



CHICK  
PROGRAM

第10期/2013年7月

## 雏鸡胚胎形成后期、啄壳和破壳期间的生理调控机制

*Pr. E. Decuyper, H. Willemsen 比利时海弗莱Kasteelpark Arenberg 30号B-3001,*

*鲁汶天主教大学, 应用生物科学与工程学院, 家畜生理及免疫实验室*

### 出壳过程

出壳标志着雏鸡壳内生活的终止，并预示着从良好保护的水相环境转变为更为艰险的蛋外生活。

直到完成向肺部呼吸的转变，血液从绒毛尿囊膜排干，正常情况下卵黄囊完全缩回体腔，一只雏鸡才能破壳而出。鸟类如同爬行动物一样，在发育过程中都有一段绒毛尿囊膜和肺部同时起作用的时期。在这段时期（保护胎儿期或围产期），雏鸡很可能是从啄破气室的内壳膜后开始呼吸（内部啄壳，IP），之后，雏鸡会通过喙部的破卵齿（家禽在开始呼吸大约8~9小时后）啄破气室外部的蛋壳（外部啄壳，EP）。

实际上，对于大多数鸟类品种来说，在孵化后期，上颌骨尖端附近都有破卵齿（一个角质化的点状结构）。偶尔需要头部和身体的运动协调，让破卵齿的尖端与蛋壳接触。最终，在蛋壳内完成破壳或“啄壳”。

第一次啄壳在蛋壳外表面是可见的，通常好像是小裂纹的凸起的怪异区域。要注意区分破壳（或外部啄壳）和/或外部壳膜穿孔的区别，由于前者会在外壳膜尚未穿孔之前发生，因为喙部对蛋壳施加的机械压力很显然能够在没有弄破壳膜的情况下啄破蛋壳。“外部啄壳”一词多用于被啄开的壳，且通常被认为同时解除了缺氧状态。但其实不然，在孵化结束时明显的缺氧和血液碳酸过多症，只有在胚胎在穿透蛋壳和外部壳膜之后并接触到空气时才能解除。蛋壳强度在不同鸟类、不同品种和不同个体之间存在明显差异。





## CHICK PROGRAM

我们经常提出内膜穿孔、肺部膨胀、啄壳、全功能肺和出壳之间暂时的关系（按这种顺序），同时表明了内部啄壳与肺部通风之间的功能性关系。但是，EL-Ibiary及其同事（1966）进行的关于所有这些事件之间的关系的研究表明，大约35%雏鸡的肺部通风出现在外部膜穿孔之前，而另2/3的肺部在接触到空气之后才充气。如果这些观察到的现象代表正常的出壳过程，那么气室对肺部充气并没有直接的因果关系，而且在建立呼吸之后一定时间内不必破壳，正如大多数文献所提到的那样。

出壳的高潮是雏鸡在发育的适当阶段破壳而出，具有很强的活动力。雏鸡会做出许多协调有节奏的动作，包括喙对蛋壳有力的斜推，同时肩部、胸部以及跗关节对蛋壳施加强大的压力，然后在蛋壳内整个身体做出向左的旋转动作。

从而，喙部在蛋壳上刺出一条环状的裂缝，从而在余下的蛋壳上分割出一个“帽子”。当这环状裂缝达到蛋壳圆周的2/3时，雏鸡会通过胸部和关节的推动把“帽子”移开，这样雏鸡就能够离开蛋壳了。

