



Daar is het laatste ei nog niet over gelegd!

Een onderzoek over het effect van een korte opwarmperiode
op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit

MORSINK, JESSE

Daar is het laatste ei nog niet over gelegd!

Een onderzoek over het effect van een korte opwarmperiode op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit.



Auteur:

Jesse Morsink

3029987@aeres.nl / jesse@broederijmorsink.nl

Opdrachtgever:

Aeres Hogeschool Dronten

De Drieslag 4

8251 JZ Dronten

Broederij Morsink bv.

Bornerbroekseweg 5a

7468RM Enter

Opdrachtbegeleider:

S. Lourens

9-8-2023

*Dit rapport is gemaakt door een student van de Aeres Hogeschool als onderdeel van haar opleiding.
Het is géén officiële publicatie van Aeres Hogeschool. Dit rapport geeft niet de visie of mening
van Aeres Hogeschool weer. Aeres Hogeschool aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor enige
schade voortvloeiend uit het gebruik van de inhoud van dit rapport.*

Voorwoord:

Voor u ligt het onderzoeksrapport naar de effecten van het kort opwarmen van Ross308 broedeieren tijdens de bewaring (SPIDES). Het rapport is geschreven door Jesse Morsink als afstudeerwerkstuk aan de Aeres Hogeschool in Dronten.

Ik wil Bert Morsink bedanken voor het beschikbaar stellen van de broedeieren en alle gebruikte machines en materialen. Tevens wil ik Sander Lourens bedanken voor de begeleiding tijdens het opstellen van dit onderzoeksrapport.

Samenvatting:

In dit onderzoek zijn de effecten van “Short Periods of Incubation during Egg Storage”, ook wel SPIDES genoemd, onderzocht. In het onderzoek is er gekeken naar de effecten zijn van een eenmalige SPIDES behandeling aan het begin van de bewaarperiode, bij een bewaring van 1, 2 en 3 weken op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit van eieren van jonge-, prime-, en oude moederdieren. De onderzoeksvraag van het onderzoek luidt als volgt: Wat zijn de effecten op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit van het eenmalig toepassen van SPIDES tijdens opslag van Ross308 broedeieren, van verschillende leeftijd moederdieren bij een bewaring van 7, 14 en 21 dagen.

Het onderzoek omvatte een totale steekproef met 13.500 eerste klasse broedeieren van 26 weken, 44 weken en 60 weken oude Ross308 moederdieren. Per leeftijd werden er 2.250 broedeieren in 3 uur opgewarmd tot 98 Fahrenheit, de temperatuur waar de eieren vervolgens nog een uur in bewaard werden. Na 4 uur werden de eieren terug geplaatst in de koeling.

Bij het schouwen werden de uitgeselecteerde eieren opgebroken en beoordeeld op onbevruucht en vroege dood. Bij de uitkomst werden de kuikens geselecteerd op 1^e en 2^e soort kuikens. Daarnaast werden de niet uitgekomen eieren opengebroken en beoordeeld op vroege of late dood.

Alle gegevens werden verzameld en geanalyseerd met behulp van het softwareprogramma JASP.

Uit het onderzoek blijkt dat zowel de bewaarperiode, de leeftijd van de moederdieren en de SPIDES behandeling allemaal invloed hebben op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit. Zo blijkt dat de SPIDES methode in alle gevallen een effect heeft op de embryonale sterfte. Bij een bewaarperiode van 1 week is het verschil echter niet groot genoeg voor een significant verschil. Bij een bewaarperiode van 2 en 3 weken resulteert de SPIDES methode wel in een significant lager embryonale sterfte dan de controle groep. De beste resultaten werden gehaald bij een bewaring van 1 week en een SPIDES behandeling.

Hoewel er een trend is waargenomen met betrekking tot de kuikenkwaliteit en SPIDES behandeling, is het verschil niet significant. Echter is bij het samenvoegen van de gegevens van verschillende leeftijden moederdieren, is de steekproef groot genoeg om bij een bewaarperiode van 3 weken in een significant verschil te resulteren. Dit zorgt ervoor dat 3 weken bewaring en een SPIDES behandeling resulteert in meer 1^e soort kuikens en minder 2^e soort kuikens dan bij de controle groep zonder SPIDES behandeling.

Ook is gebleken dat de leeftijd van de moederdieren blijkt geen enkele rol te spelen bij de effecten van SPIDES.

Het onderzoek benadrukte dat het beter is om eieren binnen een week na de productie datum worden ingelegd voor het broedproces. Mocht dit niet kunnen is SPIDES een waardevolle methode om de embryonale sterfte te beperken.

Verder onderzoek met grotere steekproefgroottes en meer gedetailleerde analyses, zoals het bestuderen van specifieke kenmerken van 2^e soort kuikens, zou kunnen bijdragen aan de kennis van de effecten van SPIDES behandelingen op de kuikenkwaliteit.

Summary

In this study the effects of "Short Periods of Incubation during Egg Storage" (SPIDES) were investigated. The research looked at the effects of a single SPIDES treatment at the beginning of the for 1, 2 and 3-week storage period on the embryonic mortality and chick quality of eggs from young, prime, and old parent stock. The research question of the study is as follows: What are the effects on embryonic mortality and chick quality of a single application of SPIDES during storage of Ross308 hatching eggs, of different age parent stock, with a storage of 7, 14 and 21 days.

