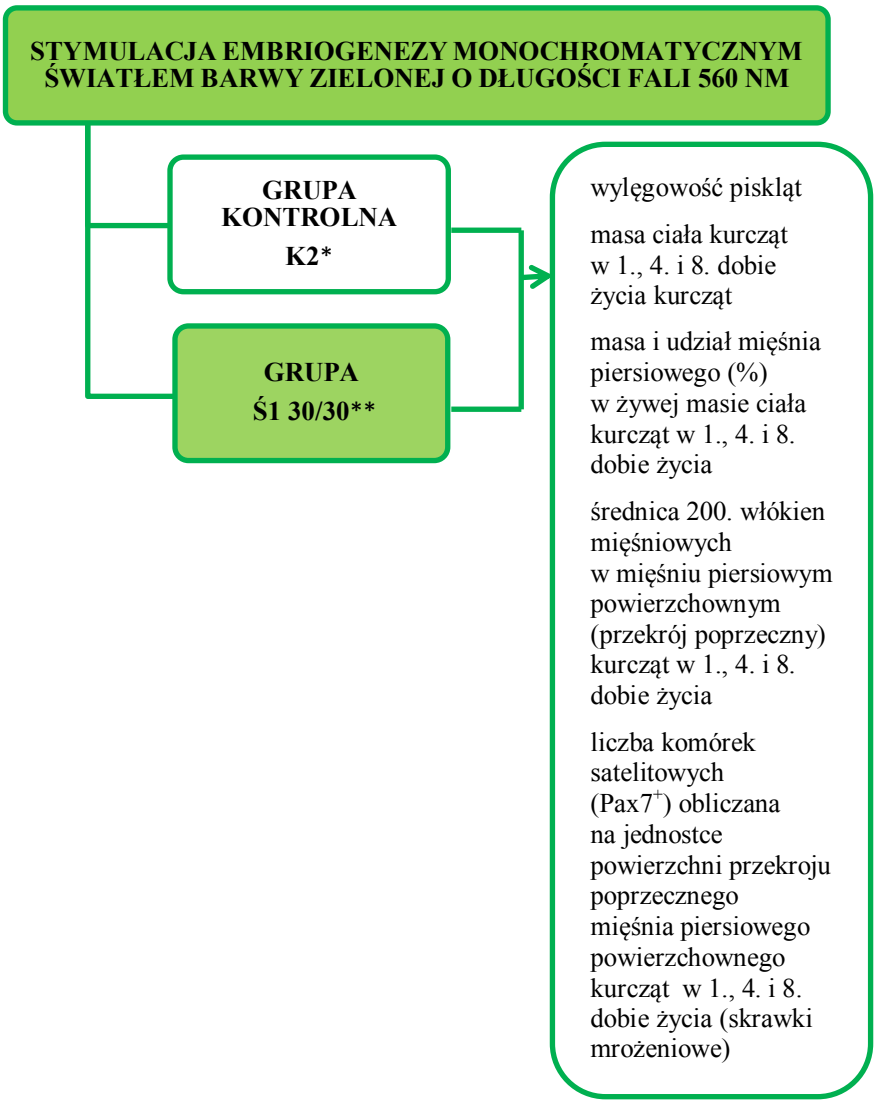
Zgodnie z metodyką doświadczenia, w okresie od 1. do 18. doby lęgu, w grupie doświadczalnej zastosowano naświetlanie jaj wylęgowych światłem barwy zielonej, w cyklu – 30 minut światła i 30 minut ciemności (grupa Ś1 30/30) lub w cyklu: 12 godzin światła i 12 godzin ciemności (grupa Ś2 12/12). W grupie kontrolnej (grupa K1) jaja lężono bez światła. Ogółem w w/w grupach nałożono 150 jaj wylęgowych (50 jaj/grupę). W aparatach lęgowych utrzymywano taką samą temperaturę, tj. 37,8°C.

Po wylęgu (1. doba życia) wybierano losowo po 10 piskląt z każdej grupy, ptaki ważono i ubijano. Wszystkie pozostałe kurczęta z poszczególnych grup ważono indywidualnie w tym samym dniu. Bezpośrednio po uboju pobierano dwie próby z mięśni piersiowych. Jedną z nich zamrażano w ciekłym azocie (-196°C), drugą zaś utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie.

Pomiar średnicy 200. włókien mięśniowych oraz immunodetekcję komórek satelitowych w mięśniu piersiowym 1. dniowych kurcząt przeprowadzano zgodnie z metodyką przedstawioną powyżej.

Doświadczenie IB

Celem badań była ocena wpływu optymalnego programu świetlnego (30/30) zastosowanego w okresie embriogenezy (między 1. a 18. dobą lęgu) na wybrane parametry kurcząt w 1., 4. i 8. dobie życia:



* standardowe warunki lęgu
** cykl świetlny: Grupa Ś1 - 30 minut światła i 30 minut ciemności od 1. do 18. dnia inkubacji jaj wylęgowych

Rys. 5. Schemat układu doświadczenia i analizowane parametry

Doświadczenie IB przeprowadzano w celu potwierdzenia wpływu optymalnego programu świetlnego (monochromatyczne światło barwy zielonej o długości fali 560 nm, w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności) na wybrane cechy rzeźne kurcząt w 1., 4. i 8. dobie życia. Badania przeprowadzono na dwóch grupach ptaków, tj. na grupie kontrolnej (K2) - bez światła oraz na grupie doświadczalnej Ś1. Ogółem w dwóch grupach nałożono 200 jaj wylęgowych (100 jaj/grupę). Po wylęgu pisklęta umieszczano w specjalnej klatce do odchowu, w której utrzymywano je do czasu uboju (Fot. 3. i 4.).

Fot. 3. Klatka do odchowu kurcząt w pierwszych dniach po wylęgu

Fot. 4. Odchów kurcząt w pierwszych dniach po wylęgu

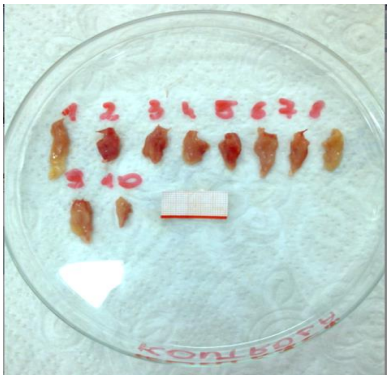
Podczas odchowu kontrolowano temperaturę pomieszczenia oraz zapewniano pisklętom stały dostęp do wody i mieszanki paszowej pełnoporcjowej (skład podany poniżej).

Wartość pokarmowa i skład chemiczny oraz skład surowcowy i dodatki paszowe mieszanki pełnoporcjowej dla kurcząt brojlerów (Prestarter) skarmianych od 1. do 8. doby życia ptaków (Producent: PROVIMI, Sp. z o. o.):

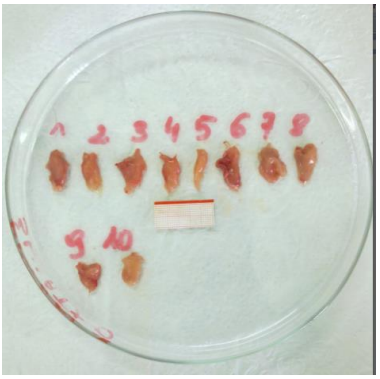
1. Wartość pokarmowa i skład chemiczny	
Energia metaboliczna	min. 3050 kcal/kg
Białko ogólne kalkulowane	min. 23,00 %
Białko ogólne gwarantowane	min. 22,00 %
Włókno surowe	max. 4,30 %
Popiół surowy	min.–max. 6,50 % - 8,50 %
Tłuszcz surowy	min.–max. 5,70 % - 7,70%
Ca	min. 1,2 %
P–przyswajalny	min. 0,5 %
Na	min. 0,20 %
Lizyna	min. 1,37 %
Metionina	min. 0,65 %
Met. + Cyst.	min. 1,01 %
Tryptofan	min. 0,26 %
Wilgotność	max. 14 %

2. Skład surowcowy	
- Materiały paszowe pochodzenia roślinnego (ziarno zbóż, produkty frakcyjne i uboczne z nasion roślin oleistych) - Materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego (produkty rybne) - Materiały paszowe pochodzenia mineralnego - Materiały paszowe pochodzenia mieszanego (oleje i tłuszcze) - Premiks mineralno – witaminowy	
3. Dodatki paszowe	
Siarczan miedzi pięciowodny; Cu	20,00 mg
Witamina E; alfa-tokoferol	200,00 mg
Witamina A	14,000 j. m.
Witamina D3	3,500 j. m.
Endo-1,4-beta-ksylanaza; EC 3.2.1.8., UE-5, 1000FXU/g	+
Kwasy organiczne	+

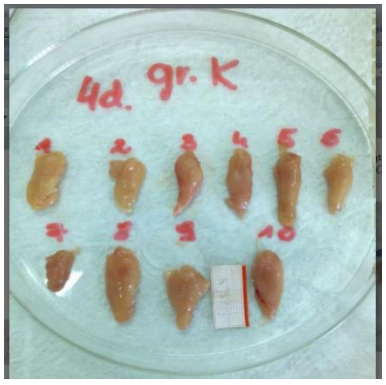
W 1., 4. i 8. dobie życia wybierano losowo po 10 kurcząt z każdej grupy, ptaki ważono i ubijano. Wszystkie pozostałe kurczęta z każdej grupy ważono indywidualnie w tych samych terminach. Bezpośrednio po uboju ptaków, pobierano próby z ich mięśnia piersiowego powierzchownego, które mrożono w ciekłym azocie. Na skrawkach mrożeniowych przeprowadzano zarówno reakcje histochemiczne, jak i immunohistochemiczne. Pomiar średnicy 200. włókien mięśniowych w mięśniu piersiowym badanych kurcząt przeprowadzono zgodnie z metodyką przedstawioną powyżej. Badania immunohistochemiczne natomiast (w odróżnieniu od pozostałych doświadczeń przeprowadzonych w ramach badań własnych) miały na celu także topograficzne wyróżnienie komórek satelitowych. Założeniem było, że reakcja immunohistochemiczna umożliwi detekcję białka lamininy S, czyli składnika błony podstawnej włókna mięśniowego oraz białka Pax7. Zastosowanie podwójnego znakowania w celu immunodetekcji komórek satelitowych na skrawkach mrożeniowych podyktowane była faktem, że w ramach wcześniej przeprowadzonych badań w Zakładzie Histologii Zwierząt (Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. J. J. Śniadeckich w Bydgoszczy) na skrawkach parafinowych nie było to możliwe. Badania na skrawkach mrożeniowych wykonano we współpracy z Katedrą i Zakładem Patomorfologii Klinicznej (Uniwersytet Mikołaja Kopernika *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy). Niestety, wbrew zapewnieniom producentów dostarczających przeciwciała i systemy wizualizacyjne do reakcji immunohistochemicznych okazało się, że są one wystandaryzowane do preparatów parafinowych. W związku z tym, nie była możliwa identyfikacja komórek $Pax7^{+}$ i błony podstawnej w mięśniu piersiowym badanych ptaków. Ponadto, u 1., 4. i 8. dniowych kurcząt wypreparowano mięśnie piersiowe (major i minor), które łącznie ważono i fotografowano (Fot. 5 – 10).



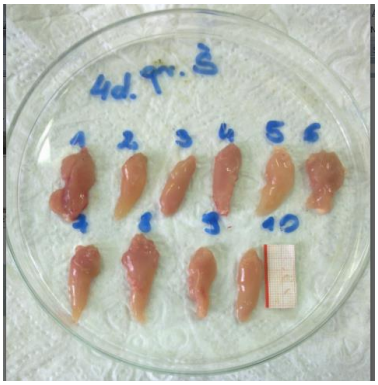
Fot. 5. Mięśnie piersiowe kurcząt w 1. dobie życia – Grupa K2 (Kontrola)



Fot. 6. Mięśnie piersiowe kurcząt w 1. dobie życia – Grupa Ś1 (30/30)



Fot. 7. Mięśnie piersiowe kurcząt w 4. dobie życia – Grupa K2 (Kontrola)



Fot. 8. Mięśnie piersiowe kurcząt w 4. dobie życia – Grupa Ś1 (30/30)

Fot. 9. Mięśnie piersiowe kurcząt w 8. dobie życia – Grupa K2 (Kontrola)

Fot. 10. Mięśnie piersiowe kurcząt w 8. dobie życia – Grupa Ś1 (30/30)

Doświadczenie II

Celem badań była ocena wpływu podwyższonej temperatury lęgu na wybrane parametry kurcząt w 1. dobie życia:

* standardowe warunki lęgu
** podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę: Grupa T1- do 38,5°C, Grupa T2 - do 39,0°C.

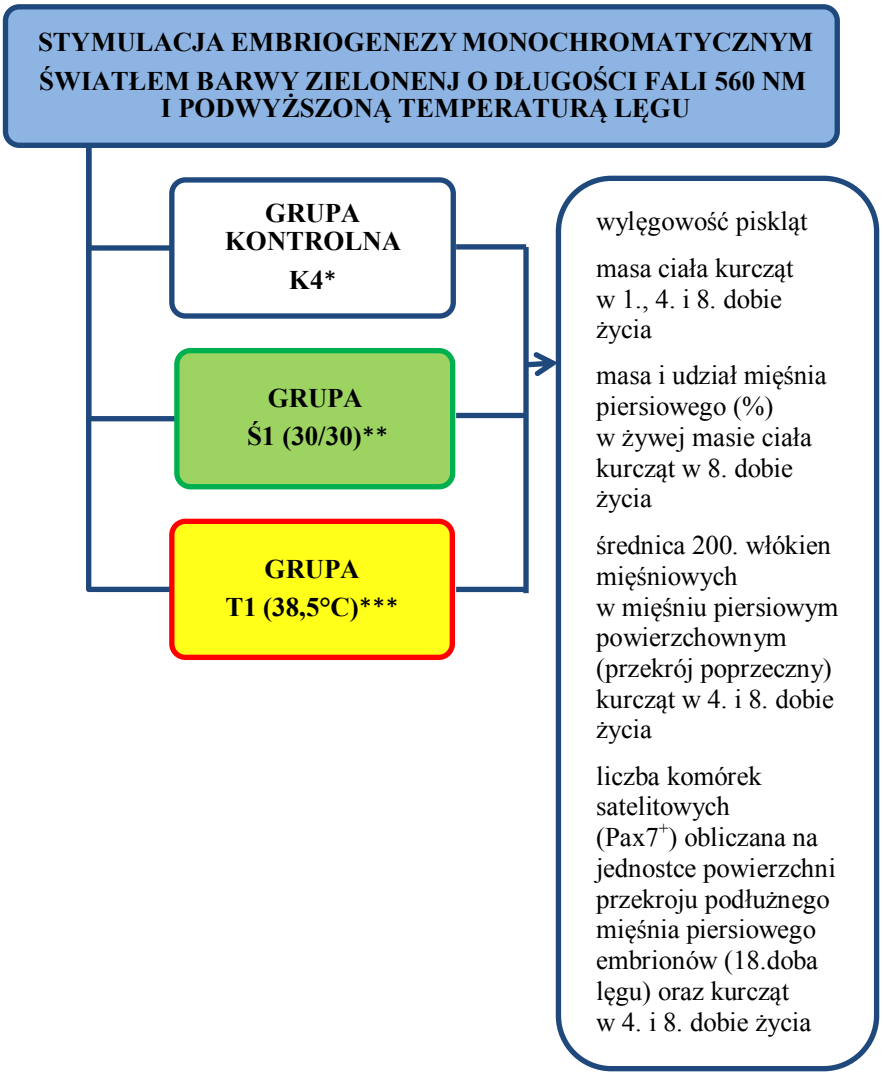
Rys. 6. Schemat układu doświadczenia i analizowane parametry

W doświadczeniu II przeprowadzano badania w podobnym układzie, jak w doświadczeniu IA, przy czym czynnikiem doświadczalnym była podwyższona temperatura zastosowana podczas embriogenezy kurcząt i jej wpływ na proces miogenezy. W aparatach lęgowych (tych samych, z których korzystano w poprzednim doświadczeniu, z tym że bez światła) w grupie T1 między 15. a 18. dniem inkubacji zastosowano podwyższoną temperaturę do 38,5˚C, a w grupie T2 - do 39,0˚C. W obu grupach działano podwyższoną temperaturą przez 5h/dobę. W pozostałych dniach inkubacji w aparatach utrzymywano taką samą temperaturę, tj. 37,8˚C. W grupie kontrolnej (K3) - przez cały okres lęgu - jaja lężono w stałej temperaturze 37,8˚C. Ogółem w trzech grupach nałożono 150 jaj wylęgowych (50 jaj/grupę). Po wylęgu (1. doba życia) wybierano losowo po 10 piskląt z każdej grupy, ptaki ważono i ubijano. Wszystkie pozostałe kurczęta z poszczególnych grup ważono indywidualnie w tym samym dniu. Bezpośrednio po uboju, pobierano dwie próby z mięśnia piersiowego piskląt wybranych losowo do badań histo- i immunohistochemicznych.

Pomiar średnicy włókien mięśniowych oraz immunodetekcję komórek satelitowych w mięśniu piersiowym 1. dniowych kurcząt przeprowadzano zgodnie z metodyką przedstawioną powyżej.

Doświadczenie III

Celem badań była ocena wpływu optymalnego programu świetlnego i optymalnej podwyższonej temperatury lęgu na wybrane parametry kurcząt w 18. dobie lęgu oraz 1., 4. i 8. dobie życia:



* standardowe warunki lęgu

** cykl świetlny: Grupa Ś1 - 30 minut światła i 30 minut ciemności od 1. do 18. dnia inkubacji jaj wylęgowych

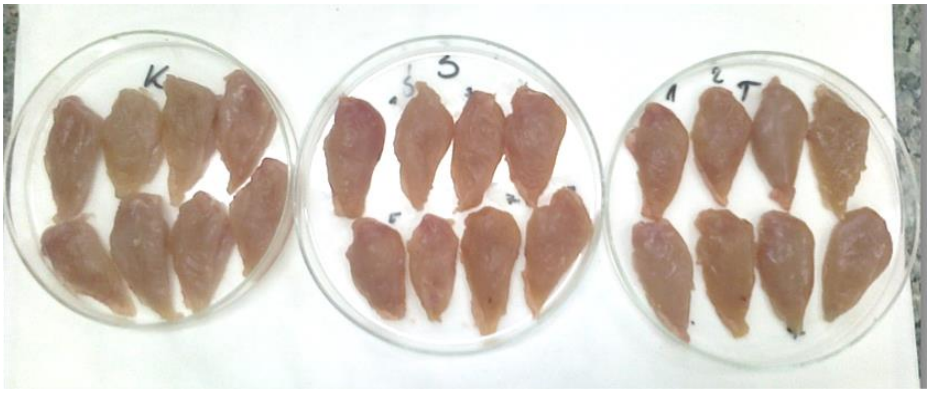
*** podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę: Grupa T1 - do 38,5°C.

Rys. 7. Schemat układu doświadczenia i analizowane parametry

Na podstawie analizy wyników badań przeprowadzonych w doświadczeniu I (A i B) i II, dokonano wyboru najlepszego wariantu stymulacji embriogenezy światłem lub temperaturą na proces miogenezy u kurcząt.