所有这些出壳过程中的事件都依赖于支持肌肉组织的适当发育，例如孵肌（头半棘肌）和胸部肌肉（胸大肌）。

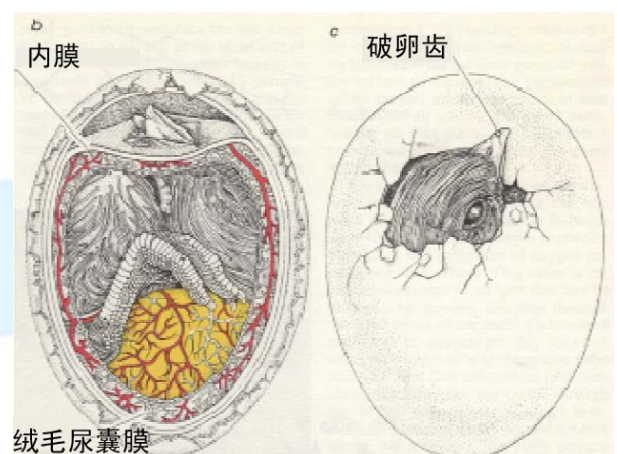
由于破壳和出壳是一个从保护良好的水相环境到更加危险的蛋外生活的巨大变化，这在很大程度上可以与哺乳动物的出生相比，但得到的关注却远不及哺乳动物。这在一定程度上与出壳是雏鸡逃离坚硬的容器（胚胎发育的容器）的观点，以及孵化场员工直到最近才把孵化率看作成功孵化（这意味着死胚率是孵化人员交流的最终形式）最终标准的事实有关系。现在，我们意识到我们可以稍早一点注意到胚胎的发育情况，我们在寻找蛋内关于发育阶段、生产性能、对外界环境状况或刺激的反应，以及对孵化后生活应对情况的胚胎-雏鸡信号。而且，长期以来，我们意识到蛋壳和壳膜功能比硬质容器更多，除了是胚胎和外界环境之间的间接边界外，还可用于呼吸气体交换、水份保存、预防感染，此外在较小程度上，还是一个热传递屏障。对于后者，静止空气（取决于风速和通风率）的边界层是热交换的主要屏障。蛋壳的物理属性很可能也经受了自然选择，以使孵蛋在母鸡孵育时不至于因为震动和挤压而破裂，从而改变蛋壳的功能完整性。由于在家禽生产体系中鸡蛋的机械性搬运的强度增加，所以经常人为地进行蛋壳选择。

在不同鸟类品种中，因为蛋壳和壳膜（雏鸡必须从中出来的）特别的物理属性而呈现不同的出壳模式。（Bakhuis, 1977）

在所有的家禽品种中，最常见的出壳方法是对称法，以在出壳高潮期间雏鸡在蛋内从最初的啄壳孔开始旋转为特点。不对称法多用于一些长嘴品种的家禽，很少有或根本没有在蛋内的旋转，并且保留不对称的蛋壳。

在某些鸟类中，可观察到母鸟加以协助，但仅仅是作为对称方法或不对称方法的辅助（例如山鸟类、秃鹰类、火烈鸟、某些猫头鹰、山雀、及其它的一些鸟类）。雉科已经进化出了一套独特的出壳方法以应对其不平常的出壳条件，与其它同等重量的鸟蛋相比，蛋壳厚度大幅降低

（1/3，且气孔变大）。有一系列爪部拉伸和撕扯的动作，加上雏鸟的旋转，足以打破蛋壳和壳膜，并破壳而出。采用对称法的鸟类中，关于雏鸟破壳期间在蛋内要旋转多大度数，差异很大。雏鸟通常只有在这个品种的啄壳特性完成后才会推动并旋转。天鹅大约旋转180~200°，鹅大约旋转200~240°，家鸡、鸭子、野鸡大约旋转240~270°，鹌鹑、鸽子大约旋转300~360°。这些差异好像是通过外覆物蛋壳的物理属性（部分来自蛋壳，部分来自壳膜）强加给雏鸟的适应特点。实际上，鹌鹑蛋和鸽子蛋的这种外壳整体，要比家鸡蛋和家鸭蛋的要坚硬（Bond等，1988）。