The study involved a total sample of 13,500 first-class broiler eggs from 26 week, 44 week, and 60 week old Ross308 parent stock. For each age group, 2,250 broiler eggs were warmed up to 98 Fahrenheit within 3 hours and then kept at that temperature for one hour before being returned to the cooling unit after 4 hours. During candling, the selected eggs were cracked open and examined for unfertilized eggs and early mortality. During hatching, the chicks were sorted into first and second-grade categories. Additionally, unhatched eggs were opened and assessed for early or late mortality.

All data were collected and analyzed using statistical software JASP.

The findings revealed that the storage period, the age of the mother hens, and the SPIDES treatment had an impact on embryonic mortality and chick quality. The SPIDES method demonstrated an effect on embryonic mortality in all cases. For a 1 week storage period, the difference was not significant enough. For 2 and 3-week storage periods, the SPIDES treatment resulted in a significantly lower embryonic mortality compared to the control group. The best results were observed with a 1-week storage period and SPIDES treatment.

Although a trend was observed regarding chick quality and the SPIDES treatment, the difference was not significant. However, when the data from different age groups of mother hens were combined, the sample size was big enough to result in a significant difference after a 3-week storage period. This indicated that 3 weeks of storage with SPIDES treatment result in more first-grade chicks and fewer second-grade chicks compared to the control group without SPIDES treatment.

The age of the parent stock did not play a significant role in the effects of SPIDES.

The study emphasized that it is preferable to incubate eggs within one week of laying for the breeding process. If this is not possible, SPIDES is a valuable method for reducing embryonic mortality.

Further research with larger sample sizes and more detailed analyses, such as studying specific on second-grade chicks, could contribute to our understanding of the effects of SPIDES treatments on chick quality.

INHOUD

1.	Inleiding	6
	Ontwikkeling tijdens de opslagperiode	6
	Keren tijdens opslag	7
	Verandering in luchtsamenstelling	7
	Pre-incubatie	7
	Kort opwarmen van broedeieren voor bewaarperiode (SPIDES).	8
	Knowledge gap	8
1.2.	Hoofdvraag	9
	Deelvraag 1:	9
	Deelvraag 2:	9
	Deelvraag 3:	9
1.3.	Doelstelling	9
2.	Materiaal en methode	10
	Verzameling broedeieren	10
	Onderzoekopzet	10
	Opslag en SPIDES methode	10
	Voorbroedperiode	11
	Uitkomst periode en kuikenbeoordeling	11
	Data analyse	12
3.	Resultaten	13
3.1.	Effecten van SPIDES op embryonale sterfte bij bewaring van 1, 2 en 3 weken.	14
3.2.	De effecten van SPIDES op de kuikenkwaliteit bij 1, 2 en 3 weken	17
3.3.	De effecten van SPIDES op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit tussen eieren van 26, 44 en 60 weken oude moederdieren	20
4.	Discussie	21
4.1.	Reflectie op de methode	21
4.2.	Reflectie op de resultaten	22
5.	Conclusie en aanbevelingen	23
5.1.	Conclusie	23
5.2.	Aanbevelingen	23
	Bronnenlijst	24
	Bijlage 1 Onderzoekopzet	27
	Bijlage 2 Broedprogramma	28

1. INLEIDING

De agrarische sector bestaat uit verschillende deelsectoren waaronder ook de pluimveehouderij. De pluimveehouderij bestaat ook weer uit verschillende deelsectoren, waarvan de vleeskuiken en leghensector de grootste zijn (De Wit & Van den Beukel, 2019).

In 2020 werden in Nederland tussen de 580 miljoen tot 670 miljoen vleeskuikens geboren, waarvan 36% van de kuikens werd geëxporteerd naar het buitenland. De vleeskuikensector in Nederland bestaat uit 10 vleeskuikenbroederijen die samen 14 broedlocaties hebben. Naast de vleeskuikenbroederijen bestaan er in Nederland ook nog 5 leghenbroederijen die samen 35 tot 40 miljoen leghenkuikens produceren (Berkhout et al., 2022). Om deze kuikens op het juiste moment en met het juiste aantal te laten uitkomen, is het van essentieel belang dat de broederijen een goede broedeiplanning hebben, zodat ze altijd voldoende broedeieren inleggen met een zo hoog mogelijk bevruchtingspercentage (Narinc an Aydemir, 2021). Wanneer de broedeieren langer dan 7 dagen bewaard worden zal er een hogere embryonale sterfte zijn met als gevolg een lagere uitkomst (Fasenko, 2007).

Vanwege de verschillende factoren blijven broedeieren wel eens langer bewaard dan 7 dagen. Hierdoor is het voor Broederij Morsink maar ook voor andere broederijen van belang om te weten hoe broedeieren het beste bewaard kunnen worden om de embryonale sterfte tot een minimum te beperken.

Er zijn veel verschillende pluimveesoorten op de wereld. Zo zijn er leghennen, vleeskuikens, eenden, kalkoenen etc. Elk pluimveesoort heeft haar eigen specificaties. Dit onderzoek richt zich op de bewaring van broedeieren die gelegd zijn door vleeskuikenmoederdieren.