W jednej z grup doświadczalnych (grupa Ś1) zastosowano naświetlanie jaj wylęgowych światłem barwy zielonej, cyklicznie: 30 minut światła i 30 minut ciemności (30/30), a w drugiej grupie doświadczalnej (grupa T1) zastosowano podwyższoną temperaturę lęgu do 38,5°C między 15. a 18. dobą przez 5h/dobę. W grupie kontrolnej (grupa K4) jaja inkubowano bez stymulacji światłem i podwyższonej temperatury. Ogółem w trzech grupach nałożono 300 jaj wylęgowych (100 jaj/grupę). Po wylęgu pisklęta umieszczano w specjalnej klatce do odchowu, w której utrzymywano je do czasu uboju (Fot. 3. i 4.). Podczas odchowu kontrolowano temperaturę tego pomieszczenia oraz zapewniano pisklętom stały dostęp do wody i mieszanki paszowej pełnoporcjowej (skład podano przy opisie doświadczenia IB).

Wszystkie ptaki z badanych grup ważono indywidualnie w 1., 4. i 8. dobie życia. Do badań histo- i immunohistochemicznych wybrano losowo kurczęta (8 szt./grupę) w 4. i 8. dobie życia. W związku z tym, że analizowano mięsień piersiowy (wyróżnienie komórek satelitowych) embrionów w 18. dobie lęgu pominięto analizy tego mięśnia w 1. dobie życia. Ptaki wybrane do badań zważono i ubito. Następnie pobrano od nich 2 próby z mięśni piersiowych. Jedną z prób tego mięśnia zamrażano w ciekłym azocie, drugą zaś utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie. Pomiar średnicy włókien mięśniowych oraz immunodetekcję komórek satelitowych w mięśniu piersiowym embrionów (18. doba lęgu) oraz kurcząt w 4. i 8. d. życia przeprowadzono zgodnie z metodyką przedstawioną powyżej. Ponadto, u 8. dniowych kurcząt wypreparowano mięśnie piersiowe (major i minor), które łącznie ważono i fotografowano (Fot. 11).



Fot. 11. Mięsień piersiowy kurcząt w 8. dobie życia: grupa K3 (kontrola), Ś1 (30/30) i T1 (38,5°C)

5. WYNIKI

Doświadczenie IA

Tabela 1. Wpływ światła barwy zielonej na zmianę masy jaj i wylęgowość piskląt z jaj nałożonych w grupach: K1 (Kontrola), Ś1 (30/30) i Ś2 (12/12)

Parametry	K1 (Kontrola)	Ś1 (30/30)	Ś2 (12/12)
Masa jaj przed nakładem (g), n=50 SD	64,92 ±3,17	65,15 ±2,85	64,68 ±3,03
Masa jaj w 18 d. inkubacji (g) SD	58,85 ±3,33	58,11 ±2,65	57,75 ±3,45
Ubytek masy jaj (g) SD	$6,07^{B}$ ±1,57	$7,04^{A}$ ±1,30	$6,93^{A}$ ±1,12
Ubytek masy jaj (%) SD	$9,36^{B}$ ±2,37	$10,79^{A}$ ±1,82	$10,74^{A}$ ±1,83
Wylęgowość (%)	92,0	95,0	98,0

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono dużymi literami: A, B przy $P<0,01$

K1 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

Ś2 (12/12) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 12 h światła i 12 h ciemności

Tabela 2. Wpływ światła barwy zielonej na wybrane parametry w grupach: K1 (Kontrola), Ś1 (30/30) i Ś2 (12/12) w 1. dobie życia kurcząt

Parametry	Wiek	K1 (Kontrola)	Ś1 (30/30)	Ś2 (12/12)
Masa ciała kurcząt wybranych losowo do badań histochemicznych i immunohistochemicznych (g) n=10	**1 doba SD**	47,10 ±4,10	46,46 ±1,56	47,54 ±2,41
Masa ciała pozostałych kurcząt (g)	**1 doba SD**	$47,41^{b}$ ±2,68	$48,96^{a}$ ±2,53	$46,56^{b}$ ±2,89
***Średnice 200. włókien mięśniowych (µm) n=10**	**1 doba SD**	4,93 ±0,63	5,06 ±0,38	5,17 ±0,56
****Liczba komórek satelitowych $Pax7^{+}/1mm^{2}$ n=10**	**1 doba SD**	506 ±71,13	480 ±43,36	490 ±68,43

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy P<0,05

K1 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

Ś2 (12/12) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 12 h światła i 12 h ciemności

* mierzone na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego

** obliczona na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego

Badając wpływ fotostymulacji w dwóch różnych cyklach, tj. 30 minut światła i 30 minut ciemności oraz 12 godzin światła i 12 godzin ciemności - zastosowanej w okresie embriogenezy między 1. a 18. dobą lęgu – na zmianę masy jaj i wylęgowość piskląt w doświadczeniu IA zaobserwowano, że masa jaj wylęgowych w 18. dobie lęgu nie różniła się istotnie między badanymi grupami. Wykazano natomiast istotne różnice pomiędzy poszczególnymi grupami w ubytku masy jaj, wynikającej z różnicy masy jaj przed nakładem i masy jaj w 18. dobie inkubacji. W grupie kontrolnej (K1) stwierdzono ubytek masy jaj o około 1g większy niż w dwóch pozostałych grupach (P<0,01).

Zastosowane światło wpłynęło korzystnie na wylęgowość piskląt, gdyż w grupie kontrolnej (K1) wylęgowość z jaj nałożonych była niższa (92,0%) w porównaniu z grupą Ś1 (95,0%) i Ś2 (98,0%); (Tabela 1).

Stwierdzono korzystny wpływ stymulacji światłem w cyklu 30/30 na masę ciała całej grupy kurcząt, która była istotnie większa w tej grupie w porównaniu z pozostałymi grupami ptaków (P<0,05). Masa ciała kurcząt

wybranych losowo do badań histochemicznych i immunohistochemicznych w 1. dobie życia po zastosowaniu w/w cykli świetlnych nie różniła się istotnie pomiędzy grupą kontrolną (K1) a grupami doświadczalnymi Ś1 (30/30) i Ś2 (12/12).

Średnice włókien mięśniowych w badanych grupach kurcząt w 1. dobie życia były zbliżone, choć wykazywały tendencję zwiększania się grubości włókien w grupach stymulowanych światłem, tj. Ś1 i Ś2 (Tabela 2).

W badanym mięśniu piersiowym u wszystkich kurcząt jednodniowych, niezależnie od grupy, stwierdzono ekspresję genu Pax7, czego potwierdzeniem było wybarwienie na kolor brązowy jąder komórek satelitowych $Pax7^{+}$. Uzyskane preparaty mikroskopowe poddano cyfrowej analizie obrazu, dzięki której zliczono wybarwione komórki satelitowe ($Pax7^{+}$) na $1mm^2$ przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego badanych kurcząt. Liczba komórek satelitowych była mniejsza w obu grupach doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną, różnice te jednak nie były istotne statystycznie (Tabela 2).

Doświadczenie IB

Tabela 3. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) na zmianę masy jaj i wylęgowość piskląt w grupach: K2 (Kontrola) i Ś1 (30/30)

Parametry	K2 (Kontrola)	Ś1 (30/30)
Masa jaj przed nakładem (g), n=50 (SD)	62,74 ±2,93	63,57 ±3,24
Masa jaj (g) w 18. dniu inkubacji (SD)	$55,75^{b}$ ±1,98	$58,21^{a}$ ±3,92
Ubytek masy jaj (g) SD	$6,99^{A}$ ±1,45	$5,36^{B}$ ±1,32
Ubytek masy jaj % (SD)	$11,14^{A}$ ±1,85	$8,43^{B}$ ±1,90
Wylęgowość (%)	88,9	91,6

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy $P<0,05$ oraz dużymi literami: A, B przy $P<0,01$

K2 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

Tabela 4. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) na masę ciała kurcząt w grupach: K2 (Kontrola) i Ś1 (30/30) w 1., 4. i 8. dobie życia kurcząt

Parametry	Wiek	K2 (Kontrola)	Ś1 (30/30)
Masa ciała (g) kurcząt wybranych losowo do badań histochemicznych i immunohistochemicznych n=10	**1 doba (SD)**	45,74 ±2,43	45,99 ±2,81
	4 doba (SD)	$72,69^{B}$ ±4,32	$85,04^{A}$ ±2,35
	8 doba (SD)	$150,94^{B}$ ±5,10	$173,20^{A}$ ±4,03
Masa ciała (g) pozostałych kurcząt	**1 doba (SD)**	46,17 ±3,08	45,18 ±2,47
	4 doba (SD)	$61,18^{B}$ ±5,49	$73,80^{A}$ ±6,61
	8 doba (SD)	$132,15^{B}$ ±13,36	$157,34^{A}$ ±13,81

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono dużymi literami: A, B przy $P<0,01$

K2 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

Tabela 5. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) na wybrane parametry w grupach: K2 (Kontrola) i Ś1 (30/30) w 1., 4. i 8. dobie życia kurcząt

Parametry	Wiek	K2 (Kontrola)	Ś1 (30/30)
Masa mięśnia piersiowego (x2) kurcząt wybranych losowo do badań (g) n=10	**1 doba (SD)**	0,64 ±0,16	0,72 ±0,12
	4 doba (SD)	1,62 ±0,40	1,95 ±0,26
	8 doba (SD)	$12,66^{b}$ ±1,6	$15,40^{a}$ ±1,90
Udział mięśnia piersiowego/masy ciała (%)	**1 doba (SD)**	1,40 ±0,35	1,56 ±,025
	4 doba (SD)	2,23 ±0,50	2,29 ±0,40
	8 doba (SD)	8,39 ±0,98	8,89 ±1,09
***Średnice 200. włókien mięśniowych (µm) n=10**	**1 doba (SD)**	6,59 ±0,54	6,80 ±0,60
	4 doba (SD)	8,83 ±0,86	9,61 ±1,14
	8 doba (SD)	$16,96^{B}$ ±0,62	$18,84^{A}$ ±0,55

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy P<0,05 oraz dużymi literami: A, B przy P<0,01

K2 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

* mierzone na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego

W doświadczeniu IB przeprowadzono badania z zastosowaniem optymalnego wariantu stymulującego embriogenezę kurcząt, tj. światła w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności, w celu potwierdzenia wpływu tego programu świetlnego na wybrane cechy rzeźne ptaków oraz grubość włókien mięśniowych.

Masa jaj wylęgowych w grupie Ś1 (30/30) była o 0,83g większa od masy jaj w grupie kontrolnej (K2), ale nie były to różnice istotne statystycznie. W przypadku masy jaj w 18. dobie inkubacji stwierdzono istotnie większą masę jaj w grupie stymulowanej światłem w porównaniu z grupą kontrolną (P<0,05), u której wysoko istotnie większy ubytek masy jaj był na poziomie około 11%. Natomiast ubytek w masie jaj w grupie Ś1 był nieco poniżej normy, kształtując się na poziomie około 8% (Tabela 3). Wylęgowość piskląt z jaj nałożonych była większa o ponad 3% w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną.

Nie stwierdzono istotnego wpływu fotostymulacji zastosowanej w czasie inkubacji jaj na masę ciała w 1. dobie życia piskląt wybranych losowo do badań histo- i immunohistochemicznych. Była ona wyrównana w obu

badanych grupach. Natomiast w 4. i 8. dobie życia kurcząt potwierdzono statystycznie korzystny wpływ światła barwy zielonej na ich masę ciała i były one wysoko istotnie cięższe w porównaniu z kurczętami z grupy kontrolnej ($P<0,01$). W 4. dobie życia kurcząt różnica ta wynosiła około 12g, zaś w 8. dobie życia - około 22g. Masa ciała pozostałych kurcząt z obu badanych grup była mniejsza we wszystkich dobach życia kurcząt (z wyjątkiem grupy K2 w 1. dobie życia) w porównaniu z masą ciała piskląt wybranych losowo do badań. W 1. dobie życia kurczęta z grupy kontrolnej były nieznacznie cięższe (o 1,1g) od kurcząt z grupy doświadczalnej. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($P>0,05$). Z kolei, w 4. jak i 8. dobie życia kurczęta z grupy doświadczalnej były cięższe od kurcząt z grupy kontrolnej ($P<0,01$); (Tabela 4).

Masa mięśnia piersiowego w 1. i 4. dobie życia badanych kurcząt nie różniła się istotnie pomiędzy grupami, w odróżnieniu od 8. doby życia, w której istotnie większą masę tego mięśnia miały pisklęta z grupy stymulowanej światłem ($P<0,05$). Udział mięśni piersiowych (%) w stosunku do masy ciała, we wszystkich terminach uboju był nieznacznie większy w grupie doświadczalnej w stosunku do grupy kontrolnej. Nie były to jednak różnice istotne statystycznie (Tabela 5).

Średnice włókien w mięśniu piersiowym kurcząt w 1. i 4. dobie życia nie różniły się istotnie między grupą kontrolną a doświadczalną, aczkolwiek zaobserwowano, że grupa Ś1 (30/30) charakteryzowała się większą grubością włókien niż grupa K2. Natomiast w 8. dobie życia średnice włókien u kurcząt z grupy doświadczalnej były wysoko istotnie większe - 18,84μm - w porównaniu z kurczętami z grupy kontrolnej - 16,96μm ($P<0,01$); (Tabela 5).

Podsumowując wyniki badań przeprowadzone w doświadczeniu IB można stwierdzić, że stosunkowo najbardziej korzystne wyniki otrzymano w grupie, w której zastosowano naświetlanie jaj wylęgowych w cyklu 30/30.

Doświadczenie II

Tabela 6. Wpływ podwyższonej temperatury lęgu na zmianę masy jaj i wylęgowość piskląt w grupach: K3 (Kontrola), T1 (38,5°C) i T2 (39,0°C)

Parametry	K3 (Kontrola)	T1 (38,5°C)	T2 (39,0°C)
Masa jaj przed nakładem (g) n=50SD	59,54[a] ±2,58	58,56[ab] ±2,55	58,09[b] ±2,76
Masa jaj w 18 d. inkubacji (g) SD	53,66 ±2,42	52,75 ±2,74	52,55 ±3,03
Ubytek masy jaj (g) SD	5,94 ±0,81	5,81 ±1,01	5,55 ±1,11
Ubytek masy jaj (%) SD	9,97 ±1,24	9,92 ±1,78	9,55 ±2,04
Wylęgowość (%)	92,0	90,0	92,0

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy $P<0,05$

K3 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

T1 (38,5°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 38,5°C

T2 (39,0°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 39,0°C

Tabela 7. Wpływ podwyższonej temperatury lęgu na wybrane parametry w grupach: K3 (Kontrola), T1 (38,5°C) i T2 (39,0°C) w 1. dobie życia kurcząt

Parametry	Wiek	K3 (Kontrola)	T1 (38,5°C)	T2 (39,0°C)
Masa ciała kurcząt wybranych losowo do badań histochemicznych i immunohistochemicznych (g) n=10	**1 doba SD**	41,62 ±1,64	43,27 ±2,19	41,15 ±2,90
Masa ciała pozostałych kurcząt (g)	**1 doba SD**	42,12 ±2,28	43,05 ±2,13	42,27 ±2,48
***Średnice 200. Włókien mięśniowych (µm) n=10**	**1 doba SD**	5,52 ±0,69	5,69 ±0,74	5,79 ±0,68
****Liczba komórek satelitowych $Pax7^+/1mm^2$ n=10**	**1 doba SD**	624 ±116,07	550 ±64,56	612 ±77,45

K3 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)
T1 (38,5°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 38.5˚C
T2 (39,0°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 39,0˚C
* mierzone na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego
** obliczona na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego

W doświadczeniu II, w którym badano wpływ podwyższonej temperatury lęgu do 38,5°C oraz 39°C na wybrane parametry, średnia masa jaj wylęgowych była nieco niższa w porównaniu z masą jaj z doświadczenia I (Tabela 6), co przełożyło się na mniejszą masę ciała piskląt po wykluciu w tym etapie badań. Masa jaj przed nakładem w grupie T2 (39,0°C) była istotnie mniejsza ($P<0,05$) w stosunku do średniej masy jaj w grupie kontrolnej (K3) i różnica ta wynosiła około 1,5g. Nie przełożyło się to jednak na masę ciała w 1. dobie życia kurcząt, zarówno tych wybranych losowo do badań, jak i na masę kurcząt pozostałych, bowiem w obu przypadkach masa ciała kurcząt była wyrównana.

Wylęgowość piskląt z jaj nałożonych była niższa w grupach stymulowanych podwyższoną temperaturą lęgu w stosunku do jaj naświetlanych światłem barwy zielonej (doświadczenie I). Zatem, podwyższenie temperatury lęgu pod koniec okresu embriogenezy wpłynęło niekorzystnie na wylęgowość piskląt.

W przypadku średnicy włókien mięśniowych nie zanotowano różnic istotnych statystycznie między badanymi grupami (Tabela 7). Jednak, nieco większą średnicę niż w grupie kontrolnej (K3) zanotowano u kurcząt w grupach doświadczalnych, tj. T1 (38,5°C) i T2 (39,0°C).

Liczba komórek satelitowych, wykazujących ekspresję genu Pax7, obliczona na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego kurcząt w 1. dobie życia, była podobna w grupie kontrolnej K3 i grupie T2 (39,0°C) i wynosiła odpowiednio 624 i 612 sztuk. Najmniej komórek satelitowych (550 sztuk) było w mięśniu piersiowym kurcząt z grupy T1 (38,5°), które były cięższe od ptaków z dwóch pozostałych grup. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie.

Liczba komórek $Pax7^+$ w omawianym zadaniu badawczym była nieco większa niż u kurcząt z doświadczenia IA. Najprawdopodobniej wynikało to z większej masy ciała piskląt z poprzedniego doświadczenia.