## CHICK PROGRAM

### 影响出壳过程的因素

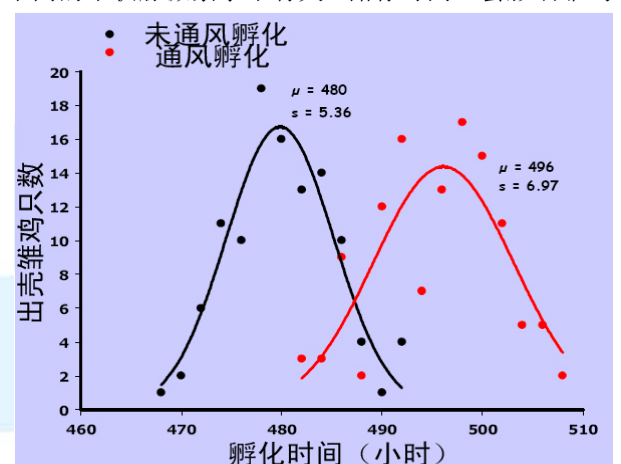
许多内在因素和环境因素，都会影响总的孵化时间（以出壳时间来表达），这些因素不仅仅会加速和延迟出壳过程，而且还会产生其它不同的影响。也就是说，这些因素并不是对孵化中所有环节的影响都相同。我会给出一些例子，这些研究可以帮助我们弄清楚，什么机制对这关键过渡时期的内部啄壳、外部啄壳、出壳，以及其它生理变化的不同过程有促进作用。

长久以来，我们知道，入孵之前种蛋的储存会导致啄壳和破壳时间延迟，每1天的储存期和略小于1小时的出壳时间之间存在线性关系，同时，肉种鸡日龄对出壳过程有明显影响。研究表明，日龄过小或日龄过大种鸡所产的种蛋的出壳时间长于处于最佳时期（42周龄）种鸡所产的种蛋。

但是，肉种鸡日龄和蛋储存时间之间还存在显著的相互影响（Witters, 2009），这就是为何当入孵前种蛋储存时间达到17天时，年青肉种鸡的蛋在出壳过程中出现的问题最多。另外，如果把内部啄壳、外部啄壳和出壳过程的持续时间看作存储（3或18天）或种鸡日龄（38或58周龄）的一项参数，那么很显然，内部啄壳的持续时间会受到存储时间的影响，而外部啄壳的持续时间仅仅受到种鸡日龄的影响。前者是与进入种蛋CO<sub>2</sub>的水平有关，在相同生理阶段长时间存储的种蛋中CO<sub>2</sub>的水平较低。后者是与低日龄和高日龄种鸡得来的胚胎中不同的甲状腺激素水平有关。储存时间还会影响雏鸡质量以及孵化后的生长情况，但背后的机制尚不明确。

会自然集聚到一定水平，由于在孵化的前10天过分密闭导致CO<sub>2</sub>过高，与正常孵化相比，会导致孵化过程较早开始（De Smit等, 2006; Witters, 2009）。另外，Witters (2009) 还发现CO<sub>2</sub>和肉种鸡日龄之间有显著相互作用。看起来肉种鸡最佳日龄时所产的种蛋在CO<sub>2</sub>浓度适度时能获得更多的利润。

一般来说，根据Van' t Hoff生化反应影响原则，在孵化期的第1周的温度设定会显著影响总的孵化时间。但是，在孵化期的最后一周温度改变，Van' t Hoff的这个原则会不适用，提高孵化温度影响胚胎生理过程取决于温度改变长度、改变幅度和孵化温度改变所处的时期。在我们实验室所进行的试验已经验证了这一假设。当设定温度在入孵第3~14天和/或入孵第14~18天持续（24小时/天）高于或低于标准孵化温度1℃时，可以得到下列关于温度改变的幅度和所处阶段对孵化影响的结果：



- 1、在入孵第3~14天，设定温度高于标准孵化温度会导致出壳过程开始较早，而在入孵第14~18天设定温度高于标准温度高并没有观察到影响。在入孵第3~18天设定温度高于标准温度，与在入孵第3~14天设定温度高于标准温度的结果一样。



## CHICK PROGRAM

- 2、在入孵第3~14天设定温度低于标准温度，会导致出壳过程大幅延迟（20小时），在入孵14~18天设定温度低于标准温度，出壳过程仅有小幅延迟，在入孵第3~18天低于标准温度，延迟幅度会比在入孵第3~14天低于标准温度稍高。
- 3、同时，在孵化期第二阶段升高温度无法恢复在孵化第一阶段低温导致的出壳延迟。另外，在入孵第14~18天降低标准孵化温度会小幅降低在孵化期第一阶段因高温导致的出壳时间大幅前移。