Nadat broedeieren door de hennen in de stal zijn gelegd worden deze eerst verzameld en opgeslagen op het pluimveebedrijf. Na enkele dagen worden de broedeieren getransporteerd naar de broederij. De duur van opslag in de broederij is sterk afhankelijk van het aanbod van broedeieren en de vraag naar kuikens. Commerciële broederijen proberen de broedeieren binnen 3 tot 5 dagen na binnenkomst in de broedmachine te plaatsen. Op deze manier worden de nadelige effecten van langdurige bewaring tot het minimum beperkt (Reijrink, 2010). In sommige gevallen en om verschillende redenen moeten broedeieren langer blijven staan voordat deze kunnen worden ingelegd (Graumans, 2014). Wanneer de eieren langer blijven staan geeft dit gemiddeld een verminderde uitkomst van 0,2% per dag tot 7 dagen bewaartijd. Van dag 7 tot dag 14 verminderd per dag het uitkomstpercentage met 0,5% (Yassin, et al., 2008).

ONTWIKKELING TIJDENS DE OPSLAGPERIODE

Broedeieren worden opgeslagen onder een temperatuur van 27°C waarbij er geen morfologische ontwikkelingen in het ei plaats vinden (Funk en Biellier, 1944). Edwards (1902) definieerde het fysiologische nulpunt op 21°C voor broedeieren, waardoor er in de meeste gangbare broederijen een temperatuur rond de 18°C wordt aan gehouden. Naast Celsius is Fahrenheit ook een veel gebruikte eenheid (Lohmann, 2018). Fahrenheit wordt berekend door de volgende formule: $^{\circ}\text{C} \times 1,8 + 32$.

Wel vinden er andere activiteiten plaats in het ei, het albumine verliest onder andere vocht aan de dooier (Özlu, et al. 2018). Tevens verliezen broedeieren gedurende de opslagperiode gewicht. Dit gewichtsverlies wordt veroorzaakt doordat het albumine vocht in de vorm van gas verliest door verdamping. Het percentage vocht wat verloren gaat, ligt voornamelijk aan het verschil in luchtvochtigheid van het ei en van de omgeving waarin het is opgeslagen. Ook heeft de weerstand van de eischaal met de hoeveelheid vochtverlies te maken. Zo hebben eieren van oudere moederdieren een hogere gewichtsafname dan eieren van jonge moederdieren (Meijerhof, 1994). Scott en Silversides (2000) rapporteerden een afname van het albuminegewicht van 1.49 gram en

dooier een toename van 0.9 gram bij een opslag van 10 dagen. De schaalgewichten van de eieren werden in dit onderzoek niet beïnvloed door de opslagduur. Nasri et al. (2020) kwam tot de conclusie dat het albuminegewicht van eieren van oudere moederdieren sneller afneemt dan van jongere moederdieren.

Een andere grote verandering van het ei tijdens de opslag is de pH-waarde van het eiwit. Een vers gelegd ei heeft een pH-waarde van ongeveer 7.6. Naarmate het ei ouder wordt, wordt het eiwit dunner en verliest het vocht en daarmee ook CO₂, wat resulteert in een toename van de pH-waarde (Oliveira en Oliveira, 2013). De pH-waarde loopt op na enkele dagen op naar een waarde van ongeveer 9.5 (Lapao, et al. 1999).

Door al de verschillende veranderingen in en buiten het ei is het lastig te zeggen welke veranderingen de negatieve effecten veroorzaken bij een langere opslag. De negatieve effecten kunnen worden veroorzaakt door een afname van de levensvatbaarheid van het embryo met als gevolg een toename van de celdood (Reijrink, 2010).

KEREN TIJDENS OPSLAG

In 2008 kwamen Elibol en Brake (2008) tot de conclusie dat het keren van de broedeieren tijdens de opslag van 14 dagen lang, een positief effect heeft op het uitkomstpercentage. Door het keren van de eieren blijft de dooier met daarin het embryo in het midden van het ei. Tevens heeft een verhoogde draaifrequentie van 96 keer per dag ten opzichte van 24 keer per dag in het daarop volgend broedproces een positief effect. Deze twee toevoegingen leverde samen een significante toename van de uitkomst van 4.9% ten opzichte van de controle groep.

VERANDERING IN LUCHTSAMENSTELLING

Het zuurstofarm vacuüm verpakken van broedeieren door met stikstof het zuurstof te verdrijven heeft geen positieve effecten op de embryonale sterfte bij lang opgeslagen broedeieren (Proudfoot, 1966). Bij het onderzoek van Reijrink (2010) is gekeken naar de opslag van eieren onder verschillende bewaarcondities. Zo werden er 3 verschillende behandelingen toegepast met een verhoogd CO₂ en een behandeling met een verlaagd O₂ in de bewaarruimte. De behandeling bij 1,5% CO₂ gaven geen verbetering in uitkomsten maar wel bleef hierbij de pH-waarde van het eiwit op het zelfde niveau. Dit zou kunnen betekenen dat het verhogen van de pH-waarde in de albumine geen negatief effect heeft op de uitkomst. Ook heeft het verlagen van de O₂ concentratie geen effect gehad op de uitkomsten (Reijrink, 2010).

PRE-INCUBATIE

Normaal worden broedeieren in broedkast in ongeveer 4 uur opgewarmd naar 37,8 °C. Het verlengen van deze 4 uur naar een langere periode wordt ook wel pre-incubatie genoemd. Een langere pre-incubatie van 24 uur resulteert in een lagere embryonale sterfte bij een opslagtijd van 14 dagen. Deze effecten zijn bij een opslagtijd van 4 dagen niet te zien (Reijrink, et al. 2010).