Doświadczenie III

Tabela 8. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) oraz optymalnej podwyższonej temperatury lęgu na zmianę masy jaj i wylęgowość piskląt w grupach: K4 (Kontrola), Ś1 (30/30) i T1 (38,5°C)

Parametry	**K4 (Kontrola)**	**Ś1 (30/30)**	**T1 (**38,5°C**)**
Masa jaj przed nakładem (g) n=100 SD	63,66 ±2,82	63,29 ±3,31	62,55 ±2,74
Masa jaj w 18 d. inkubacji (g) SD	$57,93^{A}$ ±3,07	$56,97^{B}$ ±3,33	$55,71^{C}$ ±3,01
Ubytek masy jaj (g) SD	$5,74^{C}$ ±0,99	$6,32^{B}$ ±1,07	$7,01^{A}$ ±1,67
Ubytek masy jaj (%) SD	$9,03^{C}$ ±1,59	$9,99^{B}$ ±1,71	$11,25^{A}$ ±2,54
Wylęgowość (%)	93,6	93,6	92,8

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono dużymi literami: A, B przy $P<0,01$

K4 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

T1 (38,5°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 38,5°C

Tabela 9. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) oraz optymalnej podwyższonej temperatury lęgu na masę ciała w grupach: K4 (Kontrola), Ś1 (30/30) i T1 (38,5°C) w 1. (średnia dla całej grupy) oraz w 4. i 8. dobie życia kurcząt wybranych losowo do badań

Parametry	Wiek	K4 (Kontrola)	Ś1 (30/30)	T1 (38,5°C)
Masa ciała kurcząt wybranych losowo do badań histochemicznych (g), n=8	**18 doba lęgu**	zgodnie z metodyką nie ważono zarodków		
	4 doba SD	$85,40^{A}$ ±6,32	$75,65^{B}$ ±6,49	$82,81^{AB}$ ±8,18
	8 doba SD	192,04 ±11,04	189,89 ±15,41	180,76 ±14,37
Masa kurcząt wybranych losowo do badań immunohistochemicznych (g), n=8	**18 doba lęgu**	zgodnie z metodyką nie ważono zarodków		
	4 doba SD	79,09 ±12,41	80,11 ±6,16	80,11 ±6,46
	8 doba SD	$188,31^{a}$ ±16,82	$189,80^{a}$ ±15,66	$172,82^{b}$ ±15,47
Masa ciała pozostałych kurcząt (g)	**1 doba SD**	$46,58^{A}$ ±2,43	$45,21^{A}$ ±3,00	$44,61^{B}$ ±2,53
	4 doba SD	87,38 ±8,54	89,75 ±8,42	87,03 ±9,41
	8 doba SD	189,30 ±18,51	189,91 ±17,82	189,10 ±20,45
Przyrost masy ciała pozostałych kurcząt między 1. a 8. dobą życia (g)		$144,09^{b}$ ±10,31	$153,33^{a}$ ±10,22	$144,49^{b}$ ±12,15

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy $P<0,05$ oraz dużymi literami: A, B przy $P<0,01$

K4 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

T1 (38,5°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 38,5°C

Tabela 10. Wpływ optymalnego programu świetlnego (30/30) oraz optymalnej podwyższonej temperatury lęgu na wybrane parametry w grupach: K4 (Kontrola), Ś1 (30/30) i T1 (38,5°C) w 18. dobie lęgu oraz w 4. i 8. dobie życia kurcząt wybranych losowo do badań

Parametry	Wiek	K4 (Kontrola)	Ś1 (30/30)	T1 (38,5°C)
Masa mięśnia piersiowego (x2) w 8. dobie życia (g) n=8	**8 doba SD**	15,66 ±2,15	16,87 ±2,39	15.86 ±2,14
Udział mięśnia piersiowego/m. ciała (%)	**8 doba SD**	$8,13^{b}$ ±0,74	$8,87^{a}$ ±0,78	$8,79^{a}$ ±0,58
***Średnice 200. włókien mięśniowych (µm) n=8**	**4 doba SD**	9,50 ±0,48	8,96 ±1,27	9,65 ±0,92
	8 doba SD	16,00 ±3,32	16,32 ±3,06	17,14 ±2,67
****Liczba komórek satelitowych ($Pax7^{+}$)/1mm^2 n=8**	**18 doba lęgu**	774 ±100,87	747 ±146,78	824 ±102,42
	4 doba SD	239 ±71,34	220 ±41,14	231 ±64,28
	8 doba SD	80^{B} ±27,41	89^{B} ±13,97	108^{A} ±10,78

Średnie w wierszach, które różnią się istotnie oznaczono małymi literami: a, b przy P<0,05 oraz dużymi literami: A, B przy P<0,01

K4 (Kontrola) – grupa kontrolna (standardowe warunki lęgu)

Ś1 (30/30) – grupa doświadczalna, cykl świetlny (światło barwy zielonej): 30 min. światła i 30 min. ciemności

T1 (38,5°C) – grupa doświadczalna, podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu przez 5h/dobę do 38,5°C

* mierzone na przekroju poprzecznym mięśnia piersiowego powierzchownego

** obliczona na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego

W doświadczeniu III zastosowano optymalny program świetlny w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności oraz optymalną podwyższoną do 38,5°C temperaturę między 15. a 18. dobą lęgu. Czynniki te wybrano na bazie wyników uzyskanych w doświadczeniu I (A i B) i II jako potencjalnie najlepsze warianty stymulacji miogenezy podczas embriogenezy kurcząt.

Masa jaj wylęgowych przed nakładem nie różniła się istotnie między poszczególnymi grupami, tj. grupą kontrolną K4, grupą Ś1 (światło 30/30) i T1 (38,5°). Natomiast w przypadku masy jaj w 18. dobie inkubacji we wszystkich badanych grupach stwierdzono różnice wysoko istotne statystycznie. Wysoko istotnie większą masę jaj zanotowano w grupie kontrolnej (57,93g), zaś wysoko istotnie najmniejszą w grupie T1 (55,71g).

Największym ubytkiem masy (11,25%) charakteryzowały się jaja z grupy stymulowanej podwyższoną temperaturą lęgu, tj. z grupy T1. Jednak utrata masy jaj na poziomie około 11% jest prawidłowa i warunkuje wylęgowość jaj na właściwym poziomie. Najmniejsze ubytki masy jaj (około 9%) zaobserwowano w grupie kontrolnej (K4) i były one mniejsze niż normy przyjęte dla jaj wylęgowych kur. Wylęgowość z jaj nałożonych w badanych grupach wynosiła: 93,6% w grupie kontrolnej (K4) i stymulowanej światłem (Ś1) oraz 92,8% - w grupie stymulowanej podwyższoną temperaturą (T1) (Tabela 8). Zatem, w tym doświadczeniu nie zaobserwowano istotnego wpływu zastosowanych w okresie embriogenezy czynników doświadczalnych na wylęgowość piskląt.

Średnia masa ciała kurcząt w 1. dobie życia była proporcjonalna do masy jaj w 18. dobie lęgu. Najlżejsze (44,61g) były kurczęta z grupy stymulowanej podwyższoną temperaturą (T1) w stosunku do grupy naświetlanej (Ś1 30/30) i grupy kontrolnej (K4), ($P<0,01$); (Tabela 9). W 4. dobie życia największą masę ciała miały pozostałe kurczęta z grupy Ś1 (30/30), jednak różnice te nie były istotne statystycznie. W przypadku kurcząt w 8. dobie życia masa ciała była wyrównana we wszystkich badanych grupach (Tabela 9). Analizując przyrost masy ciała pozostałych kurcząt między 1. a 8. dobą życia w grupie kontrolnej (144,09g) oraz w grupie stymulowanej światłem (153,33g) lub temperaturą (144,49g) zaobserwowano, że istotnie największy przyrost ich masy był w grupie Ś1 (30/30); ($P<0,05$).

Nie stwierdzono istotnego wpływu zastosowanych czynników doświadczalnych na masę mięśni piersiowych kurcząt w 8. dobie życia. Stwierdzono natomiast istotny, korzystny wpływ zarówno światła, jak i podwyższonej temperatury lęgu na udział (%) mięśni piersiowych w żywej masie ciała ptaków w tym wieku w porównaniu z grupą niestymulowaną (kontrolną); (Tabela 10). W grupach stymulowanych światłem i temperaturą udział mięśni piersiowych był istotnie większy w porównaniu z grupą kontrolną.

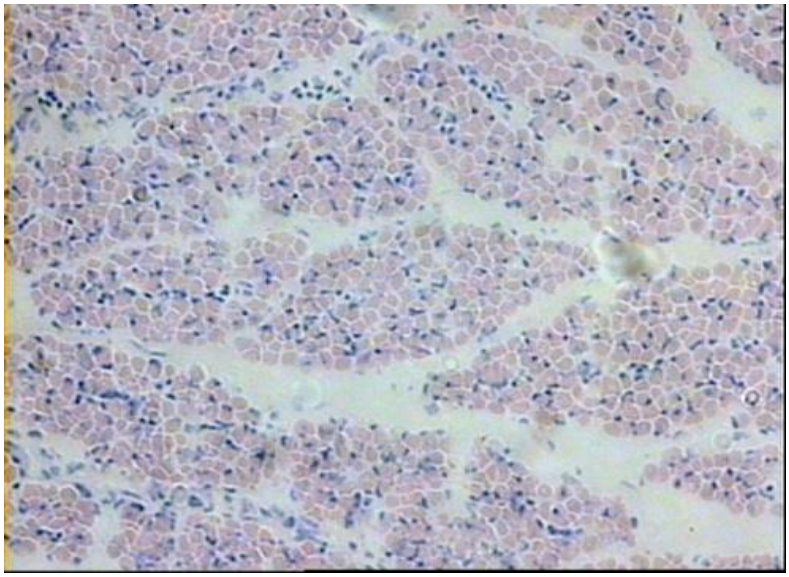
Z analizy masy ciała kurcząt w 4. i 8. dobie życia (wybranych losowo do badań mikrostruktury mięśnia piersiowego oraz do oceny liczby komórek satelitowych w tym mięśniu) wynika, że różniła się ona od masy ciała pozostałych kurcząt w obrębie poszczególnych grup (Tabela 9). Masa ciała kurcząt - wybranych losowo do badań histochemicznych - w 4. dobie życia była istotnie większa o 9,75g w grupie kontrolnej w stosunku do grupy stymulowanej światłem ($P<0,01$). W 8. dobie życia najniższą masę ciała miały kurczęta z grupy stymulowanej temperaturą (180,76g), co wynikało z faktu, że do badań wybrano losowo najlżejsze pisklęta. Nie stwierdzono jednak w tym przypadku różnic istotnych statystycznie. Z kolei, masa ciała kurcząt wybranych losowo do badań immunohistochemicznych w 4. dobie życia była wyrównana we wszystkich badanych grupach. Różnice istotne statystycznie stwierdzono w 8. dobie życia ($P<0,05$), w której istotnie większą masę ciała

miały ptaki z grupy Ś1 (30/30) oraz z grupy kontrolnej (K4) w porównaniu z grupą T1 (38,5°C); (Tabela 9).

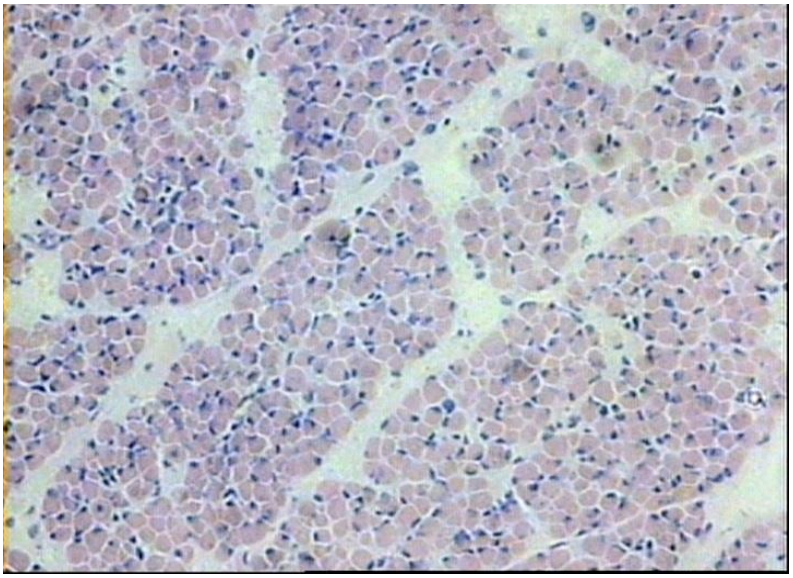
Średnice włókien mięśniowych w mięśniu piersiowym badanych kurcząt nie różniły się istotnie między poszczególnymi grupami zarówno w 4. jak i w 8. dobie życia. Natomiast w 8. dobie życia zwraca uwagę większa średnica włókien mięśniowych u kurcząt w grupie stymulowanej podwyższoną temperaturą w stosunku do grupy kontrolnej i stymulowanej światłem, pomimo mniejszej o około 10g masy ciała piskląt z tej grupy (Tabela 9 i 10). Jednakże różnica ta nie była istotna statystycznie.

Liczbę komórek satelitowych ($Pax7^{+}$) określano w tym doświadczeniu w mięśniu piersiowym zarodków kurzych w 18. dobie lęgu oraz u kurcząt w 4. i 8. dobie życia. W przypadku 18. doby lęgu, podobnie jak w 4. dobie życia kurcząt, nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami. Natomiast w 8. dobie życia istotnie więcej komórek satelitowych zanotowano w grupie T1 w porównaniu z grupą kontrolną (K4) oraz stymulowaną światłem (Ś1); (Tabela 10). Jednocześnie kurczęta z grupy T1 miały istotnie mniejszą od pozostałych grup masę ciała w tym wieku.

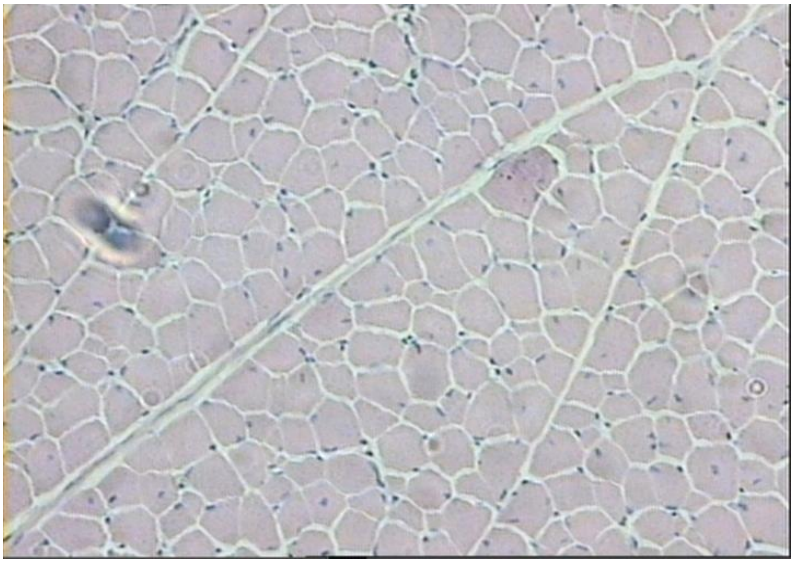
W omawianym doświadczeniu, przeprowadzonym na kurczętach do 8. doby życia zaobserwowano, że zwiększaniu się masy ciała piskląt i wielkości średnic włókien mięśniowych towarzyszy zmniejszanie się liczby komórek satelitowych na jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego.



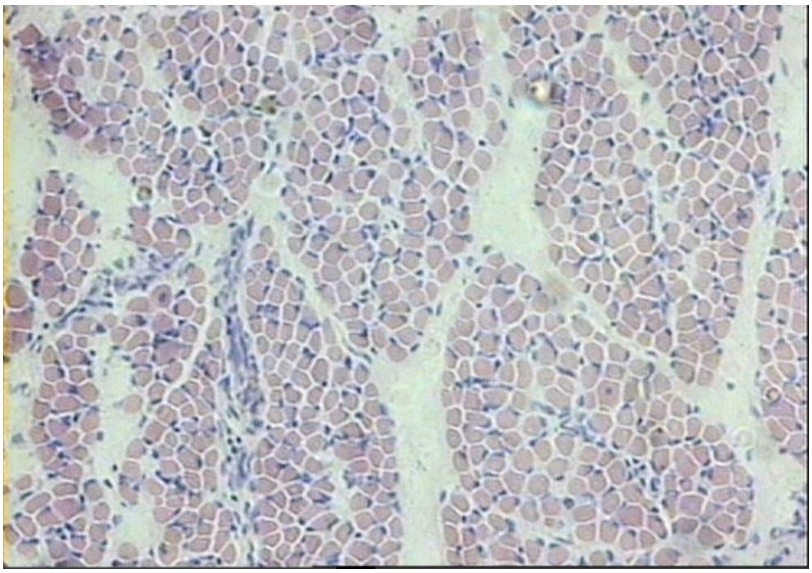
Fot. 13. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 1. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 125x



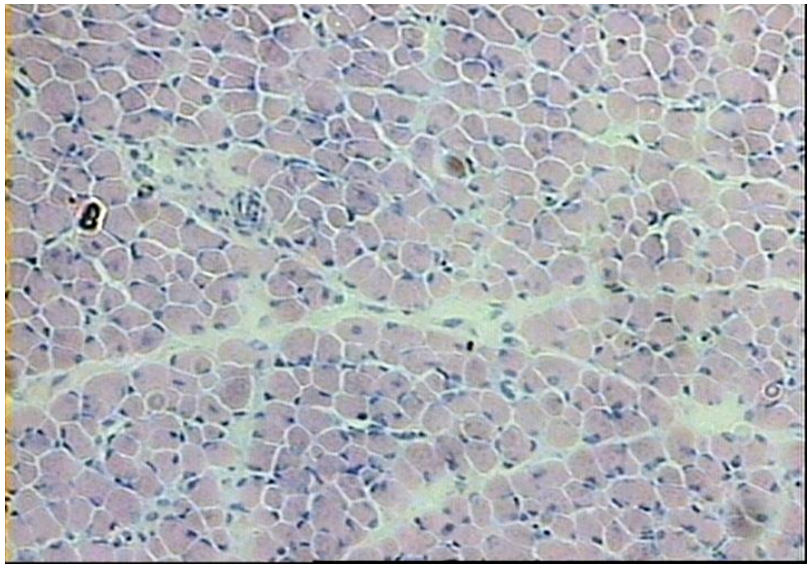
Fot. 14. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 4. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 125x



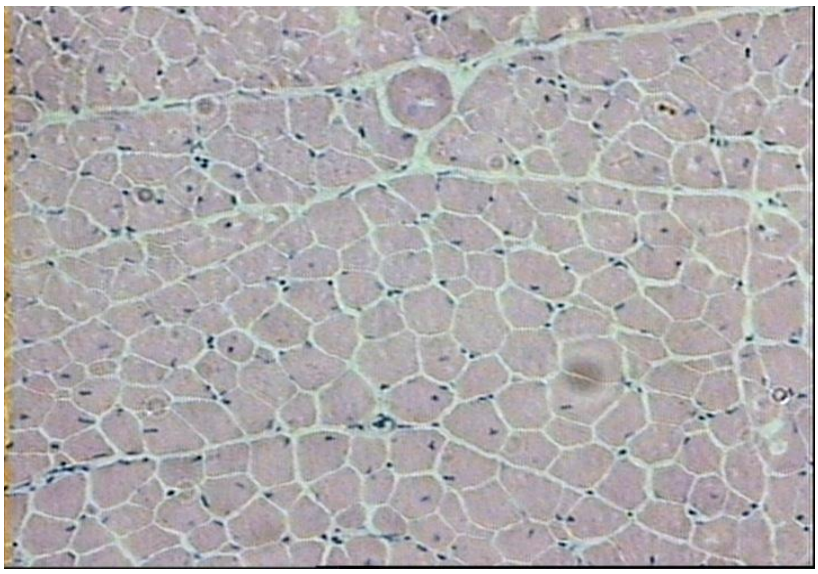
Fot. 15. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 8. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 125x