在我们实验室进行其它试验表明，在孵化后期连续仅几天（入孵第16~18.5天）设定的孵化温度高于或低于标准温度，延迟效应会被设定温度与标准温度相差的幅度所加重。高于或低于标准孵化温度2℃会导致3~4小时的延迟。高于或低于3℃，延迟时间会翻三倍，达9~12小时。相反，在同一阶段和同样的温度变化幅度，但每天仅4小时设定温度高于或低于标准温度，出壳过程仅有1~3小时的延迟。

当比较不同基因的肉鸡品系（S、E和L）时，孵化期最短的品系，在内部啄壳时其气室内CO<sub>2</sub>分压最高，且同时伴有较高的皮质酮和T3水平。这给我们带来了雏鸡出壳前内分泌变化的时间表，其在发生在出壳前后不同生理过程中的作用，将会在下章节中详述。但是，种鸡日龄和孵化期之间的关系被蛋重和蛋壳在此参数下的导电率混淆了，因为两者（蛋重和蛋壳导电率）是种鸡日龄的一项特征。Bamelis（2005）对此进行了详细研究。

### 出壳前内分泌变化时间表

雏鸡胚胎为检查内分泌系统个体发育提供了一个独特的系统。集中关注在以下几个方面：

- 1 内分泌腺体的起源，包括个别细胞类型的差异和成熟；
- 2 激素合成与分泌的发展；
- 3 内分泌细胞的获取或对促泌素具有反应能力的腺体；
- 4 调控系统的进化；
- 5 胚胎内特殊的内分泌现象。

由于在本次讨论和主题框架内无法详细处理所有这些方面，我想提到一些关于此主题的Scanes等（1987）、Decuyper等（1986，1990）和Thommes和Woods（1993）所作的综述。人们已经开始利用免疫细胞化学法来研究孵化期间下丘脑和垂体激素最初出现的时间，这在Scanes等（1987）及Thommes和Woods（1993）的综述中进行了广泛的讨论。

必须提及的是，早熟性和晚熟性鸟类之间这些方面存在巨大的差异。早熟性鸟类（如鸡）出生在相对高级的发育阶段，并在早期发育阶段合成脑垂体和其激素。另一方面，晚熟性鸟类（如鸽子），出生在较低级阶段，且其激素合成时间非常晚。

无论何时出现脑垂体激素，但都发生在下丘脑-腺垂体门静脉血管丛（在入孵第12天雏鸡胚胎内建立）建立之前。这种神经内分泌单位和脑垂体反应在发育时间方面成熟不同，因为内分泌轴不同，但雏鸡在出壳前5~6天将会达到功能完整。我们将专注于下一章节，尤其是下丘脑-腺垂体-甲状腺轴和下丘脑-腺垂体-肾上腺轴，因为其在几个破壳前后过程中强大和相互的作用，如卵黄囊的退化、肺成熟、啄壳和出壳，以及体温调节……