In een later onderzoek blijkt dat bij een opslagperiode van 11 dagen al helpt om pre-incubatie van de broedeieren op 29,4 °C voor 8 uur lang toe te passen. Deze voorverwarmde eieren hebben een kortere hatchwindow en een hogere uniformiteit bij uitkomst (Özlü, 2021).

KORT OPWARMEN VAN BROEDEIEREN VOOR BEWAARPERIODE (SPIDES).

Wanneer een ei wordt gelegd bestaat het uit 40-60.000 cellen (stadium X). Er bestaat een optimaal aantal cellen waarbij de kans op het overleven van de bewaarperiode het hoogst is. Een stadium ervoor of erna is dat niet. Fasenko (2007) vond dat veel embryo's voor dit stadium zaten en er bij gebaad waren om iets verder door te ontwikkelen voordat de eieren de bewaarperiode in gaan.

Door broedeieren een korte tijd van 4 uur te broeden op 37.5°C gedurende de opslag, ontstaan er positieve effecten op de uitkomst. (Dymond, et al. 2013). In dit onderzoek komt naar voren dat de effecten van een lange opslag van 21 dagen kunnen worden beperkt door de broedeieren gedurende deze periode 4 keer kort op te warmen. Tevens werd ook gesignaleerd dat de uniformiteit van de uitgekomen kuikens beter is. In 2013 kwam Nicholson et al. (2013), van de vleeskuikenfokkerij Aviagen, tot de conclusie dat een korte incubatietijd tijdens opslag tot wel 60-70% van de verloren uitkomst kan herstellen. In dit onderzoek heeft Aviagen, het kort opwarmen van de broedeieren gedurende de bewaarperiode de naam SPIDES gegeven. SPIDES staat in het Engels voor "Short Periods of Incubation during Egg Storage" en wordt in latere onderzoeken veelvuldig gebruikt. Het onderzoek van Gharib, (2013) kwam tot de conclusie dat een SPIDES behandeling gunstig kan zijn bij een bewaarperiode van minimaal 7 dagen.

Ook Okasha et al. (2023) kwamen tot dezelfde conclusie. In hun onderzoek werd vastgesteld dat de beste uitkomst en kuikenkwaliteit werd waargenomen, bij een bewaartijd van 5 dagen en met een enkele SPIDES behandeling. Dit onderzoek concludeert tevens dat SPIDES in de meeste gevallen positief is.

KNOWLEDGE GAP

Wat in meerdere onderzoeken inmiddels bevestigd is, is dat het opwarmen van broedeieren bij een lange bewaartijd gunstig kan zijn voor de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit. In de meeste onderzoeken werden er bij de broedeieren meerdere keren SPIDES toegepast. Zo paste Dymond et al. (2013) vier keer SPIDES toe tijdens de opslag van 21 dagen met een interval van 4 tot 5 dagen.

In het onderzoek van Abdel-Halim Et al. (2015) werden de eieren elke 3 dagen twee uur lang verwarmd.

Okasha et al. (2023) heeft tevens een vergelijkbaar onderzoek uitgevoerd waarbij de broedeieren eenmalig werden opgewarmd. Dit onderzoek bevestigde dat SPIDES van broedeieren een haalbare optie is. Alleen werd in dit onderzoek alleen gebruik gemaakt van eieren van moederdieren met een leeftijd van 45 weken.

Men weet heel veel van het SPIDES van broedeieren. Toch zijn er verschillende dingen niet of in mindere mate bekend. Zo is niet bekend of eenmalig SPIDES ook effect heeft en of de effecten afhankelijk zijn van een bepaalde leeftijd moederdieren.

1.2. HOOFDVRAAG

Wat zijn de effecten op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit van het eenmalig toepassen van SPIDES tijdens opslag van Ross308 broedeieren, van verschillende leeftijd moederdieren bij een bewaring van 7, 14 en 21 dagen?

DEELVRAAG 1:

Wat zijn de effecten van SPIDES op de embryonale sterfte van Ross308 broedeieren bij een broedeibewaring van 7, 14 en 21 dagen.

DEELVRAAG 2:

Wat zijn de effecten van SPIDES op de kuikenkwaliteit bij uitkomst van Ross308 broedeieren en bij een broedeibewaring van 7, 14 en 21 dagen.

DEELVRAAG 3:

Wat zijn de effecten van SPIDES op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit tussen eieren van 26, 44 en 60 weken oude moederdieren?

1.3. DOELSTELLING

Een langere opslag van broedeieren zorgt voor een verhoogde embryonale sterfte. Het doel van het onderzoek is om te kijken wat de effecten zijn van eenmalig SPIDES tijdens de opslag van broedeieren van verschillende leeftijd moederdieren op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit. Voor een broederij is het van belang om te weten hoe zij het beste om kan gaan met een lange bewaarduur van broedeieren omdat een lange bewaarduur in sommige gevallen noodzakelijk is.

De verwachting is dat SPIDES geen effecten heeft bij een opslagduur van 7 dagen. Er wordt wel een positief effect verwacht op de embryonale sterfte bij de opslagduur van 21 dagen. Het effect na 3 weken bewaring wordt bij eieren van oudere moederdieren hoger verwacht dan eieren van jongere moederdieren.