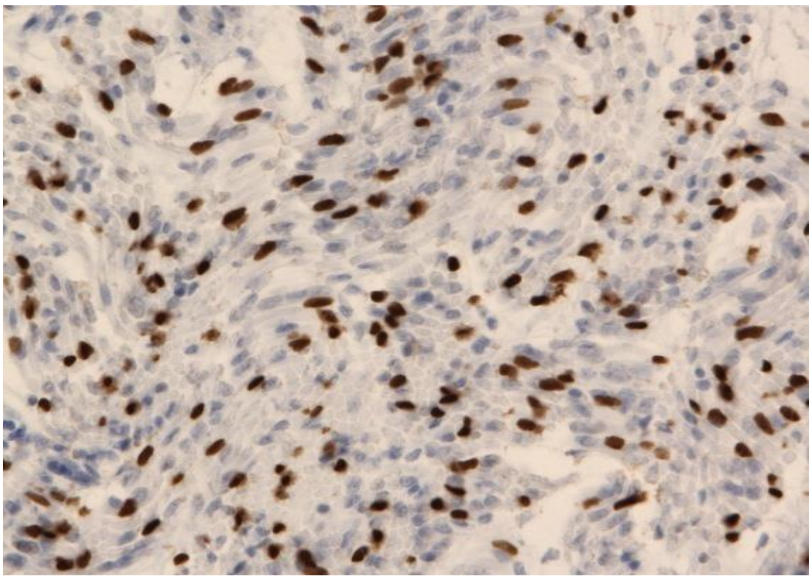
Fot. 16. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 1. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 125x



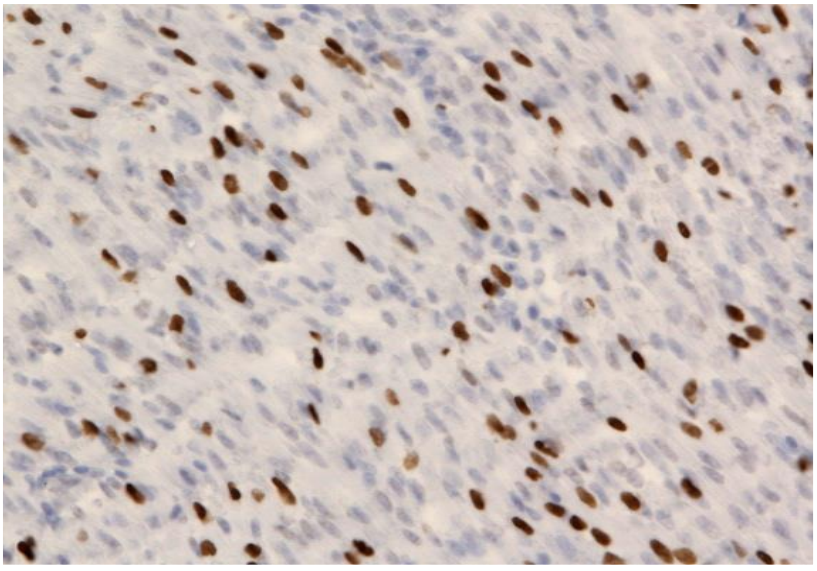
Fot. 17. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 4. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 125x



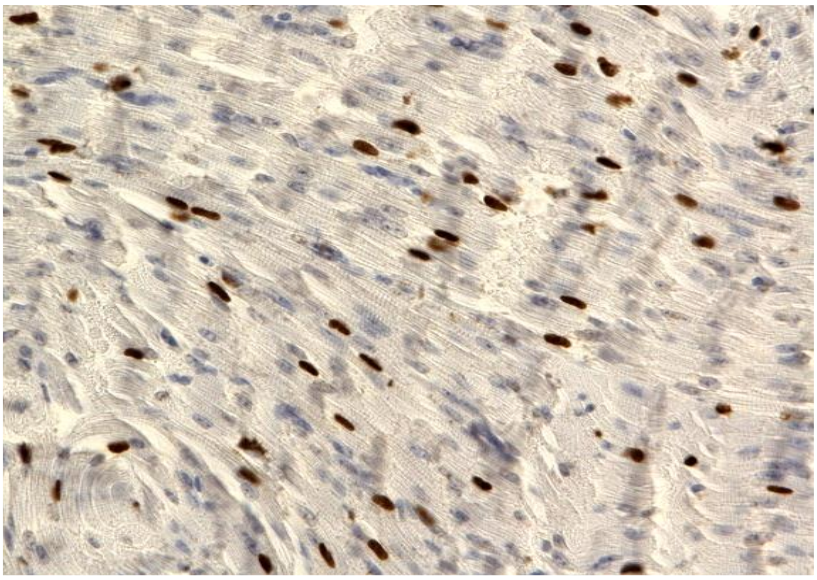
Fot. 18. Przekrój poprzeczny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 8. dobie życia. Barwienie H+E, (różowa barwa – cytoplazma włókien mięśniowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 125x



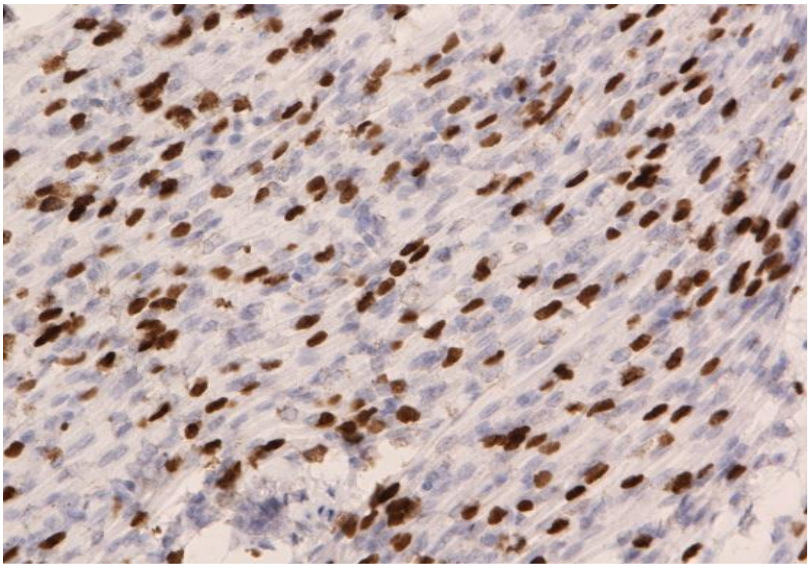
Fot. 19. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 1. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 400x



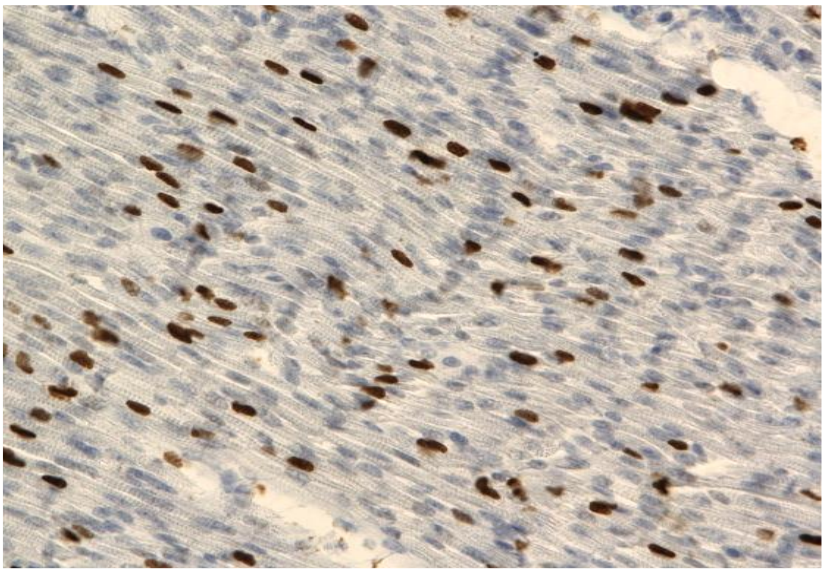
Fot. 20. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 4. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 400x



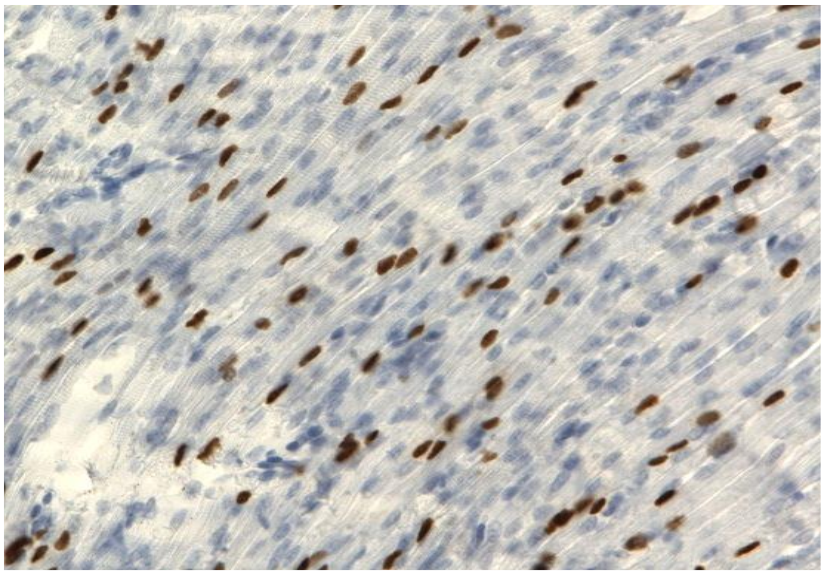
Fot. 21. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 8. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa kontrolna. Powiększenie 400x



Fot. 22. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 1. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 400x



Fot. 23. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 4. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 400x



Fot. 24. Przekrój podłużny mięśnia piersiowego powierzchownego kurczęcia w 8. dobie życia. Barwienie immunohistochemiczne – Pax7 (brązowa barwa – jądra komórkowe komórek satelitowych, niebieska barwa – jądra komórkowe włókien mięśniowych). Grupa Ś1 (30/30). Powiększenie 400x

6. DYSKUSJA

Jakość mięsa drobiowego zyskuje na znaczeniu w miarę wzrostu świadomości prozdrowotnej konsumentów. W związku z tym, podejmowane są próby poprawy jakości mięsa ptaków rzeźnych bezpiecznymi dla zdrowia człowieka metodami.

Jak przedstawiono we wstępie omawianej pracy, zastosowanie czynników środowiskowych takich jak: światło i temperatura w okresie prenatalnym i wczesnym postnatalnym ptaków, stwarza możliwość ingerencji w procesy zachodzące w tym okresie, co jednocześnie może sprzyjać utrzymywaniu postępu w produkcji kurcząt typu mięsnego.

Badania przeprowadzone w ostatniej dekadzie tego wieku dowiodły, że intensywność światła i długość fali oraz cykl świetlny zastosowany w okresie embriogenezy lub w pierwszych dniach po wylęgu, determinują nie tylko wyniki wylęgu ptaków (Shafey i Al - Mohsen 2002, Morris 2004, Olanrewaju i in. 2006) , ale również parametry rzeźne (Buyse i in. 1996, Manser 1996). Już wczesne badania z tego zakresu wykazały istotny wpływ światła na tempo wzrostu brojlerów (Shutze i in. 1960, Buckland i in. 1971). Dodatkowo, zaobserwowano, że w czasie odchowu wysoka intensywność światła na poziomie 64,8 lx spowalnia przyrost masy ciała i masy mięśni ptaków rzeźnych (Halevy i in. 1998 za Barrot i Pringle 1951 oraz Cherry i Barwick 1962), zaś światło o natężeniu 10,8 lx upośledza wzrost tych zwierząt. Na podstawie obserwacji Bean i in. (1962), Deaton i in. (1970), Hoopaw i Goodman (1972) oraz Perry (1981) stwierdzono, że odchów kurcząt bez dostępu światła opóźnia ich tempo wzrostu w porównaniu z całodobowym cyklem światła. Natomiast najlepsze wyniki otrzymano stosując naprzemienne cykle światła i ciemności. Dodatkowo, doświadczenia Halevy i in. (1998, 2006 a, b) oraz Rozenboim i in. (1999, 2003, 2004a, b) udowodniły, że istotna dla wzrostu i rozwoju ptaków (kurcząt i indyków) jest także barwa światła, która jest ściśle skorelowana zarówno z tempem rozwoju embrionów, jak i ptaków po wylęgu. Możliwość wpływania na rozwój embrionów wynika z faktu, że emitowane przez diody LED monochromatyczne światło barwy zielonej w okresie embriogenezy przenika przez skorupę jaja (Halevy i in. 2006a). Wyniki badań Halevy i in. (1998) sugerują, że światło zielone stymuluje wzrost młodych ptaków poprzez zwiększenie proliferacji komórek satelitowych w mięśniach szkieletowych. Natomiast światło niebieskie wpływa korzystniej na wzrost ptaków starszych, prawdopodobnie poprzez zwiększenie poziomu androgenów w osoczu, które zwiększając syntezę białek powodują akrecję mięśni (tj. zwiększanie się masy i objętości mięśni szkieletowych poprzez zwiększenie masy i objętości istoty międzykomórkowej) (Crowley i Matt 1996, Rozenboim i in. 1999).

Temperatura to kolejny czynnik środowiskowy, który zastosowany w odpowiednim czasie i na odpowiednim poziomie może również stymulować

proces miogenezy ptaków. Jednakże jej wykorzystanie musi być poprzedzone ustaleniem optymalnej wartości i czasu jej zastosowania. Badania Yahav i Plavnik (1999) oraz Halevy i in. (2001) wykazały, że podwyższenie temperatury otoczenia do 37.5±0.1°C przez 24 godziny w 3. dniu życia kurcząt brojlerów zwiększyło proliferację i różnicowanie komórek satelitowych, co przełożyło się na przyspieszenie wzrostu mięśni oraz polepszyło wydajność rzeźną tych ptaków. Według Halevy i in. (2006) manipulacja podwyższoną temperaturą podczas embriogenezy kurcząt jest skuteczniejszą metodą ingerencji w miogenezę tych ptaków niż podczas ich odchowu, gdyż znacznie łatwiej utrzymać ją na niezmienionym, zaplanowanym poziomie w aparatach lęgowych. Generalnie przyjmuje się, że wybór odpowiedniego momentu manipulacji termicznej musi być związany z rozwojem i aktywacją osi podwzgórze - przysadka - tarczyca (Havenstein i in. 2003) oraz osi podwzgórze – przysadka - nadnercza (Epple i in. 1997). Badania Yahav i in. (2004) wykazały, że w okresie między 16. a 18. dniem rozwoju embrionalnego kurcząt następuje wzrost termotolerancji zarodków, natomiast Hartley i in. (1992) oraz Stockdale (1992) zaobserwowali, że dokładnie w tym samym czasie najintensywniej zachodzą procesy różnicowania mioblastów płodowych oraz proliferacji mioblastów dojrzałych (komórek satelitowych), które decydują o ostatecznej wielkości mięśni szkieletowych ptaków. Halevy i in. (2006) wykazali, że podwyższenie temperatury lęgu do 38,5°C prze 3 godziny na dobę między E8 (E = dzień inkubacji) a E10 oraz między E16 a E18 nie wpływa na przebieg procesów proliferacji i różnicowania mioblastów płodowych, natomiast zwiększa proliferację mioblastów u piskląt po wylęgu, jednocześnie opóźniając zajście procesu różnicowania tych komórek. Prawdopodobnie wynika to z dłuższego cyklu komórkowego mioblastów. Z kolei, Piestun i in. (2005) zaobserwowali, że zwiększenie proliferacji komórek mięśniowych spowodowane jest także podwyższoną do 39,5°C temperaturą lęgu, zastosowaną między E16 a E18 przez 3 lub 6 godzin na dobę. Nie zaobserwowali oni w tym przypadku opóźnienia różnicowania mioblastów.

W celu wyjaśnienia, czy stymulacja okresu embriogenezy kurcząt określonym bodźcem ma wpływ na przebieg procesu miogenezy po wylęgu, w przedstawionej pracy zastosowano naświetlanie jaj wylęgowych monochromatycznym światłem barwy zielonej w cyklu przerywanym oraz podwyższoną temperaturę lęgu w okresie między 15. a 18. dniem rozwoju embrionalnego.

Wyboru dwóch różnych programów świetlnych - zastosowanych w ramach badań własnych – dokonano, bazując na wynikach badań innych zespołów badawczych, opisanych powyżej.

Doświadczenie IA przeprowadzono w celu wytypowania optymalnego programu naświetlania jaj wylęgowych – zastosowanego między 1. a 18. dobą embriogenezy kurcząt - który będzie miał najbardziej korzystny wpływ na wylęgowość, masę ciała oraz miogenezę mięśni piersiowych, wyrażoną średnicą włókien mięśniowych i liczbą komórek satelitowych na określonej

jednostce powierzchni tego mięśnia w 1. dniu życia ptaków. W tym celu zastosowano dwa cykle świetlne: 30 minut światła i 30 minut ciemności (grupa Ś1 30/30) oraz 12 godzin światła i 12 godzin ciemności (grupa Ś2 12/12). Analiza wyników otrzymanych w omawianym doświadczeniu była podstawą do przeprowadzenia kolejnych doświadczeń (IB i III) z zastosowaniem optymalnego cyklu świetlnego i jego wpływu na w/w parametry kurcząt w 1., 4. i 8. dniu życia.

Analogicznie, w doświadczeniu II ocenie poddano wpływ podwyższonej temperatury lęgu - zastosowanej pod koniec embriogenezy - także na wylęgowość, masę ciała oraz miogenezę mięśni piersiowych, wyrażoną grubością włókien i liczbą komórek satelitowych na określonej jednostce powierzchni tego mięśnia w 1. dniu życia kurcząt. W omawianym doświadczeniu zastosowano podwyższenie temperatury do 38,5°C oraz do 39,0°C między 15. a 18. dobą lęgu przez 5 godzin/dobę. Przeprowadzono je w celu wyboru potencjalnie najlepszego wariantu stymulującego proces miogenezy u kurcząt w 1. dobie życia, który następnie zastosowano w doświadczeniu III.

Wylęgowość oraz jakość wyklutych piskląt zależy od wielu czynników, na które składa się m. in. wartość biologiczna jaja i technika lęgu. Skupiając się przede wszystkim na czynnikach środowiskowych, decydujących o mikroklimacie otoczenia zarodków ptasich uznaje się, że o wylęgowości piskląt w największym stopniu decyduje temperatura inkubacji jaj. Przyjmuje się, że najlepszą wylęgowość osiąga się m. in. poprzez utrzymanie stałej temperatury skorupy jaj podczas inkubacji, tj. na poziomie 37,5° - 38,0°C w przypadku jaj kurzych (Decuypere i Michels 1992). Kolejnym, istotnym dla wyników wylęgu piskląt, oprócz wilgotności względnej powietrza i koncentracji gazów oddechowych (tlenu i dwutlenku węgla), jest także światło. Czynnik ten - w przypadku odpowiednio dobranych parametrów - może korzystnie wpływać na liczbę wylężonych piskląt (Shafey i Al – Mohsen 2002, Zhang i in. 2012).