## CHICK PROGRAM

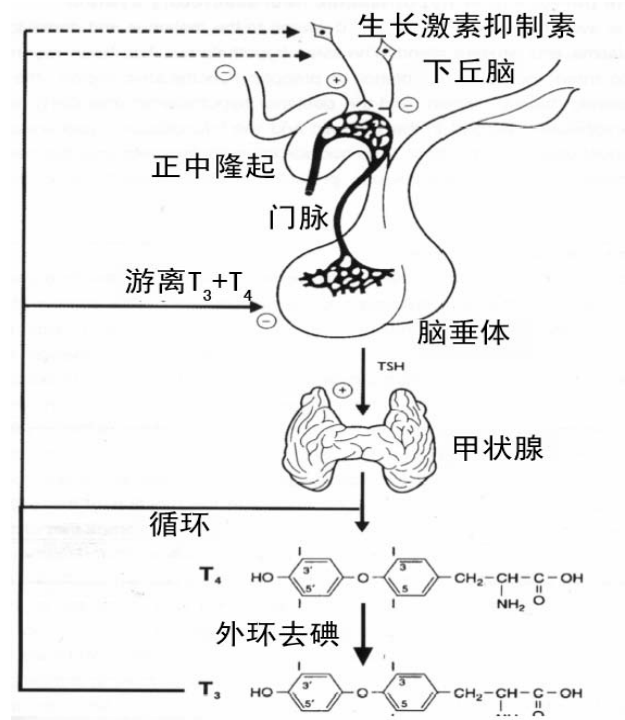
当然，在孵化末期，一些其它激素水平会迅速增长，例如泌乳刺激素、鸟催产素（MT）和精氨酸加压催产素（AVT）：表明在孵化末期，在羊膜吸收过程中可能会发挥的作用和观察到的血细胞比容值有因果关系（Nouwen等，1983）。在孵化期的最后一周，与体内钙平衡有关的激素或因素也在发生变化，如降血钙素、血浆水平和与 $1, 25 (\text{OH})_2$ -维生素 $\text{D}_3$ 结合的植物钙调素，且在这个时候大量的钙会从蛋壳进入胚胎。在本综述的框架内，不会再就这一方面进行进一步的讨论。

### 出壳前后过程中甲状腺激素和肾上腺素的作用

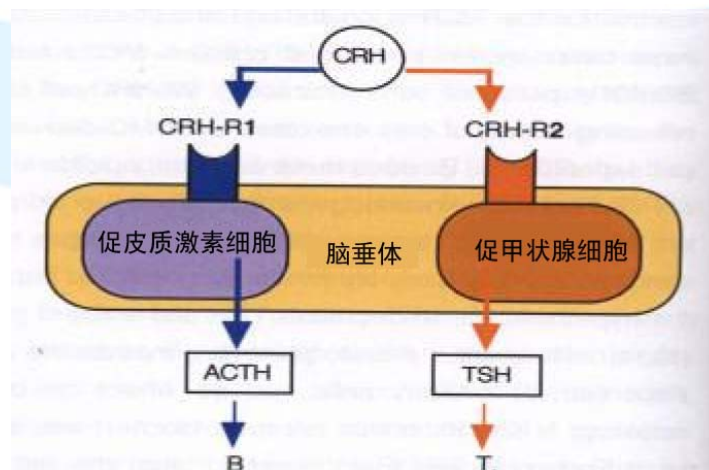
在胚胎发育后期，血浆中 $\text{T}_3$ 浓度会大幅上涨，但比 $\text{T}_4$ 出现增长发生的相当晚，因此， $\text{T}_3/\text{T}_4$ 的比值会升高。这部分上是由于蛋内5-单脱碘酶向5'-单脱碘酶活性的转变，而且更主要的是 $\text{T}_3$ 的降解活性抑制。

确实，在雏鸡胚胎中，同样也会在孵化末期浓度提高的糖皮质激素，会有效通过降低肝脏 $\text{T}_3$ 分解活性提高血浆 $\text{T}_3$ 浓度。这种甲状腺素和肾上腺素轴的相互作用还会延伸到下丘脑-脑垂体轴，因为促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）会诱导糖皮质激素和促甲状腺素（TSH）水平的提高，从而提高了 $\text{T}_4$ 浓度， $\text{T}_4$ 是 $\text{T}_3$ 产生的基础。这是通过蛋内注射CRH、肾上腺皮质激素（ACTH）和地塞米松来阐述的。这种相互作用开始并增强了许多出壳前后的重要生理过程。

### 禽甲状腺轴整体介绍



甲状腺轴的组成。甲状腺素分泌由神经刺激和负反馈调节



雏鸡参与CRH促垂体活性的不同传导途径





## CHICK PROGRAM

糖皮质激素和甲状腺激素也以另一种方式参与了出壳的准备，也就是在肺部增加血液供给，以及雏鸡胚胎肺部表面活性系统的发育。

糖皮质激素触发了表面活性物质磷脂的合成，包括胚胎肺部合成的卵磷脂和双饱和卵磷脂。

一旦雏鸡开始吸气，这些磷脂就会降低肺部的表面张力，从而促进肺部功能（Hylka和Doneen，1982）。这种表面活性系统及其成熟具有一定的可塑性，因为氧气不足大概会通过内源性糖皮质激素导致表面活性系统发育初始和速度的变化。