2. MATERIAAL EN METHODE

Dit onderzoek werd uitgevoerd met Ross308 broedeieren in de broederij van Broederij Morsink. Deze broederij van de familie Morsink bevindt zich aan de Bornerbroekseweg 5a in Enter. Het onderzoek vindt plaats in de periode van 14-5-2023 tot 26-6-2023. De meeste werkzaamheden zijn uitgevoerd door de auteur van dit rapport, met daarbij hulp van het personeel van Broederij Morsink. Dit betreft een kwantitatief onderzoek.

VERZAMELING BROEDEIEREN

De eieren werden verzameld van 3 verschillende vermeerderingsbedrijven (VB-koppels) in een straal van 30 km rondom de broederij. De broedeieren werden een dag opgeslagen op het vermeerderingsbedrijf waarna deze rechtstreeks in een geconditioneerde oplegger naar de broederij werden getransporteerd.

Elk VB-bedrijf heeft een andere leeftijd moederdieren, management en voerleverancier.

- VB2356 met leeftijd van 26 weken en De Heus voer.
- VB3839 met leeftijd van 44 weken en Fuite voer.
- VB6270 met leeftijd van 60 weken en For Farmers voer.

ONDERZOEKSOPZET

In het onderzoek zijn 13.500 eerste soort broedeieren gebruikt, afkomstig van 3 verschillende vb-koppels zoals hierboven is uitgewerkt. Van elk bedrijf werden 30 broedlades met in totaal 4.500 broedeieren verzameld. Van elk VB-koppel werden bij 15 broedlades met totaal 2.250 broedeieren SPIDES toegepast. Vervolgens werd er na 1, 2 en 3 weken bewaring 4.500 broedeieren ingelegd. Elke inleg bestaat uit 10 broedlades per VB-koppel waarvan bij 5 broedlades SPIDES is toegevoegd. Elke broedlade werd individueel genummerd en is een experimentele eenheid. De broedlades werden willekeurig verspreid over de voorbroedkar. In tabel 1 is een kort overzicht van elke week inleg te zien. In bijlage 1 is de uitgebreide onderzoeksopzet opgenomen.

Tabel 1: Overzicht wekelijkse inleg

1e inleg na 1 week bewaring			2e inleg na 2 weken bewaring			3e inleg na 3 weken bewaring		
La/bak nummer	vb nummer	behandeling	La/bak nummer	vb nummer	behandeling	La/bak nummer	vb nummer	behandeling
1 t/m 5	vb 2356	spides	6 t/m 10	vb 2356	spides	11 t/m 15	vb 2356	spides
16 t/m 20	vb 2356	geen behandeling	21 t/m 25	vb 2356	geen behandeling	26 t/m 30	vb 2356	geen behandeling
31 t/m 35	vb 3839	spides	36 t/m 40	vb 3839	spides	41 t/m 45	vb 3839	spides
46 t/m 50	vb 3839	geen behandeling	51 t/m 55	vb 3839	geen behandeling	56 t/m 60	vb 3839	geen behandeling
61 t/m 65	vb 6270	spides	66 t/m 70	vb 6270	spides	71 t/m 75	vb 6270	spides
76 t/m 80	vb 6270	geen behandeling	81 t/m 85	vb 6270	geen behandeling	86 t/m 90	vb 6270	geen behandeling

OPSLAG EN SPIDES METHODE

De broedeieren werden opgeslagen in een geconditioneerde ruimte van 17.5 °C en een relatieve luchtvochtigheid van 75%. De broedeieren werden horizontaal met de punt naar beneden op broedlades van 150 eieren per broedlade bewaard.

Bij de helft van de broedeieren werd SPIDES na 3 dagen bewaring toegepast. De broedeieren werden eerst een uur lang bewaard in de voorbroedruimte op 26°C. Vervolgens werden de eieren in een broedmachine, van de fabrikant Petersime en het type Biostreamer Iris s, geplaatst. De eieren werden in een tijdsbestek van 3 uur opgewarmd naar een eischaaftertemperatuur van 98 Fahrenheit. Aan de hand van Petersime Ovoscanner werd de eischaaftertemperatuur gemonitord. Na het bereiken van 98 Fahrenheit werden de eieren nog 1 uur lang op deze temperatuur gebroed. Vervolgens werden de eieren een uur lang bewaard in het voorbroed lokaal waarna ze terug werden geplaatst naar de koeling. In de koeling koelde de eieren verder terug naar 17.5°C.

VOORBROEDPERIODE

De broedeieren werden samen met andere broedeieren in een Biostreamer Iris s van fabrikant Petersime uitgebroed. De broedmachine werd gestuurd op de omgevingstemperatuur in de broedkast. De verse luchtklep werd gestuurd op het CO₂ gehalte in de broedkast. Het uitgebreide broedprogramma is opgenomen in bijlage 2.

De broedeieren werden 6 uur voor de start van het broedproces ontsmet met formaldehyde en in het voorbroedlokaal op 26°C geplaatst. 3 uur voor het broedproces werden de broedeieren voor verwarmd op 80 Fahrenheit. Na 2 dagen broedproces werden de broedmachines gekalibreerd aan de hand van een extern kalibratietool van Petersime.