Oceniając wpływ monochromatycznego światła barwy zielonej na wylęgowość piskląt z jaj nałożonych w ramach badań własnych, zaobserwowano że zastosowane między 1. a 18. dobą embriogenezy dwa różne programy świetlne (30 minut światła i 30 minut ciemności lub 12 godzin światła i 12 godzin ciemności) korzystnie wpłynęły na wartość omawianego parametru, zwiększając go nawet o kilka procent w stosunku do grupy kontrolnej, niestymulowanej (Tabela 1). Podobne rezultaty uzyskali Shafey i Al – Mohsen (2002), naświetlając całodobowo jaja wylęgowe światłem barwy zielonej - od 1. dnia inkubacji aż do wylęgu. W badaniach tych fotostymulacja istotnie zwiększyła wylęgowość piskląt, zmniejszając tym samym odsetek zamarłych zarodków - zarówno we wczesnym, jak i późnym stadium embriogenezy – w porównaniu z grupą kontrolną, inkubowaną w ciemności. W badaniach Zhang i in. (2012), gdzie zastosowano także całodobowe naświetlanie jaj wylęgowych monochromatycznym światłem barwy zielonej (długość fali

560 nm) i niebieskiej (długość fali 480 nm) w całym okresie rozwoju embrionalnego nie wykazano istotnego wpływu stymulacji na procent piskląt wyklutych. Zaobserwowano jednak, że najwyższa wylęgowość (90,23%) była w grupie naświetlanej światłem zielonym.
Analizując z kolei wpływ podwyższonej temperatury do 38,5°C lub 39,0°C między 15. a 18. dobą inkubacji jaj przez 5godzin/dobę na wylęgowość piskląt w doświadczeniu II zaobserwowano, że korzystniej na omawiany parametr wpłynęło podwyższenie temperatury lęgu do 39,0°C (grupa T2); (Tabela 6). Wylęgowość w tej grupie kurcząt kształtowała się na takim samym poziomie, jak w grupie kontrolnej (92,0%) i była wyższa o 2% niż w grupie T1 (38,5°C). Pomimo stosunkowo wysokiej wylęgowości piskląt z jaj poddanych działaniu podwyższonej temperatury lęgu (grupa T1 38,5°C – 92,8%) w doświadczeniu III zanotowano, że w 1. dobie życia kurczęta w tej grupie były istotnie lżejsze (Tabela 8). W związku z tym, iż nie prowadzono indywidualnych lęgów nie można było dokonać obliczeń statystycznych dla omawianego parametru.
Wyniki wylęgowości piskląt w badaniach własnych są zbieżne z wynikami innych autorów. W doświadczeniu Collin i in. (2005), dzięki podwyższeniu temperatury lęgu do 39,5°C między E16 a E18 przez 12 i 24 godziny, uzyskano lepsze wyniki lęgu niż w grupach kurcząt, których jaja inkubowano w tej samej temperaturze oraz w tym samym stadium embriogenezy przez 3 i 6 godzin/dobę. Późniejsze badania zespołu badawczego Collin i in. (2007) wykazały natomiast, że podwyższona do 39,5°C temperatura lęgu przez 3 godziny/dobę zastosowana na początku (między E8 a E10) lub pod koniec inkubacji jaj (między E16 a E18) istotnie zwiększa wylęgowość piskląt w porównaniu z grupą kontrolną i grupą poddaną tej temperaturze jednocześnie we wczesnym i późnym stadium rozwoju embrionalnego kurcząt.
Porównując wpływ zastosowanych bodźców na wylęgowość piskląt na uwagę zwraca fakt, że jednak wyższą wylęgowość obserwowano w grupach stymulowanych światłem niż w tych poddanych termomanipulacji. Prawdopodobnie wyższa temperatura - zastosowana w późniejszym, krytycznym dla rozwoju embrionalnego kurcząt stadium embriogenezy - mogła przyczynić się do większej zamieralności zarodków, szczególnie wrażliwych w tym okresie na wysoką temperaturę, co przełożyło się na większy procent piskląt niewyklutych.

Badając wpływ zastosowanych czynników środowiskowych na masę ciała jako kolejny analizowany parametr zaobserwowano, że stymulacja światłem zielonym w cyklu 30/30 w doświadczeniu IA zwiększyła istotnie masę ciała w 1. dobie życia całej grupy kurcząt w porównaniu z grupą kontrolną i stymulowaną światłem w cyklu 12/12. Niestety, inny rozkład masy ciała zaobserwowano wśród piskląt wybranych losowo do badań histo- i immunohistochemicznych w tym samym wieku, gdzie najlżejsze były pisklęta właśnie w grupie 30/30 (Ś1); (Tabela 2). Tak więc, najniższa masa ciała tych piskląt wynikała z tego, że do badań wybrano losowo najlżejsze kurczęta. Chcąc potwierdzić wpływ optymalnego programu świetlnego na wybrane cechy

rzeźne ptaków, który wytypowano w oparciu o doświadczenie IA, w doświadczeniu IB badano tylko jedną grupę kurcząt stymulowanych światłem barwy zielonej (cykl 30/30) oraz grupę niestymulowaną (kontrolną). Obserwacje masy ciała kurcząt zarówno wybranych losowo do badań mikrostruktury mięśnia piersiowego, jak i masy ciała pozostałych kurcząt (z wyjątkiem 1. doby życia) wykazały istotnie większą masę ciała ptaków z grupy doświadczalnej w stosunku do grupy kontrolnej (Tabela 4). Rozenboim i in. (2004b) badając wpływ stymulacji embriogenezy światłem zielonym w cyklu 15 minut światła i 15 minut ciemności od 5. dnia inkubacji do wylęgu również zaobserwowali istotnie większą masę ciała zarówno u kogutków, jak i kurek w 1., 3. oraz 6. dobie życia wylężonych z jaj naświetlanych w porównaniu z grupą kontrolną (nie poddaną fotostymulacji). Efekt ten utrzymywał się do końca okresu odchowu, tj. do 42. dnia życia. Z kolei, w przypadku badań przeprowadzonych na indykach i indyczkach rzeźnych nie stwierdzono istotnego wpływu światła zielonego - zastosowanego w okresie inkubacji jaj wylęgowych - na masę ciała w pierwszych dniach życia. Zaobserwowano natomiast korzystny wpływ fotostymulacji na masę ciała w 28. dniu odchowu u indyczek (Rozenboim i in. 2004a).
Jak wykazują wyniki przytoczonych badań innych autorów oraz wyniki doświadczeń przeprowadzonych w ramach badań własnych można stwierdzić, że stymulacja embriogenezy monochromatycznym światłem barwy zielonej może mieć potencjalnie korzystny wpływ na omawiany parametr.

Analizując w dalszym ciągu masę ciała kurcząt, w doświadczeniu II – w którym porównywano wpływ różnej temperatury lęgu na wybrane parametry – zaobserwowano, że podwyższenie temperatury między 15. a 18. dobą lęgu do 38,5°C przez 5h/dobę zwiększyło masę ciała kurcząt w 1. dobie życia w porównaniu z grupą poddaną podwyższonej temperaturze lęgu do 39,0°C oraz grupą kontrolną. Nie były to jednak różnice istotne statystycznie (Tabela 7).Wyniki te korespondują z obserwacjami Halevy i in. (2006), gdzie również nie stwierdzono istotnego wpływu podwyższonej temperatury lęgu na masę ciała piskląt w pierwszym tygodniu życia. Dopiero w 9. dniu po wylęgu kurczęta, wylężone z jaj stymulowanych podwyższoną temperaturą były wysoko istotnie cięższe w stosunku do grupy kontrolnej. Collin i in. (2005) zaobserwowali korzystny wpływ podwyższonej do 39,5°C temperatury lęgu między E16 a E18 na masę ciała kurcząt bojlerów w 4. dniu życia. Korzystny wpływ zwiększenia temperatury do 39,5°C przez 3 i 6 godzin w ciągu doby podczas embriogenezy na masę ciała w całym okresie odchowu brojlerów potwierdził także Piestun i in. (2009).

Analiza masy ciała piskląt po wylęgu oraz innych parametrów w doświadczeniach IA, IB oraz II pozwoliła na sugestię, że bardziej korzystny wpływ na wybrane parametry badanych ptaków miał cykl świetlny 30 minut światła i 30 minut ciemności oraz podwyższona do 38,5°C temperatura lęgu. Dlatego doświadczenie III polegało na zestawieniu dwóch grup doświadczalnych, w których zastosowano stymulację światłem (Ś1 30/30) lub

temperaturą (T1 38,5°C) z grupą kontrolną (K4), niestymulowaną. Średnia masa ciała w 1. dobie życia kurcząt stymulowanych podwyższoną temperaturą lęgu była wysoko istotnie mniejsza (P<0,01) w porównaniu z grupą Ś1 (30/30) oraz grupą kontrolną, co mogło wynikać z faktu, że właśnie w tej grupie zaobserwowano największy ubytek masy jaj wylęgowych w 18. dobie lęgu. Z kolei w 4. i 8. dobie życia masa ciała tych kurcząt była już wyrównana we wszystkich badanych grupach. W przypadku kurcząt wybranych losowo do badań mikrostruktury mięśnia piersiowego w 4. dobie życia grupa T1 (38,5°C) była wysoko istotnie cięższa od kurcząt z grupy Ś1 (30/30). Natomiast wśród piskląt wybranych losowo do immunodetekcji komórek $Pax7^+$ w mięśniu piersiowym masa ciała ptaków w tym samym wieku we wszystkich grupach była bardzo podobna. Jednakże, w 8. dobie życia kurczęta wybrane losowo do badań histo- i immunohistochemicznych w grupie stymulowanej podwyższoną temperaturą lęgu miały mniejszą masę ciała w stosunku do kurcząt z pozostałych grup (kontrola i Ś1 30/30) (Tabela 8 i 9).

Podsumowując otrzymane wyniki, dotyczące masy ciała kurcząt, można stwierdzić, że we wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach kurczęta stymulowane podczas embriogenezy światłem zielonym w cyklu 30/30 były w 1., 4. i 8. dobie życia istotnie cięższe (P<0,05 lub P<0,01) lub wykazywały tendencje wyższej masy ciała w porównaniu z kurczętami z grup kontrolnych lub stymulowanych podwyższoną temperaturą lęgu. Ponadto, należy dodać, że kurczęta wybierane losowo do analiz histo- i immunohistochemicznych z reguły były lżejsze we wszystkich terminach poboru prób do badań niż pozostałe kurczęta w obrębie tych samych grup.

Jak wspomniano we wstępie omawianej pracy masa mięśni piersiowych ptaków rzeźnych jest głównie wypadkową grubości i długości oraz całkowitej liczby włókien budujących ten mięsień.

Badając wpływ zastosowanych czynników doświadczalnych na postnatalną masę mięśni piersiowych zaobserwowano tendencję nieco większej masy tych mięśni w 1. i 4. dobie życia kurcząt poddanych fotostymulacji w cyklu 30/30 oraz stwierdzono istotnie większą masę mięśni piersiowych w 8. dobie życia tych kurcząt w porównaniu z ptakami z grupy niestymulowanej (doświadczenie IB). Proporcjonalnie do masy ciała i masy mięśni piersiowych kurcząt światło zielone korzystnie wpłynęło także na udział (%) tych mięśni w żywej masie ciała badanych ptaków (Tabela 5). Podobną zależność zanotowano w doświadczeniu III, w którym stymulacja embriogenezy światłem lub podwyższoną temperaturą lęgu również zwiększyła masę mięśni piersiowych kurcząt w 8. dobie życia w porównaniu z grupą kontrolną, co jednocześnie przełożyło się na istotnie większy udział (%) tych mięśni w żywej masie ciała kurcząt z grup doświadczalnych (Tabela 10). Rozenboim i in. (2004b) także stwierdził, że kurczęta, których jaja naświetlano światłem barwy zielonej miały istotnie większą masę mięśni piersiowych i ich udział (%) w tuszce w dniu wylęgu oraz w 6. dniu życia. Z kolei, ten sam autor w badaniach przeprowadzonych w 2003 roku na indykach nie stwierdził

istotnych różnic w masie mięśni piersiowych pomiędzy badanymi grupami, aczkolwiek indyki, których jaja naświetlano światłem zielonym miały nieco większą masę tych mięśni niż grupa kontrolna (inkubowana w ciemności). W przypadku udziału procentowego mięśnia piersiowego w tuszce indyczek w tym samym doświadczeniu, był on także większy w grupie stymulowanej światłem zielonym. Istotnie większą masę mięśni piersiowych zanotowano również w 6. dniu życia kurcząt brojlerów w badaniach Halevy i in. (2006a). Podobny efekt korzystnego wpływu na masę i udział procentowy mięśni piersiowych w tuszce ptaków rzeźnych wykazano w przypadku podwyższenia temperatury lęgu w badaniach Halevy i in. (2006). Zaobserwowano, że zarówno podwyższenie temperatury w czasie inkubacji jaj wylęgowych do 38,5°C oraz do 39,5°C zwiększyło masę mięśnia piersiowego w 9. dniu życia badanych ptaków w porównaniu z grupą kontrolną, co według tych autorów sugeruje potencjał wpływu manipulacji temperaturą lęgu na proliferację komórek mięśniowych. Piestun i in. (2009) stwierdzili z kolei, że podwyższenie temperatury lęgu do 39,5°C pod koniec okresu embriogenezy zwiększyło udział procentowy mięśnia piersiowego w masie ciała kurcząt brojlerów dopiero w 25. i 35. dniu odchowu w porównaniu z grupą kontrolną. Autorzy ci sugerują, że większa masa mięśni piersiowych wynika z tego, że manipulacje temperaturą jako środowiskiem zewnętrznym rozwijających się zarodków ptasich może skutkować hipertrofią tych mięśni w okresie odchowu.

W związku z tym, że w badaniach własnych większej masie mięśnia piersiowego, a także większej masie ciała nie zawsze towarzyszyły grubsze włókna mięśniowe, można przypuszczać, że większa wartość obu parametrów wynikała albo z większej całkowitej liczby włókien wchodzących w skład tego mięśnia albo/i z większej długości tych włókien. Potwierdzeniem ostatniej tezy były wyniki badań Rosińskiego (2000), który analizując efekty selekcji prowadzonej w dwóch rodach gęsi Białych Kołudzkich o wspólnym pochodzeniu, przy zróżnicowanym między rodami nacisku selekcyjnym, wykazał że u gęsiorów z rodu W33 (selekcjonowane na cechy mięsne) – przy istotnie cięższym mięśniu piersiowym – występują istotnie cieńsze włókna mięśniowe obu typów (βR i αW) w porównaniu z samcami z rodu W11 (selekcjonowane na cechy reprodukcyjne). Jednocześnie, u ptaków z rodu W33 stwierdził istotnie dłuższy grzebień mostka, co warunkuje dłuższy mięsień piersiowy u tych osobników.

Obecne kurczęta brojlery są najczęściej czterorodowymi mieszańcami. Jak wynika z badań własnych, cechuje je jednak duża zmienność osobnicza w zakresie wielu cech dotyczących mikrostruktury mięśni piersiowych, a głównie grubości włókien. Dodatkowym utrudnieniem w interpretacji wyników badań nad histologiczną budową mięśni piersiowych kurcząt może być nie tylko duża liczba czynników wpływających na cechy mikrostruktury mięśni, ale również fakt, iż – jak opisano powyżej – masa mięśnia jest wypadkową grubości i długości włókien oraz całkowitej liczby włókien w tym mięśniu. W omawianych badaniach własnych nie wykonano pomiarów

umożliwiających określenie całkowitej liczby włókien w mięśniu piersiowym kurcząt, gdyż w jego przypadku nie wykonuje się tego typu obliczeń. Trudność wynika z budowy anatomicznej tego mięśnia, ponieważ w przeciwieństwie do mięśnia *longissimus lumborum*, ma on bardzo zmienne pole przekroju poprzecznego, co może wpływać na błędne określenie całkowitej liczby włókien wchodzących w jego skład. Zatem, na podstawie otrzymanych danych, trudno jest stwierdzić, czy pod wpływem zastosowanych czynników stymulujących embriogenezę kurcząt zwiększyła się liczba włókien w mięśniu piersiowym. Możliwy był natomiast pomiar grubości włókien, który to parametr wraz z masą danego mięśnia piersiowego stanowi pośrednią metodę oceny, czy większa masa badanego mięśnia wynika z większej grubości (średnicy) włókien, czy z większej całkowitej liczby włókien budujących mięsień piersiowy.

Obserwując wpływ stymulacji embriogenezy światłem na średnice włókien mięśniowych w 1. dobie życia wykazano jedynie tendencje, że w grupach doświadczalnych były one nieco większe w porównaniu z grupą kontrolną (doświadczenie IA i IB); (Tabela 2 i 5). Ptaki stymulowane światłem w cyklu 30/30 w doświadczeniu IB miały także nieistotnie grubsze włókna w 4. dobie życia, ale istotnie grubsze w 8. dobie życia w porównaniu z grupą niestymulowaną. Wyjątek stanowiły wyniki badań w doświadczeniu III, w którym kurczęta (wybrane losowo do badań histochemicznych) poddane fotostymulacji miały wysoko istotnie najmniejszą masę ciała w 4. dobie życia (Tabela 9), co przełożyło się u nich na najmniejsze średnice w tym wieku spośród badanych grup ($P>0,05$; Tabela 10). W doświadczeniu Halevy i zespołu badawczego (2006a) zaobserwowano, że światło zielone zastosowane w czasie inkubacji jaj wylęgowych, nie zwiększyło istotnie średnicy włókien mięśniowych kurcząt brojlerów w pierwszych dniach życia. Grubość włókien w mięśniu piersiowym tych ptaków z grupy niestymulowanej i naświetlanej była zbliżona. Autorzy na podstawie swoich obserwacji sugerują, że większa masa mięśnia piersiowego w grupie ptaków stymulowanych światłem zielonym - przy jednocześnie nieznacznie mniejszej grubości włókien mięśniowych wchodzących w skład tego mięśnia - być może wynika ze zwiększonej całkowitej liczby tych włókien. Prawdopodobnie, włókna mięśniowe w wyniku stymulacji światłem zielonym kształtują się w późniejszym okresie embriogenezy i dlatego ich rozwój trwa jeszcze w pierwszych dniach po wylęgu.

Podobną, jak w przypadku fotostymulacji, tendencję zwiększania się średnicy włókien mięśnia piersiowego kurcząt w 1. dobie życia w porównaniu z grupą kontrolną zanotowano w doświadczeniu II, w którym oddziaływano podwyższoną temperaturą lęgu (Tabela 7). Obserwacje innych autorów (Piestun i in. 2009) były podobne. Dowiodły one, że podwyższenie temperatury lęgu do 39,5°C przez 3 i 6 godzin/dobę wpłynęło korzystnie na średnice włókien mięśniowych mięśnia piersiowego kurcząt z grup doświadczalnych w pierwszych dniach życia i były one większe w stosunku do grupy kontrolnej.

Natomiast różnice istotne statystycznie na korzyść grup poddanych stymulacji termicznej zanotowano dopiero w 13., 25. oraz 35. dniu odchowu.
Analizując wyniki dotyczące wpływu zastosowanych czynników stymulujących rozwój embrionalny kurcząt, tj. światła i temperatury na średnicę włókien w ich mięśniu piersiowym, istotny wpływ światła na grubość włókien stwierdzono jedynie w doświadczeniu IB (Tabela 5). W pozostałych doświadczeniach można mówić tylko o pewnej tendencji korzystnego wpływu światła i temperatury na grubość włókien mięśniowych.