实际上，氧气不足以及长效外源性皮质类固醇、地塞米松能够促进表面活性磷脂成分的成熟，而如果在关键发育期（入孵第16天）发生缺氧，很可能会促进皮质酮的产生（Blacker等，2004），因为在CO<sub>2</sub>分压增加的情况下，气室还会增加皮质酮水平（Tona等，2003）。

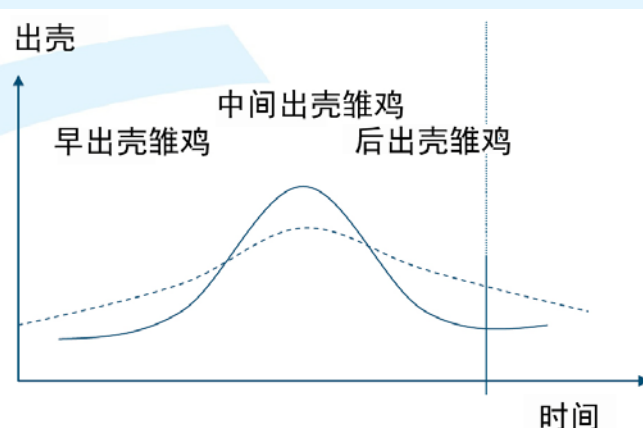
在从出壳前到出壳后的生活中，肺血管阻力会降低，以使血液开始优先流向肺部。这取决于鸟激肽（哺乳动物缓激肽的鸟类对应物质）的浓度，以及促进其合成或降解因素的平衡。甲状腺激素、氧气不足，可能还包括皮质类固醇在导致鸟激肽和肺部血管扩张过程中起到了重要作用（Decuyper et al. 1990）。

我们在本文前一章节中已经提到羊膜液的吸收；确实，在孵化末期，清除侵入呼吸道的液体是开始呼吸的首要条件，在这些胚胎渗透调节过程中，存在一些Pr1、AVT和MT起作用的证据。

在出壳前卵黄囊完全的退化对孵出雏鸡质量以及生存能力也是非常重要的。卵黄囊的退化与甲状腺激素有关（Wishart等1977；Deuyepere等，1982，1990）。

### 不同出壳状况的一些后果

根据出壳曲线的差异，加之出壳顺序的阶段（早期或后期），以及入孵种蛋的质量、存储和种鸡日龄等，出壳和首次饲喂之间的间隔长短不一。这可反映卵黄的吸收利用、胃肠道的发育、代谢水平、免疫系统发育、IgG吸收和整体生长状况，因为所有这些参数都会受到从出壳到首次采食这段时间的影响。





## CHICK PROGRAM

这与某些关键的用于生长的激素水平和酶活性有关，出壳后的采食会明显影响它们，如胰岛素和p70S6激酶活性，是蛋白合成一个限速步骤。

一些报告已经表明，出壳后采食延迟会影响出壳后雏鸡的生产性能，尤其是生长性能（Pinchasov和Noy, 1993; Gonzales等, 2003; Bigot等, 2003）。

但是，其它因素可能会加重采食延迟造成的影响。从我们研究团队得来的最新数据表明，出壳后采食延迟会降低雏鸡的相对生长速度，但在比较在入孵前长时间存储和短时间存储的种蛋孵出的雏鸡时，或在比较早出壳雏鸡和晚出壳雏鸡时，可见协同效应。因此，采食延迟影响的幅度取决于出壳时间的差异，以及在孵化期内出壳时间。这可能与从存储时间或长或短种蛋或早或晚孵出雏鸡的不同内在质量或特性有关，正如各个雏鸡激素水平所展示的那样。对于在孵化期内实际出壳时间，以及孵出雏鸡后来的内在质量，后者可能是一个致命因素。到目前为止，这是一个被之前研究和在孵化生产中所忽视的因素。