De broedeieren werden na 18 dagen geschouwd met een Innovatec schouwmachine. De schouwmachine schouwt de eieren aan de hand van lichtsensoren. Tevens plaatst deze machine de bevruchte broedeieren over in uitkomstbakken. Alle broedlades werden afzonderlijk geschouwd. De nummers van de broedlades werden exact overgenomen naar de uitkomstbakken.

De onbevruchte eieren werden open gebroken en macroscopisch beoordeeld op onbevrucht en vroege dood (0-7 dagen). Doordat de schouwmachine niet 100% accuraat is zal het voorkomen dat onbevruchte of afgestorven embryo's werden gezien als ontwikkelde embryo's.

UITKOMST PERIODE EN KUIKENBEOORDELING

De bevruchte broedeieren werden overgeplaatst in een 4 karren Biostreamer 4H OX van fabrikant Petersime. Deze broedmachine werd computer gestuurd en reageert op de luchtvochtigheid in de broedkast. Wanneer de machine een verhoogd percentage luchtvochtigheid meet, signaleert hij het uitkomen van de kuikens.

Na 21 dagen en 12 uur werden de kuikens uit de uitkomstkasten gehaald en geselecteerd. Alle uitkomstbakken werden apart geselecteerd en macroscopisch beoordeeld op 1^e en 2^e soort kuikens volgens de aanpak van Tona et al. (2003). De niet uitgekomen eieren werden opengebroken en beoordeeld op vroege (0-7 dagen) of late (8-21 dagen) dood. De parameters voor de kuikenkwaliteit zijn te zien in tabel 2.

Tabel 2. Verschillende parameters voor kuikenkwaliteit

Parameters	Beoordeling
Activiteit	De activiteit wordt beoordeeld door een kuiken op zijn rug te leggen om te bepalen hoe snel het weer overeind komt. Binnen 2 seconden weer op de pootjes is een goed kuiken. Langzaam of blijven liggen is een zwak kuiken.
Dons	Een droog en schoon kuiken is een goed kuiken. Nat of vuil is een 2 ^e soort kuiken.
Dooier	Door het kuiken in de handpalm te leggen en de buik te voelen wordt er geschat of de dooier volledig is opgenomen. Een kuiken met een aanzienlijk harder en dikkere buik is een 2 ^e soort kuiken.
Navel	Tijdens het controleren van de dooierrest wordt ook gekeken of de navel van het kuiken goed is gesloten. Kuikens met een open navel is een 2 ^e soort kuiken.
Ogen	Kuikens met heldere en open ogen zijn 1 ^e soort kuikens. Kuikens met een dof oog is een 2 ^e soort kuiken.
Poten	Kuikens worden recht op de poten gezet. Wanneer het kuiken wankelt of omvalt wordt het beoordeeld als 2 ^e soort kuiken.

DATA ANALYSE

Alle gegevens van het schouwen en de kuikenselectie werden per broedlade/uitkomst bak in Microsoft Excel genoteerd. Alle onbruikbare data door kapotte eieren of lege posities in de broedlades werden uitgesloten. Deze gegevens werden aan de hand van de Anova toets geanalyseerd op een betrouwbaarheid van 95%. Anova is voor dit onderzoek het meest geschikt omdat het hiermee mogelijk is om 2 of meerdere groepen onderling met elkaar te vergelijken. De Anova toets werd uitgevoerd door het programma JASP. Op deze manier kan een mogelijk significant verschil worden aangetoond tussen de verschillende groepen.

Er werd aan de hand van JASP gekeken of eenmalig SPIDES resulteert in significant minder embryonale sterfte en significant meer 1e kwaliteit kuikens na 1, 2 en/of 3 weken bewaring.

Tevens werd er gekeken of er statistische verschillen in embryonale sterfte of 1^e kwaliteit kuikens aangetoond kunnen worden tussen eieren van 26, 44 en 60 weken oude moederdieren.

3. RESULTATEN

Het doel van het onderzoek is om te kijken welke effecten eenmalig SPIDES voor de bewaarperiode op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit van eieren van moederdieren met een leeftijd van 26, 44 en 60 weken en een bewaring van 1, 2 en 3 weken

In tabel 3 zijn de verschillende effecten van de leeftijd moederdieren, behandeling van broedeieren en de bewaarperiode op de broedresultaten te zien. Bij een P-waarde lager dan 0,05 is er een significant verschil waar te nemen.

Er is een duidelijk een significant verschil waar te nemen van leeftijd moederdieren op alle hoofdeffecten. Ook het langer bewaren van broedeieren geeft een significant verschil waarbij de sterfte gedurende de bewaring oploopt en de 1^e soort kuikens terug loopt. Een langere bewaring of de toepassing van SPIDES levert geen significant verschil op in het % bevruchte van 1^e klas broedeieren.

De effecten van SPIDES zijn voor de vroege afsterving en de 1^e en 2^e soort kuikens significant beter dan de controle eieren. Omdat het onderzoek zich hierop richt worden deze effecten verder uitgewerkt per week bewaring en de verschillende leeftijden van de moederdieren.

Tabel 3: Hoofdeffecten van leeftijd moederdieren (jong, prime of oud), behandeling van de broedeieren voor het broedproces (SPIDES of controle) en bewaarperiode (1, 2 en 3 weken) op broedresultaten.