U kręgowców proces miogenezy obejmujący tworzenie się nowych włókien mięśniowych rozpoczyna się we wczesnym okresie embrionalnym. Jak wspomniano we wstępie omawianej pracy, miogeneza zarodkowa jest wieloetapowym procesem, podczas którego zarodkowe prekursory komórek mięśniowych tworzą pulę komórek miogenicznych i dają początek mioblastom (Ordahl i in. 2000). Te ostatnie ulegają kolejno proliferacji oraz różnicowaniu w postmitotyczne miocyty, które następnie fuzjują z wielojądrowymi miotubami (Knight i Kothary 2011). Zatem, w czasie rozwoju embrionalnego następuje ciągły przyrost liczby włókien mięśniowych w mięśniach szkieletowych. Miogeneza postnatalna przebiega podobnie jak miogeneza zarodkowa. Jednakże, w miogenezie zarodkowej główną rolę w tworzeniu włókien mięśniowych pełnią mioblasty zarodkowe i płodowe, natomiast w miogenezie postnatalnej przyrost masy mięśni szkieletowych możliwy jest dzięki komórkom satelitowym, zlokalizowanym bezpośrednio przy włóknach rosnących mięśni. Komórki te przechodzą podziały, w wyniku których powstają dwie komórki potomne. Jedna z nich to mioblast ulegający fuzji z istniejącymi włóknami mięśniowymi, wzbogacający je w nowe jądro komórkowe nieaktywne mitotycznie, druga zaś pozostaje komórką satelitową położoną na obwodzie tego włókna, zachowując zdolność do proliferacji (Ostrowski 1995, Knight i Kothary 2011, Archacka i in. 2013 za Ontell i Kozeka 1984 oraz Moss i Leblond 1970). Najwyższy odsetek proliferujących komórek satelitowych notuje się u kurcząt w pierwszych dniach życia, u których podobnie jak u innych gatunków ptaków, we wczesnym okresie powylęgowym przyrost masy mięśni szkieletowych możliwy jest nadal zarówno dzięki hiperplazji (zwiększaniu się liczby włókien mięśniowych), jak i hipertrofii (zwiększaniu się grubości włókien mięśniowych); (Halevy i in. 1999). U ssaków natomiast, masa mięśni szkieletowych w okresie pourodzeniowym może zwiększać się nawet trzykrotnie na drodze fuzji włókien mięśniowych z mioblastami, ale liczba włókien mięśniowych pozostaje w tym czasie – w zasadzie – niezmieniona. (Archacka i in. 2013 za Ontel i in. 1984, Elminowska - Wenda 2007). Gwałtowne zmniejszenie liczby komórek satelitowych następuje w momencie osiągnięcia dojrzałości mięśni zarówno u ssaków jak i u ptaków (White i in. 2010, Halevy i in. 1999 za Cardiasis i Cooper 1975). W badaniach przeprowadzonych na myszach stwierdzono, że w pierwszym tygodniu ich życia stosunek liczby jąder komórek satelitowych do liczby jąder obecnych we włóknach mięśniowych wynosi 1:2, natomiast

około trzeciego tygodnia życia stosunek ten zmienia się na 1:50 (White i in. 2010). Podobnie jak u ssaków, u ptaków dojrzałych dalszy przyrost tkanki mięśniowej wynika już tylko ze zwiększania się grubości i długości włókien, zaś komórki satelitowe umożliwiają wyłącznie regenerację uszkodzonych mięśni. Zatem, w warunkach fizjologicznych, tj. w mięśniach nieuszkodzonych, komórki satelitowe pozostają mitotycznie wyciszone, zachowując jednak zdolność do podziałów mitotycznych i replikacji DNA przez całe życie osobnicze. Część aktywowanych komórek satelitowych uczestniczy w tworzeniu nowych włókien mięśniowych, zaś pozostałe nie różnicują się i odtwarzają własną populację. Ponownej aktywacji ulegają one m.in. w wyniku uszkodzenia włókien mięśniowych, powstałych na skutek różnych urazów (Morgan 2003, Grabowska 2007, Moyer i Wagner 2011). Zammit i in. (2002) wykazali, że komórki satelitowe należące do jednego włókna mięśniowego są w stanie wytworzyć w ciągu 4-5 dni taką liczbę mioblastów, która odpowiada liczbie jąder obecnych w tym włóknie. Aktywność proliferacyjna komórek satelitowych jest kluczowa dla wzrostu mięśni bardzo młodych ptaków, m. in. kurcząt brojlerów selekcjonowanych na szybkie tempo wzrostu, u których w pierwszym – najważniejszym – tygodniu życia następuje najbardziej intensywny przyrost masy mięśni szkieletowych, co przekłada się w efekcie na ostateczną ilość mięsa pozyskaną od danego osobnika (Halevy i in. 1999 za Moss i in. 1964). Udowodniono, że głównymi czynnikami zewnętrznymi mającymi największy wpływ na cechy produkcyjne ptaków, które są jednocześnie w ścisłej korelacji z aktywnością komórek satelitowych w pierwszych dniach po wylęgu, jest głównie światło oraz promieniowanie elektromagnetyczne (temperatura). W wielu badaniach przeprowadzonych m. in. na kurczętach brojlerach w całym okresie odchowu wykazano, że manipulacje światłem lub temperaturą w pierwszych dniach życia wywołują zmiany w tempie proliferacji komórek satelitowych. Zaobserwowano wysoki stopień korelacji między liczbą komórek satelitowych w mięśniu piersiowym 5. dniowych kurcząt – naświetlanych od pierwszego dnia po wylęgu monochromatycznym światłem różnej barwy - a masą tego mięśnia w 35. dniu odchowu (Halevy i in. 1998). Podobną zależność stwierdzono w badaniach z jednorazowym zastosowaniem podwyższonej temperatury w 3. dniu po wylęgu brojlerów, która wykazała stymulujący wpływ na proliferację i różnicowanie komórek satelitowych, co przełożyło się na zwiększenie masy ciała (Yahav i Hurwitz 1996, Yahav i Plavnik 1999) oraz udziału (%) mięśnia piersiowego w żywej masie ciała tych ptaków w 42. dniu odchowu (Halevy i in. 2001). Ponieważ w/w badania wykazały pozytywny wpływ zastosowania w pierwszych dniach po wylęgu światła i temperatury na aktywność komórek satelitowych w tym okresie, co przełożyło się następnie na lepszą mięsność ptaków rzeźnych, stwierdzono że podobny efekt może przynieść również stymulacja okresu embriogenezy tymi czynnikami. Przy czym zakładano, że manipulacja zewnętrznym środowiskiem zarodków ptasich wpłynie nie tylko na aktywność komórek satelitowych, ale także na aktywność mioblastów

płodowych (Halevy i in. 2006b). Poza rodzajem zastosowanych bodźców w okresie embriogenezy bardzo istotny dla proliferacji mioblastów jest czas trwania stymulacji takim bodźcem oraz okres, w którym on działa.

Ostatnim analizowanym parametrem w ramach badań własnych była liczba komórek satelitowych, wykazujących ekspresję genu Pax7, obliczana na 1mm^2 jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego kurcząt w różnym wieku. Wyboru przeciwciała Pax7 do immunodetekcji komórek satelitowych dokonano na podstawie wyników badań innych autorów, którzy wykazali, że właśnie białko Pax7 syntetyzowane jest w rosnących mięśniach ptaków i ssaków wyłącznie przez te komórki (Halevy i in. 2004, Halevy i in. 2006a, Kuang i Rudnicki 2008). Dodatkowo, Halevy i in. (2003) w badaniach prowadzonych na indykach zaobserwowali, że Pax7 jest wskaźnikiem zdolności proliferacyjnych komórek satelitowych i drastyczny spadek jego ekspresji następuje równolegle ze zmniejszeniem proliferacji komórek satelitowych.

Stymulacja embriogenezy światłem zielonym w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności oraz 12 godzin światła i 12 godzin ciemności (doświadczenie IA), a także podwyższenie temperatury lęgu do 38,5°C oraz do 39,0°C (doświadczenie II) nie wpłynęła istotnie na liczbę komórek satelitowych (Pax7-pozytywnych) zliczanych na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego w 1. dobie życia kurcząt (Tabela 2 i 7). Zaobserwowano jednak we wszystkich grupach tendencję zmniejszania się liczby komórek Pax7-pozytywnych na jednostce powierzchni mięśnia badanych piskląt wraz ze zwiększaniem się grubości włókien mięśniowych oraz masy ciała ptaków. Mniej tych komórek było u kurcząt w grupach stymulowanych w porównaniu z grupą kontrolną. Prawdopodobnie wynika to z faktu wbudowywania się komórek satelitowych w istniejące już włókna mięśniowe. Zatem, wydaje się być zasadne stwierdzenie, że stymulacja okresu embriogenezy światłem lub temperaturą wpłynęła korzystnie na proces miogenezy kurcząt w 1. dobie po wylęgu. Najtrudniej zinterpretować wyniki badań przeprowadzonych w ramach doświadczenia III, gdyż próby do badań histochemicznych oraz immunohistochemicznych pobierano od dwóch różnych grup ptaków. Działanie takie podyktowane było zbyt małą masą mięśnia piersiowego badanych kurcząt, która nie pozwoliłaby na wykonanie prawidłowych analiz. Masę ciała piskląt wybranych losowo do badań histochemicznych analizowano w korelacji do grubości włókien oraz masy i udziału (%) mięśnia piersiowego w żywej masie ciała. Natomiast liczbę komórek satelitowych komentowano tylko w stosunku do masy ciała kurcząt wybranych losowo do badań immunohistochemicznych. Podobnie jak w 1. dobie życia kurcząt (doświadczenie IA i II), w 4. dniu po wylęgu nie wykazano istotnego wpływu światła i temperatury, zastosowanych w okresie embriogenezy, na postnatalną liczbę komórek Pax7$^+$ na określonej jednostce powierzchni mięśnia piersiowego badanych ptaków. Jednakże, najmniej komórek satelitowych było w grupie poddanej fotostymulacji (Tabela 10). Zaobserwowano również, że pomimo

jednakowej masy ciała piskląt w grupach stymulowanych światłem (30/30) i temperaturą (38,5°C), więcej tych komórek było w mięśniu piersiowym ptaków z grupy T1 (38,5°C), co może świadczyć o opóźnionym procesie wbudowywania się komórek satelitowych we włókna mięśniowe w tej grupie. Z kolei, w 8. dobie życia stwierdzono istotnie mniejszą liczbę komórek wykazujących ekspresję genu Pax7 w grupie Ś1 (30/30) oraz kontrolnej w stosunku do grupy T1 (38,5°C); (Tabela 10). Było to powiązane z istotnie najmniejszą masą ciała piskląt wybranych losowo do badań immunohistochemicznych z grupy stymulowanej podwyższoną temperaturą lęgu, co kolejny raz potwierdziło hipotezę, że większej masie ciała ptaków towarzyszy zmniejszanie liczby komórek satelitowych wykazujących ekspresję genu Pax7 na powierzchni 1mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego. Trudno jest konfrontować wyniki analiz przeprowadzonych w ramach badań własnych z dostępnym piśmiennictwem, gdyż skupia się ono przede wszystkim na ocenie liczby komórek satelitowych w 1g tkanki mięśniowej pozyskanej z hodowli tkankowej. Dodatkowym utrudnieniem interpretacji otrzymanych wyników badań jest fakt pobierania *post mortem* prób do reakcji immunohistochemicznych, tak więc w kolejnych terminach pobierania prób (4. i 8. doba życia) były to zawsze inne osobniki. Przyżyciowy pobór prób do badań nie jest możliwy w tego typu badaniach, gdyż uszkodzenie mięśnia wiąże się z uruchomieniem proliferacji komórek satelitowych, w celu regeneracji tego mięśnia.

Podobnie jak w badaniach własnych, również u innych autorów obserwowano, że wraz z wiekiem ptaków następuje zmniejszenie liczby komórek Pax7-pozytywnych. Największe (9,5-krotne) zmniejszenie liczby tych komórek między 18. dobą lęgu a 8. dobą życia kurcząt zanotowano w grupie kontrolnej, 8-krotne – w grupie Ś1 (30/30) oraz 7-krotne – w grupie T1 (38,5°C). Wyniki te korespondują z danymi zaprezentowanymi przez Halevy i in. (2004), którzy zaobserwowali najwyższą ekspresję genu Pax7 w 1. dniu życia kurcząt i jej zmniejszenie w kolejnych dniach. Zespół ten wykazał, że w 1. dniu po wylęgu jądra komórek Pax7-pozytywnych stanowiły 82,2% wszystkich jąder w badanej próbce mięśnia piersiowego piskląt, w 3. dniu – 14,1%, a w 6. – 16,5%. Podobne wyniki otrzymano w kolejnych badaniach Halevy i in. (2006a), w ramach których badano wpływ fotostymulacji *in ovo* na proliferację komórek satelitowych oraz na średnicę i liczbę włókien w mięśniu piersiowym kurcząt brojlerów w okresie pre- i postnatalnym.

Znaczne zmniejszenie liczby komórek satelitowych w okresie około-wylęgowym wiąże się z intensywnym wzrostem mięśni szkieletowych ptaków, gdyż są one źródłem zarówno nowych włókien mięśniowych, jak i mogą ulegać fuzji z istniejącymi włóknami mięśniowymi, co zwiększa ich grubość i długość. W komórkach satelitowych, które uległy fuzji nie zachodzi już synteza białka Pax7, powiększa się natomiast pula jąder komórkowych włókien mięśniowych, które w preparatach histologicznych są identyfikowane za pomocą barwnika hematoksyliny. Dalsze zwiększanie się masy i objętości mięśni szkieletowych

zachodzi na drodze syntezy białek swoistych mięśniowo, dzięki włączaniu się komórek $Pax7^+$ w istniejące włókna.

7. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Masowość światowej produkcji drobiu wymusza podejmowanie prób, mających na celu choć niewielką poprawę wyników lęgu, zdrowotności i mięsności kurcząt, co w efekcie przynosi dalsze, wymierne korzyści ekonomiczne. Znaczne skrócenie odchowu obecnych kurcząt typu mięsnego spowodowało, że okres embrionalny i pierwszy tydzień życia tych ptaków jest najważniejszym okresem z punktu widzenia produkcji mięsa, dlatego tak ważna jest ocena wpływu czynników, które mogą wspomagać kształtowanie się cech produkcyjnych już w okresie embrionalnym lub wczesnym postnatalnym piskląt. Jak donosi piśmiennictwo naukowe, do „bezpiecznych" czynników, które ingerują w rozwój ptaków już na poziomie embriogenezy należą: światło i temperatura lęgu. Zatem, chcąc podnosić ilość i jakość produkowanego mięsa kurcząt brojlerów bezpiecznymi dla zdrowia człowieka metodami, uzasadnione jest ustalenie takich parametrów w/w bodźców, które najkorzystniej będą wpływały na „końcowy produkt" jakim są kurczęta rzeźne.

Ocena wpływu dwóch różnych programów naświetlania jaj monochromatycznym światłem barwy zielonej o długości fali 560 nm od 1. do 18. dnia embriogenezy oraz podwyższonej temperatury lęgu w dwóch wariantach pod koniec inkubacji sugeruje, że istnieje możliwość pozytywnej stymulacji procesów miogenezy światłem zielonym w cyklu 30 minut światła i 30 minut ciemności lub podwyższoną do 38,5°C temperaturą lęgu.

Analiza takich parametrów jak: masa ciała oraz masa i udział (%) mięśnia piersiowego, a także średnica włókien mięśniowych i liczba komórek satelitowych obliczona na jednostce powierzchni mięśnia piersiowego powierzchownego kurcząt umożliwia pośrednią ocenę efektywności zastosowanych czynników stymulujących miogenezę ich mięśni szkieletowych. Jak wynika z tej analizy można zauważyć pozytywny wpływ działania światła barwy zielonej przejawiający się zarówno w istotnie większej masie ciała kurcząt poddanych działaniu tego czynnika (doświadczenie IA: grupa Ś1 30/30 – 1. doba życia; doświadczenie IB: grupa Ś1 30/30 – 4. i 8. doba życia), jak i w istotnie większej masie mięśnia piersiowego w 8. dobie życia (doświadczenie IB: grupa Ś1 30/30), a także w wysoko istotnie większej – w tej grupie kurcząt - grubości włókien w mięśniu piersiowym.

Analogicznie, analiza wpływu podwyższonej temperatury lęgu na w/w parametry wykazała korzystny wpływ jedynie na udział (%) mięśnia piersiowego w żywej masie ciała kurcząt w 8. dobie życia (doświadczenie III).

Nie stwierdzono istotnego wpływu monochromatycznego światła barwy zielonej oraz podwyższonej temperatury lęgu, zastosowanych w okresie embriogenezy kurcząt brojlerów, na liczbę komórek $Pax7^+$ na jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego kurcząt brojlerów w 1. i 4. dobie życia. Stwierdzono natomiast istotnie więcej tych komórek w 8. dobie życia u kurcząt, które w okresie embriogenezy były

stymulowane podwyższoną do 38,5°C temperaturą lęgu, co jednocześnie było powiązane z ich istotnie najmniejszą masą ciała.
Obserwowano jednak tendencję, że większej masie ciała oraz większej masie mięśnia piersiowego (g lub %) towarzyszyło jednoczesne zmniejszanie się liczby komórek $Pax7^+$ (komórek satelitowych) obliczonej na jednostce powierzchni tego mięśnia.

Analiza wyników zaprezentowanych badań własnych pozwoliła na sformułowanie następujących czterech wniosków:

1. Naświetlanie jaj wylęgowych monochromatycznym światłem barwy zielonej w cyklu 30/30 zwiększa istotnie masę ciała kurcząt w 1. dobie (doświadczenie IA), a także w 4. i 8. dobie życia (doświadczenie IB).

2. Naświetlanie jaj wylęgowych monochromatycznym światłem barwy zielonej w cyklu 30/30 zwiększa istotnie zarówno masę mięśnia piersiowego, jak i grubość jego włókien mięśniowych w 8. dobie życia (doświadczenie IB).

3. Podwyższona temperatura lęgu zmniejsza istotnie masę ciała piskląt w 1. dobie życia (doświadczenie III).

4. Liczba komórek satelitowych ($Pax7^+$) zliczanych na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego powierzchownego jest istotnie większa u kurcząt o mniejszej masie ciała w 8. dobie życia ($P<0,05$; doświadczenie III).
   Odwrotnie, u kurcząt o większej masie ciała i większej masie mięśnia piersiowego występuje tendencja mniejszej liczby komórek satelitowych ($Pax7^+$) obliczanych na powierzchni 1 mm^2 przekroju podłużnego mięśnia piersiowego tych ptaków (doświadczenia: IA, II i III).

PIŚMIENNICTWO

[1] Adam J. H., S. J. Dimond. 1971. Influence of light on the time of hatching in the domestic chick. Anim. Behav. 19:226-229

[2] Allouh M. Z., Yablonka-Reuveni Z., Rosser B. W. 2008. Pax7 reveals a greater frequency and concentration of satellite cells at the ends of growing skeletal muscle fibers. J Histochem Cytochem56, 77–87.

[3] Andrews D. K., Zimmermann N.G**.** 1990. A comparison of energy efficient broiler house lighting sources and photoperiods. Poultry Science69: 1471-1479.

[4] Archacka K., Kowalski K., Brzóska E. 2013. Czy komórki satelitowe są macierzyste? Postępy Biochemii 59 (2):205-218.

[5] Bean W. L., Siegel P. B., Siegel H. S. 1962. The effect of light on body weight and feed conversion of broilers. Poult Sci 41:1350–1.

[6] Beauchamp J. R. Heslop L., Yu D. S., Tajbakhsh S., Kelly R. G., Wernig A., Buckingham M. E., Partridge T. A., Zammit P. S. 2000. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. J. Cell Biol. 151, 1221–1234.

[7] Bednarczyk M. 1983. Examination on embryonic and postembryonic development of ducks from eggs under the influence in different doses of ultraviolet rays. Ph. D thesis, AR Poznań. (In Polish).

[8] Bednarczyk M. F., Coudert F. 1984. Inluence de l'e- clairement de l'embryon de poulet sur le taux d'eclosion la duree d'incubation et l'hematopoiese. Ann Rech. Vet. 15: 411-416.

[9] Bednarczyk M. F., Simon J., Ferre R., Leclercq B. 1984. Effect de la lumiere sur le development embryonnaire dans deux lignees de poulets rendus maigres ou gras par selection. Reprod. Nutr. Develop. 24: 235-238.

[10] Biressi S., Rando T. A. 2010. Heterogeneity in the muscle satellite cell population. Semin Cell Dev Biol 21: 845-854.

[11] Bischoff R. 1994. The satellite cell and muscle regeneration. In: Myology, edited by Engel AG and Frazini-Armstrong C. New York: McGraw-Hill, p. 97–118.

[12] Blomen V. A., Boonstra J. 2007. Cell fate determination during G1 phase progression. Cell. Mol. Life Sci. 64: 3084-3104.

[13] Boldrin L., Muntoni F., Morgan J. E. 2010. Are human and mouse satellite cells really the same? J Histochem Cytochem 58: 941-955.

[14] Brooke M. H., Kaiser K. K. 1970. Muscle fiber types: How many and what kind? Arch. Neurol. (Chicago) 23, 369-379.

[15] Brooks N. E., Schuenke M. D., Hikida R. S. 2009. No change in skeletal muscle satellite cells in young and aging rat soleus muscle. J. Physiol. Sci., 59: 465–471.

[16] Buckingham M. 1992. Making muscle in mammals. Trends Genet 8:144–148.

[17] Buckingham M., Relaix F. 2007. The role of pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 23, 645–673.
[18] Buckland R. B., Gasperdon C. H., Bragg D. B. 1971. Interaction of strain density and ration with two light systems on broiler performance. Can J Anim Sci 51:613–9.
[19] Buyse J., Kuhn E.R., Decuypere E. 1996. The use of intermittent lighting in broiler raising. 1. Effect on broiler performance and efficiency of nitrogen retention. Poultry Science 75: 589-594.
[20] Carnac G., Albagli-Curiel O., Vandromme M., Pinset C., Montarras D., Laudet V. Bonnieu, A. 1992. 3,5,3'-triodothyronine positively regulates both MyoD1 gene transcription and terminal differentiation in C2 myoblasts. Molecular Endocrinology6: 1185-1194.
[21] Carosio S., Berardinelli M. G., Aucello M., Musarò A. 2011. Impact of ageing on muscle cell regeneration. Ageing Res. Rev. 10: 35–42.
[22] Charge S. B., Rudnicki M. A. 2004. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. Physiol Rev 84:209-238.
[23] Christov C., Chretien F., Abou-Khalil R., Bassez G., Vallet G., Authier F. J., Bassaglia Y., Shinin V., Tajbakhsh S., Chazaud B. 2007. Muscle satellite cells and endothelial cells: Close neighbors and privileged partners. Mol Biol Cell 18: 1397–1409.
[24] Coleman M. A., McDaniel G. R. 1975. The effect of light and specific gravity on embryo weight and embryonic mortality. Poult Sci54: 1415–1421.
[25] Coleman M. A., McDaniel GR. 1976, Light alterated changes in the embryonic age versus incubation age of White Leghorn embryos. Poult Sci55:2483–2485.
[26] Collin A., Berri C., Tesseraud S., Requena Rodon F. E., Skiba-Cassy S., Crochet S., Duclos M. J., Rideau N., Tona K., Buyse J., Bruggeman V., Decuypere E., Picard M., Yahav S. 2007. Effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on thermotolerance and breast muscle characteristics in broiler chickens. Poultry Science 86: 795-800.
[27] Collin A., Picard M., Yahav S. 2005. The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick embryogenesis on body weight and body temperature of post-hatched chicks. Animal Research54: 105-111.
[28] Collin C.A., Olsen I., Zammit P.S., Heslop L., Petrie A., Partridge T.A., and Morgan J.E. 2005. Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. Cell122, 289–301.
[29] Collins C. A., Olsen I., Zammit P. S., Heslop L., Petrie A., Partridge T. A., Morgan J. E. Stem Cell Function, Self-Renewal, and Behavioral Heterogeneity of Cells from the Adult Muscle Satellite Cell Niche. Cell 2005;122:289–301.

[30] Cossu G., Zani B., Coletta M., Bouche M., Pacifici M., Molinaro M. 1980. In vitro differentiation of satellite cells isolated from normal and dystrophic mammalian muscles. A comparison with embryonic myogenic cells. Cell Differ 9:357-368.
[31] Cossu G., Grassi F., Wanke E. 1987. Acetylcholine receptor channels are present in undifferentiated satellite cells but not in embryonic myoblats in culture. Dev Biol 123:43-50.
[32] Crespo R., Shivaprasad H. L**.** 2003. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. in: Diseases of Poultry. SAIF Y. M., Barnes H. J., Glisson J. R., Fadly A. M., Mcdougald L. R., Swayne D. E. Ames, Iowa, Iowa State Press. 1055-1102.
[33] Crowley M. A., Matt K. S. 1996. Hormonal regulation of skeletal muscle hypertrophy in rats: the testosterone to cortisol ratio. Eur. J. Appl. Physiol. 73:66–72.
[34] Cusella-De Angelis M. G., Lyons G., Sonnino C., De Angelis L., Vivarelli E., Farmer K., Wright W. E., Molinaro M., Bouche M., Buckingham M. E., Cossu G. 1992. MyoD, myogenin independent differentiation of primordial myoblasts in mouse somits. J Cell Biol 116:1243-1255.
[35] Davis R. L., Weintraub H., Lassar A. B. 1987. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. Cell 51: 987–1000.
[36] Day K., Shefer G., Richardson J. B., Enikolopov G., Yablonka - Reuveni Z. 2007. Nestin-GFP reporter expression defines the quiescent state of skeletal muscle satellite cells. Dev Biol304, 246–259.
[37] Day K., Shefer G., Shearer A., Yablonka - Reuveni Z. 2010. The depletion of skeletal muscle satellite cells with age is concomitant with reduced capacity of single progenitors to produce reserve progeny. Dev Biol340, 330–343.
[38] De Luca A., De Falco M., Baldi A., Paggi M. G. 2003. Cyclin T. Three forms for different roles in physiological and pathological functions. J. Cell Physiol. 194: 101-107.
[39] Deaton J. W., Reece F. N., May J. D. 1970. Temperature and light and broiler growth. Poult Sci 49:1593–6.
[40] Decuypere E., Michels H. 1992. Incubation temperature as a management tool: a review. World's Poultry Science Journal, 48: 28-38. [41] Deeming D. C., Ferguson M. W. J. 2004. Egg incubation. Its effects on embryonic development in birds and reptiles. Cambridge, 1-462 pp.
[41] Dubowitz W., Brooke M., Neville H. E. 1973. Muscle biopsy: a modern approach. W.B. Saunders Company LTD London, Philadelphia, Toronto.
[42] Dusterhoft S., Yablonka - Reuveni Z., Pette D. 1990. Characterization of myosin isoforms in satellite cells cultures from adult rat diaphragm, soleus and tibialis anterior muscles. Differentiation 45:185-191.

[43] Elminowska - Wenda G. 2007. Structure of skeletal muscle in Leghorn type chicken from conservative and parent flocks. Folia biol. (Kraków) 55: 3-4.
[44] Elminowska - Wenda G. 2007. Mikrostruktura mięśni szkieletowych drobiu i świń w zależności od wybranych czynników genetycznych i żywieniowych. Rozpr. Hab. nr 126, UTP Bydgoszcz.
[45] Fairchild, B. D., Christensen V. L. 2000. Photostimulation of turkey eggs accelerates hatching times without affecting hatchability, liver or heart growth or glycogen content. Poult. Sci. 79:1627-1631.
[46] Feldman J. L., Stockdale F. E. 1992. Temporal appearance of satellite cells during myogenesis. Dev Biol 153:217-226.
[47] Florini J. R., Ewton D.Z., Coolican S.A. 1996. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. Endocrine Reviews17: 481-517.
[48] Geetha-Loganathan P., Nimmagadda S., Scaal M., Huang R., Christ B. 2008. Wnt signaling in somite development. Ann Anat 190: 208–222.
[49] Grabowska I. 2007. Regeneration of skeletal muscles and muscular dystrophy. ISSN 1644-8448. (In Polish).
[50] Grobet L., Martin L. J., Poncelet D., Pirottiin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Menissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M. 1997. Adeletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscled phenotype incattle. Nature Genetics17: 71-74.
[51] Gros J., Manceau M., Thome V., Marcelle C. 2005. A common somatic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells. *Nature*.435:954–958.
[52] Gwara E., Mazanowska A., Chełmońska B. 1999. The influence of different light colour on growth rate and breeding parameters of chicken broilers. Zesz. Nauk. Prz. Hod. 45: 197-204. (In Polish).
[53] Gwara T., Hoder A. 2001. Evaluation of hatchability of quail eggs independence on the light type. Zesz. Nauk. Prz.Hod. 57: 51-57. (In Polish).
[54] Hafez H. M. Wäse K., Haase S., Hoffmann T., Simon O., Bergmann V. 2004. Leg disorders in various lines of commercial turkeys with especial attention to pododermatitis. Proceedings of the 5th International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, ISBN: 3-938026-15-4: 11-19.
[55] Hafez H.M., R. Hauck. 2005. Genetic selection in turkeys and broilers and their impact on health conditions. 4-th European Poultry Genetic Symposium, Dubrovnik, Croatia, pp. 6-8.
[56] Halevy O., Monsonego E., Marcelle C., Hodik V., Mett A., Pines, M. 1994. A new avian fibroblast growth factor receptor in myogenic and chondrogenic cell differentiation. Experimental Cell Research 212: 278-284.

[57] Halevy O., Hodik V., Mett A. 1996. The effects of growth hormone on avian skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation. Gen. Comp. Endocrinol. 101: 43–52.
[58] Halevy O., Biran I., and Rozenboim I. 1998. Various light source treatments affect body and skeletal muscle growth by affecting skeletal muscle satellite cell proliferation in broilers. Comp Biochem Physiol A120: 317–323.
[59] Halevy O., Geyra A., Barak M., Uni Z., Sklan D. 2000. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. J. Nutr. 130:858–864.
[60] Halevy O., Krispin A., Leshem Y., McMurtry J.P., Yahav S. 2001. Early-age heat exposure affects skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation in chicks. American Journal ofPhysiology281: R302-R309.
[61] Halevy O., Piestun Y., Allouth M., Rosser B., Rinkevitch Y., Reshef R., Rozenboim I., Wleklinski M., Yablonka - Reuveni Z. 2004 The pattern of Pax-7expression during myogenesis in the posthatch chicken establishes a model for satellite cell differentiation and renewal. Developmental Dynamics 231: 489-502.
[62] Halevy O., Rozenboim I., Yahav S. 2006. Muscle development – could environmental manipulations during embryogenesis of broiler change it? Abstracts Conf. Sci., Verona 10-14 september 2006.
[63] Halevy O., Piestun Y., Rozenboim I., Yablonka - Reuveni Z. 2006a. In ovo exposure to monochromatic green light promotes skeletal muscle cell proliferation and affects myofiber growth in posthatch chicks. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 290: R1062–R1070.
[64] Halevy O., Lavi M., Yahav S. 2006b. Enhancement of meat production by thermal manipulations during embryogenesis of broilers. Worlds Poultry Science Journal.62: 485-497.
[65] Hartley R.S., Bandman E., Yablonka-Reuveni Z. 1992. Skeletal muscle satellite cells appear during late chicken embryogenesis. Dev Biol153: 206-216.
[66] Hartley R.S., Bandman E., Yablonka-Reuveni Z. 1992. Myoblast from fetal and adult skeletal muscle regulate myosin expression differently. Dev Biol 148:249-260.
[67] Havenstein G.B., Ferket P.R., Qureshi M.A. 2003. Carcass composition and yield of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets, Poultry Sci. 82 1509–1518.
[68] Hawke T. J., Garry D. J. 2001. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. J Appl Physiol 91:534–551.
[69] Hoopaw P. D., Goodman B. L. 1972. The influence of intermittent light on growth, feed efficiency and other traits in broilers. Poult Sci 51:1820–1.
[70] Horsley V., Pavlath G. K. 2004. Forming a multinucleated cell: molecules that regulate myoblast fusion. Cells Tissues Organs 176:67-78.

[71] Hulet R. M. 2007. Managing incubation: Where are we and why? Poult. Sci. 86:1017–1019.
[72] Hutcheson D. A., Zhao J., Merrell A., Haldar M., Kardon G. 2009. Embryonic and fetal limb myogenic cells are derived from developmentally distinct progenitors and have different requirements for beta-catenin. Genes Dev 23: 997-1013.
[73] Ishikawa A., Kitajima S., Takahashi Y., Kukobo H., Kanno J., Inoue T. R., Saga Y. 2004. Mouse Nkd1, a Wnt antagonist, exhibits oscillatory gene expression in the PSM under the control of Notch signaling. Mech Dev 121: 1443.1453.
[74] Joulia D., Bernardi H., Garandel V., Rabenoelina F., Vernus B., Cabello G. 2003. Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and differentiation by myostatin.Experimental Cell Research286: 263-275.
[75] Kassar-Duchossoy L., Giacone E., Gayraud-Morel B., Jory A., Gomès D., Tajbakhsh S. 2005. Pax3/Pax7 mark a novel population of primitive myogenic cells during development. Genes Dev 19:1426-1431.
[76] Katz F. R. S. 1961. The termination of the afferent nerve fiber in the muscle spindle of the frog. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. 243: 221-225.
[77] Kijowski J. 2000. Wartość żywieniowa mięsa drobiowego. Przem. Spoż., 3, 10-11.
[78] Kijowski J., Kupińska E. 2013. Dylematy ograniczania miopatii mięśni piersiowych typu DPM u kurcząt brojlerów. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 6 (91), 32 – 44.
[79] Klont R. E., Eikelenboom, Brocks L. 1998. Muscle fibre type and meat quality. Proc., 44th ICoMST: 98-105.
[80] Kłosowska D., Niewiarowicz A., Kłosowski B., Trojan M. 1979. Histochemical and histological investigations on pectoralis superficialis muscle with accelerated, normal and delayed glycolysis rate in chicken broiler. Fleischwirtsch 59, 1004-1008.
[81] Knight J. D. R., Kothary R. 2011. The myogenic kinome: protein kinases critical to mammalian skeletal myogenesis. Skeletal Muscle 1:29,1-18.
[82] Kozioł I., Krzywoń M. 2014. Stan przemysłu drobiarskiego w Polsce. Progress in Economic Sciences Nr 1: 85-98.
[83] Kuang S., Kuroda K., Le Grand F., Rudnicki M. A. 2007. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. Cell 129, 999–1010.
[84] Kuang S., Gillespie M.A., Rudnicki M.A. 2008. Niche regulation of muscle satellite cell self-renewal and differentiation. Cell Stem. 2: 22–31
[85] Kuang S., Rudnicki M. A. 2008. The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. Trends in Molecular Medicine Vol.14 No.2:82-91.
[86] Langley B., Thomas M., Bishop A., Sharma M., Gilmour S. and Kambadur R. 2002. Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression. Journal of Biological Chemistry277: 49831-49840.

[87] Lefaucheur L., Gerrard D. 1998. Muscle fiber plasticity in farm mammals. J. Anim. Sci.77:1-19.
[88] Lepper C., Conway S. J. , Fan C. M. 2009. Adult satellite cells and embryonic muscle progenitors have distinct genetic requirements. Nature 460: 627-631
[89] Lepper C., Fan C. M. 2010. Inducible lineage tracing of Pax7-descendant cells reveals embryonic origin of adult satellite cells. Genesis 48: 424-436.
[90] Lindstrom M., Thornell L.E. 2009. New multiple labelling method for improved satellite cell identification in human muscle: application to a cohort of power-lifters and sedentary men. Histochem Cell Biol 132, 141–157.
[91] Lindstrom M., Pedrosa-Domellof F., Thornell L. E. 2010. Satellite cell heterogeneity with respect to expression of MyoD, myogenin, Dlk1 and c-Met in human skeletal muscle: application to a cohort of power lifters and sedentary men. Histochem Cell Biol 134, 371–385.
[92] Manser C. E. 1996. Effects of lighting on the welfare of domestic poultry: A review. Animal Welfare 5:341-360.
[93] Marchal S., Cassar-Malek I., Pons F., Wrutniak C., Cabello, G. 1993. Tiiodothyronine influences quail myoblast proliferation and differentiation. Biology of the Cell78: 191-197.
[94] Massari ME, Murre C. 2000. Helix–loop–helix proteins: Regulators of transcription in eucaryotic organisms. Mol Cell Biol 20: 429–440.
[95] Mauro A. 1961. Satellite cells of skeletal muscle fibers. Journal of Biophysics and Biochemistry Cytology9: 493-495.
[96] McCroskery S., Thomas M., Maxwell L., Sharma M., Kambadur R. 2003. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. Journal of Cell Biology162: 1135- 1147.
[97] McIlroy S. G., Goodall E. A., McMurray C. H. 2005. A contact dermatitis of broilers - epidemiological findings. Avian Pathology 16: 93-105.
[98] McKinnell I. W., Rudnicki M. A. 2005. Developmental biology: one source for muscle. Nature 435:898-899.
[99] Messina G., Cossu G. 2009. The origin of embryonic and fetal myoblasts: a role of Pax3 and Pax7. Genes & Development 23:902–905
[100] Milewska M., Grabiec K., Grzelkowska - Kowalczyk K. 2014.Interakcje szlaków sygnałowych proliferacji i różnicowania w miogenezie. Interactions of proliferation and differentiation signaling pathways in myogenesis. Postepy Hig Med Dosw (online) 68: 516-526.
[101] Morgan J. E., Partridge T. A. 2003. Muscle satellite cells. Int. J. Biochem. Cell Biol. 35: 1151-1156.
[102] Morris T. R. 2004. Environmental control for layers. World's Poultry Science Journal 60 (2): 163-175.