	Bevrucht ¹	Vroege afsterving ²	Late afsterving ²	Eerste soort kuikens ²	Tweede soort kuikens ²
<i>Leeftijd moederdieren</i>					
<i>Jong (26 wkn)</i>	90,9 ^b	16,9 ^{ab}	2,9 ^a	74,8 ^b	5,3 ^a
<i>Prime (44 wkn)</i>	97,8 ^a	9,3 ^b	1,5 ^b	86,6 ^a	2,6 ^b
<i>Oud (60 wkn)</i>	89,2 ^c	25,2 ^a	3,1 ^a	76,5 ^b	4,2 ^{ab}
<i>Behandeling</i>					
<i>SPIDES</i>	92,9 ^{ab}	12,2 ^b	2,5 ^{ab}	82,1 ^a	3,2 ^b
<i>Controle</i>	92,4 ^{ab}	22,1 ^a	2,5 ^{ab}	70,5 ^b	4,9 ^a
<i>Bewaren</i>					
<i>1 week</i>	93,1 ^a	7,1 ^b	2,2 ^b	88,3 ^a	2,4 ^b
<i>2 weken</i>	92,3 ^a	11,7 ^b	1,3 ^b	81,6 ^a	5,4 ^a
<i>3 weken</i>	92,6 ^a	32,7 ^a	4,0 ^a	59,0 ^b	4,3 ^a
<i>P-waarden</i>					
<i>Leeftijd ouderdieren</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,005
<i>Behandeling</i>	0,580	0,003	0,960	0,002	0,014
<i>Bewaren</i>	0,812	<0,001	<0,001	<0,001	0,001

¹als percentage van de ingelegde broedeieren

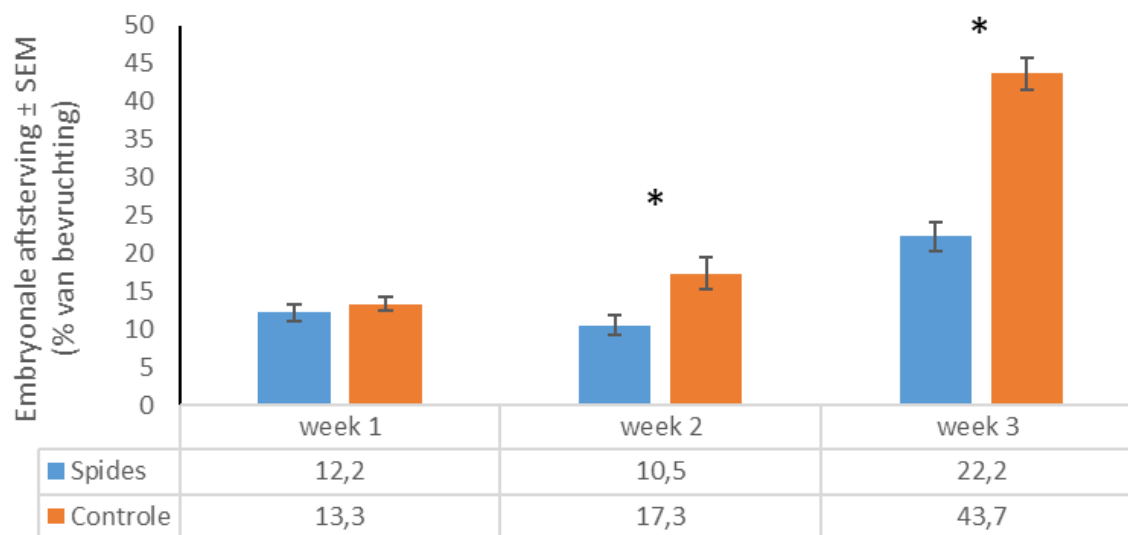
²als percentage van de bevruchte broedeieren

a en b geven de significante verschillen bij p<0,05 aan

3.1. EFFECTEN VAN SPIDES OP EMBRYONALE STERFTE BIJ BEWARING VAN 1, 2 EN 3 WEKEN.

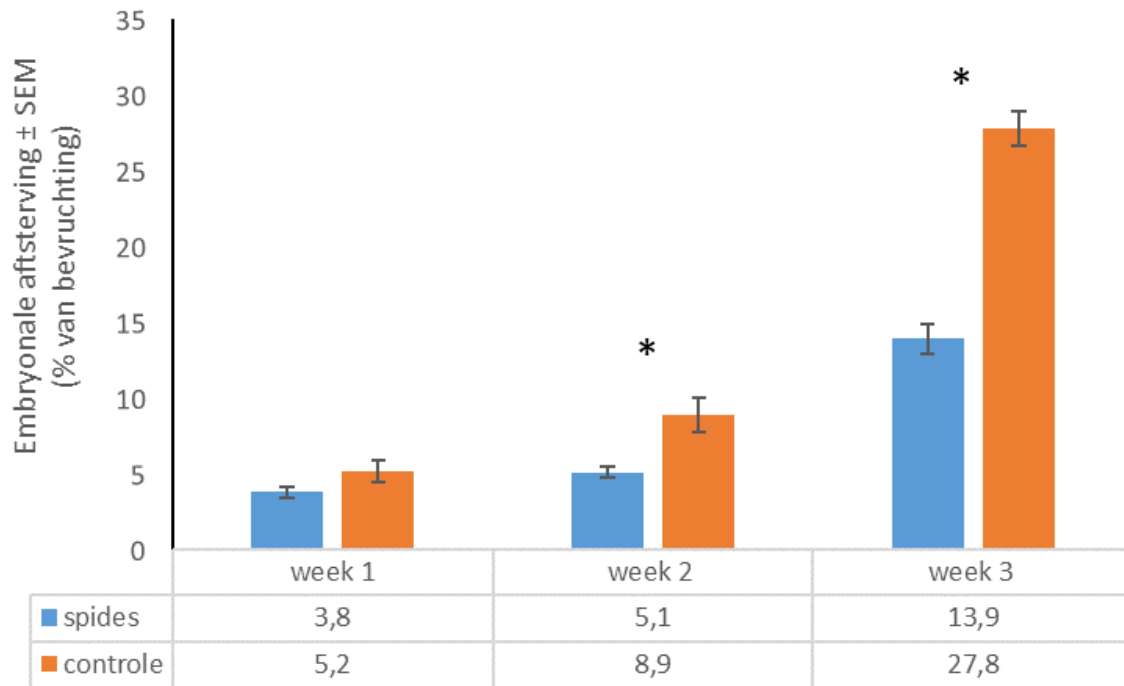
In figuur 1 is de embryonale sterfte van broedeieren te zien van jonge moederdieren met de leeftijd van 26 weken. Te zien is dat er vanaf de eerste week een verschil is. Vanaf twee weken bewaring is het verschil significant. * betekent een significant verschil ($P < 0,5$).