[103] Motyl T., Jank M., Budasz-Świderska M., Gajewska M., Zarzyńska J., Zwierzchowski L., Oprządek J., Siadkowska E. 2004. Polimorfizm i ekspresja genów z nadrodziny TGF-β oraz ich znaczenie w regulacji wzrostu mięśni i przebudowy gruczołu mlekowego. Postępy genetyki molekularnej bydła i trzody chlewnej, pod red. M. Świtońskiego, Wyd. AR w Poznaniu.
[104] Moyer A. L., Wagner K. R. 2011. Regeneration versus fibrosis in skeletal muscle. Curr. Opin. Rheumatol. 23: 568–573.
[105] Musaro A., McCullagh K., Paul, A., Houghton L., Dobrowolny G., Molinaro M., Barton E. R., Sweeney H. L., Rosenthal N. 2001. Localized IGF-I transgeneexpression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. Nature Genetics27: 195-200.
[106] Nowak M., Trziszka T. 2010. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (68), 114 – 120.
[107] Olanrewaju H. A., Thaxton J. P., Dozier W. A., Purswell J. L., Roush W. B., Branton S. L. 2006. A review of lighting programs for broiler production. International Journal of Poultry Science 4: 301-308.
[108] Olguin H. C., Olwin B. B. 2004. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: a potential mechanism for self-renewal. Dev Biol 275:375-388.
[109] Ordahl C. P., Williams B. A., Denetclaw W. 2000. Determination and morphogenesis in myogenic progenitor cells: an experimental embryological approach. Curr. Top. Dev. Biol.48: 319–367.
[110] Ostrowski K. 1995. Histologia. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa.
[111] Oustanina S., Hause G., Braun T. 2004. Pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification. EMBO J 23: 3430-3439.
[112] Parker M. H., Seale P., Rudnicki M. A. 2003. Looking back to the embryo: Defining transcriptional networks in adult myogenesis. Nat Rev Genet 4: 497–507.
[113] Perry G. C. 1981. Growth and food intake of broilers under various lighting regimes. Br Poult Sci 22:219–25.
[114] Peterson C. A., Cho M., Rastinejad F., Blau H. M. 1992. Beta-enolase is a marker of human myoblast heterogeneity prior to differentiation. Dev Biol 151:626-629.
[115] Phogat S. B., Aggarwal C. K., Chopra S. K. 1985. Effect of red and Green lights on growth of quail. Indian J Poult Sci20: 126–128.
[116] Piestun Y., Yahav S., Halevy O. 2005, Heating manipulation affects satellite cell proliferation and increases muscle growth potential in broilers. Page 38 in The Second Combined Workshop Fundamental Physiology of the European Working Group of Physiology and Perinatal Development in Poultry, Berlin, Germany.

[117] Piestun Y., Harel M., Barak M., Yahav S., Halevy O. 2009. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. J. Appl. Physiol. 106: 233-240.
[118] Pisula A., Pośpiech E. 2011. Mięso-podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW, Warszawa.
[119] Przewoźniak M., Brzóska E. 2008. Białka Pax w różnicowaniu komórek i organogenezie. Pax proteins – the role in cell differentiation and organogenesis. Post Biol Kom 35:229-242.
[120] Relaix F., Rocancourt D., Mansouri A., Buckingham M. 2005. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. Nature. 435:948–953.
[121] Rehfeldt C., Kuhn G. 2006. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. J. Anim. Sci. 84, Suppl., 113-123.
[122] Remignon H., Lefaucheur L., Blum. J. C, Ricard F. H. 1994. Effect of divergent selection for body weight on three skeletal muscles characteristics in the chicken. Br. Poult. Sci. 35:65–76.
[123] Remignon H., Gardahaut H., Marche G., Ricard F. H. 1995. Selection for rapid growth increase the number and Myogenesis – Possibilities of its Stimulation in Chickens size of muscles fibers without changing their typing in chickens. J. Muscle Res. Cell Motil. 16: 95-102.
[124] Rios A. C., Serralbo O., Salgado D., Marcelle C. 2011. Neural crest regulates myogenesis through the transient activation of NOTCH. Nature 473: 532–535.
[125] Rosiński A. 2000. Analiza bezpośrednich i skorelowanych efektów selekcji w dwóch rodach gęsi. Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu, Rozprawy nauk. Zeszyt 309.
[126] Rosser B. W. C., Davis M. B., Brocklebank J. R., George J. C.1987. On the histochemical characterization and distribution of fast and slow muscle fibers in certain avain skeletal muscles. Acta histchem 81, 85-93.
[127] Rozenboim I., Biran I., Uni Z., Robinzon B., Halevy O. 1999. The effect of monochromatic light on broiler growth and development. Poultry Science 78: 135-138.
[128] Rozenboim I., Huisinga R., Halevy O., El Halawani M. E. 2003. Effect of embryonic photostimulation on the posthatch growth of turkey poults. Poult Sci 82: 1181–1187.
[129] Rozenboim I., Biran I., Chaiseha Y., Yahav S., Rosenstrauch A., Sklan D., Halevy O. 2004a. The effect of a green and blue monochromatic light combination on broiler growth and development. Poultry Sci. 83: 842-845.
[130] Rozenboim I., Piestun Y., Mobarkey N., Barak M., Hoyzman A., Halevy O. 2004b. Monochromatic light stimuli during embryogenesis enhance embryodevelopment and posthatch growth. Poult Sci83: 1413–1419.

[131] Sacco A., Doyonnas R., Kraft P., Vitorovic S., Blau H. M. 2008. Self-renewal and expansion of single transplanted muscle stem cells. Nature 456: 502-506.
[132] Sadowski C. L., Wheeler T. T., Wang L. H., Sadowski H. B. 2001. GH regulation of IGF-I and suppressor of cytokine signaling gene expression in C2C12 skeletal muscle cells. Endocrinology142: 3890-3900.
[133] Scheuermann G. N., Bilgili S. F., Tuzun S., Mulvaney D. R. 2004. Comparison of chicken genotypes: myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. Poultry Science 83:1404–1412.
[134] Schienda J., Engleka K.A., Jun S., Hansen M.S., Epstein J.A., Tabin C.J., Kunkel L.M., Kardon G. 2006. Somitic origin of limb muscle satellite and side population cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 945–950.
[135] Schultz E., Lipton B. H. 1982. Skeletal muscle satellite cells: changes in proliferation potential as a function of age. Mech Ageing Dev 20: 377–383.
[136] Seale P., Rudnicki M. A. 2000. A new look at the origin, function, and „stem cell" status of muscle satellite cells. Dev. Biol. 218: 115-124.
[137] Seale P., Sabourin L. A., Girgis-Gabardo A., Mansouri A., Gruss P., Rudnicki M. A. 2000. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. Cell 102, 777-786.
[138] Seale P.. Ishibashi J., Scimè A., Rudnicki M. A. 2004. Pax7 is necessary and sufficient for the myogenic specification of CD45+:Sca1+ stem cells from injured muscle. PLoS Biol. 2, E130.
[139] Shafey T. M., Al - Mohsen T. H. 2002. Embryonic growth, hatching time and hatchability performance of meat breeder eggs incubated under continuous green light. Asian Aust J Anim Sci15: 1702–1705.
[140] Sheehan S.M., Tatsumy R., Temm-Grove C. J., Allen R. E. 2002. HGF is an autocrine growth factor for skeletal muscle satellite cells in vitro. Muscle and Nerve23: 239-245.
[141] Shefer G., Van de Mark D. P., Richardson J. B., Yablonka - Reuveni Z. 2006. Satellite-cell pool size does matter: defining the myogenic potency of aging skeletal muscle. Dev Biol294, 50–66.
satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. PLoSOne. 5, e13307.
[142] Shefer G., Rauner G., Yablonka - Reuveni Z., Benayahu D. 2010. Reduced satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. PLoSOne. 5, e13307.Shefer G., Rauner G., Yablonka-Reuveni Z., Benayahu D. 2010. Reduced
[143] Shultz E., McCormick K. 1994. Skeletal muscle satellite cells. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. Vol 123, 21-246.
[144] Shutze J. V., Jensen L. S., Matson W. E., Carver J. S. 1960. The influence of various lighting regimens on the performance of broiler chickens. Technical Bulletin No. 36. Puyallup, WA: Washington Agricultural Experimental Station.

[145] Sihvo H. K., Immonen K., Puolanne E. 2014. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. Vet Pathol Vet Pathol. 51(3): 619-623.
[146] Stockdale F.E.1992. Myogenic cell lineages. Developmental Biology154: 284-298.
[147] Szymkiewicz M. M., Rzeszewska Z., Wojtczak. W. 1985. Effect of illumination of incubated chicken eggs on embryonic and post-embryonic development. Ann. Warsaw Agri. Univ.- SGGW-AR. Anim. Sci. 19:15-19.
[148] Tajbakhsh S. 2009. Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis. J Intern Med 266: 372-389.
[149] Thomas M., Langley B., Berry C., Sharma M., Kirk S., Bass J., Kambadur R. 2000. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. Journal of Biological Chemistry275: 40235–40243.
[150] Tzschentke, B., Plaggeman A.. 2006. Imprinting and critical periods in early development. World's Poult. Sci. J. 62:626–637.
[151] Uhrin V. 1995. Structural differences between white and red mescles of birds. Živočišna Vỳroba 8:337-342.
[152] Visschedijk A. H. J. 1991. Physics and physiology of incubation. Poult. Sci. 32: 3-20.
[153] Walter J. H., Voitle R. A. 1972. Effects of photoperiod during incubation on embryonic and post-embryonic development of broilers. Poult Sci51: 1122–1126.
[154] Walter J. H., Voitle R. A. 1973. Effects of photoperiod during incubation on embryonic and post-embryonic development of quail and chickens. Br Poult Sci14: 533–540.
[155] White R. B., Bierinx A. S., Gnocchi V. F., Zammit P. S. 2010. Dynamics of muscle fibre growth during postnatal mouse development. BMC Dev Biol 10: 21.
[156] Xie D., Wang Z. X., Dong Y. L., Cao J., Wang J. F., Chen J. L., Chen Y. X. 2008. Effects of monochromatic light on immune response of broilers. Poultry Science 87: 1535-1539.
[157] Yablonka - Ruveni Z, Nameroff M. 1990. Temporal differences in desmin expression between myoblasts from embryonic and adult chicken skeletal muscle. Differentiation 45:21-28.
[158] Yablonka - Reuveni Z., Rivera J. A 1994.Temporal expression of regulatory and structural muscle proteins during myogenesis of satellite cell on isolated adult rat fibers. *Dev Biol* 164: 588–603.
[159] Yablonka - Reuveni Z. 1995. Myogenesis in the chicken: the onset of differentiation of adult myoblasts is influenced by tissue factors. Basic Appl Myol (BAM) 5:33–41.
[160] Yablonka - Reuveni Z., Day K. 2011. Skeletal muscle stem cells in the spotlight: the satellite cell., in Regenerating the Heart: StemCells and the

Cardiovascular System (Stem Cell Biology and Regenerative Medicine Series) (Cohen I., Gaudette G., Eds.) Springer, Humana Press, Chapter 11, pp. 173–200.
[161] Yahav S., Hurwitz S**.** 1996. Induction of thermotolerance in male broiler chickens by temperature conditioning at early age. Poultry Science75: 402-406.
[162] Yahav S., Plavnik Y. 1999. The effect of an early age thermal conditioning and food restriction on performance and thermotolerance of male broiler chickens. British Poultry Science40: 120-126.
[163] Yahav S., McMurtry J.2001. Thermotolerance acquisition in broiler chickens by temperature conditioning early in life-the effect of timing and ambient temperature. Poultry Science80: 1662-1666.
[164] Yahav S., Collin A., Shinder D., Picard M. 2004. Thermal manipulations during broiler chick's embryogenesis – the effect of timing and temperature, Poultry Sci. 83:1959–1963.
[165] Zammit P., Beauchamp J. 2001. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell? Differentiation 68:193–204.
[166] Zammit P. S., Heslop L., Hudon V., Rosenblatt J. D., Tajbakhsh S., Buckingham M. E., Beauchamp J. R., Partridge T. A. 2002. Kinetics of myoblast proliferation show that resident satellite cells are competent to fully regenerate skeletal muscle fibers. Exp Cell Res 281: 39-49.
[167] Zammit P. S., Partridge T. A., Yablonka - Reuveni Z. 2006. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. Journal of Histochemistry & Cytochemistry. 54(11): 1177–1191.
[168] Zhang L., Zhang H. J., Qiao X., Yue H. Y., Wu S. G., Yao J. H., Qi G. H. 2012. Effect of monochromatic light stimuli during embryogenesis on muscular growth, chemical composition, and meat quality of breast muscle in male broilers. Poultry Sci. 91:1026–1031.

Adresy internetowe:

Krajowa Rada Drobiarstwa – Izba Gospodarcza w Warszawie http://www.krd-ig.com.pl/sytuacjanarynkumiesadrobiowegowpolsceiwuew2014orazprognozyna2015rok,832,l1.html

STRESZCZENIE

Masowość światowej produkcji drobiu wymusza podejmowanie prób, mających na celu choć niewielką poprawę wyników lęgu, zdrowotności i mięsności kurcząt, co w efekcie przynosi dalsze, wymierne korzyści ekonomiczne. Znaczne skrócenie odchowu obecnych kurcząt typu mięsnego spowodowało, że okres embrionalny i pierwszy tydzień życia tych ptaków jest najważniejszym okresem z punktu widzenia produkcji mięsa, dlatego tak ważna jest ocena wpływu czynników, które mogą wspomagać kształtowanie się cech produkcyjnych już w okresie embrionalnym lub wczesnym postnatalnym piskląt. Jak donosi piśmiennictwo naukowe, do „bezpiecznych" czynników, które ingerują w rozwój ptaków już na poziomie embriogenezy należą: światło i temperatura lęgu. Celem badań jest ocena wpływu monochromatycznego światła barwy zielonej w dwóch różnych cyklach (30 minut światła i 30 minut ciemności oraz 12 godzin światła i 12 godzin ciemności) – zastosowanego w całym okresie embriogenezy - oraz podwyższonej do 38,5°C lub 39,0°C temperatury lęgu miedzy E15 a E18 na wylęgowość, masę ciała i miogenezę mięśnia piersiowego kurcząt brojlerów, wyrażoną jego masą oraz grubością włókien mięśniowych i liczbą komórek satelitowych ($Pax7^+$) w 1., 4. i 8. dobie życia. Materiał doświadczalny dla każdego etapu badań stanowiły jaja wylęgowe i kurczęta brojlery w różnym wieku. Inkubację jaj kur typu mięsnego firmy Hubbard (mieszaniec F15) - zakupione w firmie Drobex - Agro sp. z o.o.- przeprowadzano w aparatach lęgowych firmy Fest, model ALMD-1 z oddzielną komorą klujnikową, model: ALMU1-10. Jeden z aparatów lęgowych był wyposażony w diody LED, emitujące światło barwy zielonej (o w/w parametrach). Wykazano pozytywny wpływ działania światła barwy zielonej, przejawiający się zarówno w istotnie większej masie ciała kurcząt poddanych działaniu tego czynnika (doświadczenie IA: grupa Ś1 30/30 - 1. doba życia; doświadczenie IB: grupa Ś1 30/30 - 4. i 8. doba życia), jak i w istotnie większej masie mięśnia piersiowego w 8. dobie życia (doświadczenie IB: grupa Ś1 30/30), a także w wysoko istotnie większej - w tej grupie kurcząt - grubości włókien w mięśniu piersiowym. Analogicznie, analiza wpływu podwyższonej temperatury lęgu na w/w parametry wykazała korzystny wpływ jedynie na udział (%) mięśnia piersiowego w żywej masie ciała kurcząt w 8. dobie życia (doświadczenie III). Nie stwierdzono istotnego wpływu fotostymulacji oraz podwyższonej temperatury lęgu na liczbę komórek $Pax7^+$ na jednostce powierzchni przekroju podłużnego mięśnia piersiowego kurcząt brojlerów w 1. i 4. dobie życia. Stwierdzono natomiast istotnie więcej tych komórek w 8. dobie życia u kurcząt, które w okresie embriogenezy były stymulowane podwyższoną do 38,5°C temperaturą lęgu, co jednocześnie było powiązane z ich istotnie najmniejszą masą ciała. Obserwowano jednak tendencję, że większej masie ciała oraz większej masie mięśnia piersiowego (g lub %) towarzyszyło jednoczesne zmniejszanie się liczby komórek $Pax7^+$ (komórek satelitowych) obliczonej na jednostce powierzchni tego mięśnia.

SUMMARY

The massive nature of the poultry world production compels to take tests that aimed to at least a little improvement in hatchability, health and meatiness of chickens, which in turn brings more measurable economic benefits. A considerable decrease in rearing of the current meat-type chickens caused the fact that embryonic period and the first week of life of these birds is critical period from the perspective of the meat production. Therefore, it is important to evaluate the impact of the factors that can promote the development of the production traits either during embryonic or early postnatal period of chicks. As reported by the scientific references, to the "secure" factors that interfer in the development of the birds at the level of embryogenesis belong: light and temperature of the hatching. The aim of the study is to evaluate the impact of monochromatic green light in two different cycles (30 minutes of light and 30 minutes of darkness or 12 hours of light and 12 hours of darkness) – used throughout the period of embryogenesis - and increased to 38.5°C or 39.0°C temperature hatching between E15 and E18 on hatchability, body weight and myogenesis of chickens broiler pectoral muscle, expressed by its mass and thickness of the muscle fibers and the number of satellite cells ($Pax7^{+}$) in the 1st, 4th and 8th day of life. The experimental material for each experiment of the study consisted of the eggs and broiler chickens at different ages. The incubation of eggs of hens meat-type of Hubbard's company (crossbreed F15), purchased from DROBEX - Agro Ltd., performed in breeding incubators of Fest company, ALMD1 model with a separate chamber hatchers, ALMU1-10 model. One of the breeding incubators was equipped with LEDs, emitting green light (with the above mentioned parameters). It has been demonstrated a positive impact of green light, manifesting by both significantly higher body weight of chickens exposed to this factor (experience IA: a group of S1 30/30 - the first day of life; experience IB: group S1 30/30 - 4 and 8. day of life), and in significantly higher pectoral muscle mass in the 8th day of life (IB experience: a group of S1 30/30), as well as highly significantly thicker - in the group of chickens - the diameter of pectoral muscle fibers. Similarly, analysis of the impact of high temperature hatching on the above mentioned parameters showed a beneficial effect only at the share (%) pectoral muscle in a live body mass of chickens in the 8th day of life (experience III). There was no significant effect of the photostimulation and high temperature of hatching on the number of $Pax7^{+}$ cells per unit area at the longitudinal section pectoral muscle of chickens broiler in the 1st and 4th days of life. There was found a significantly greater number of these cells in the 8th day of life in chickens, which during embryogenesis were stimulated by increased to 38.5°C temperature hatching. This also was significantly correlated with the smallest weight. However, there was a tendency to both higher body weight and higher pectoral muscle mass (g or %) accompanied by a simultaneous decrease in the number of $Pax7^{+}$ cells (satellite cells), calculated per unit area of this muscle.