Figuur 1. Embryonale sterfte als % van bevruchte eieren en SEM van moederdieren van 26 weken leeftijd



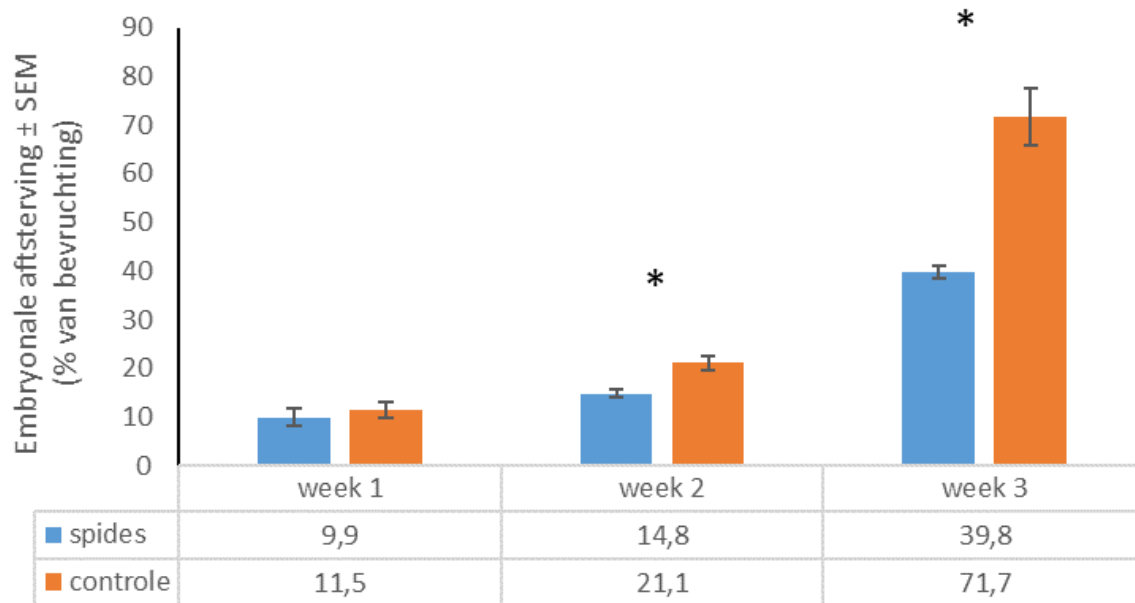
In figuur 2 is het percentage embryonale sterfte van bevruchte eieren van moederdieren met een leeftijd van 44 weken te zien. Er is vanaf de eerste week bewaring al een verschil van 1,4% sterfte te zien. Dit verschil is niet voldoende voor een significant verschil. Na de tweede en derde week bewaring loopt de sterfte van de controle groep nog verder op ten opzichte van de eieren die een SPIDES behandeling hebben gehad. Na 3 weken bewaring hebben de eieren waarbij SPIDES behandeling is toegepast een halvering in het percentage sterfte ten opzichte van eieren zonder SPIDES behandeling. Vanaf twee weken bewaren is het verschil significant. * betekent een significant verschil ($P < 0,05$).

Figuur 2. Embryonale sterfte als % van bevruchte eieren en SEM van moederdieren van 44 weken leeftijd



In figuur 3 is het percentage sterfte te zien van bevruchte eieren van moederdieren van een leeftijd van 60 weken. Ook bij deze leeftijd is de zelfde trend te zien waarbij na elke week extra bewaring de verschillen verder uit elkaar lopen. Bij een bewaring van 3 weken loopt de sterfte zonder SPIDES behandeling op naar 71,7%. Bij week 1 is er een verschil van 1,6% tussen beide groepen, dit resulteert nog niet in een significant verschil. Als broedeieren langer dan 2 weken worden bewaard, leidt de toepassing van SPIDES tot significant minder embryonale sterfte. * betekent een significant verschil ($P < 0,5$).

Figuur 3. Embryonale sterfte als % van bevruchte eieren en SEM van moederdieren van 60 weken leeftijd

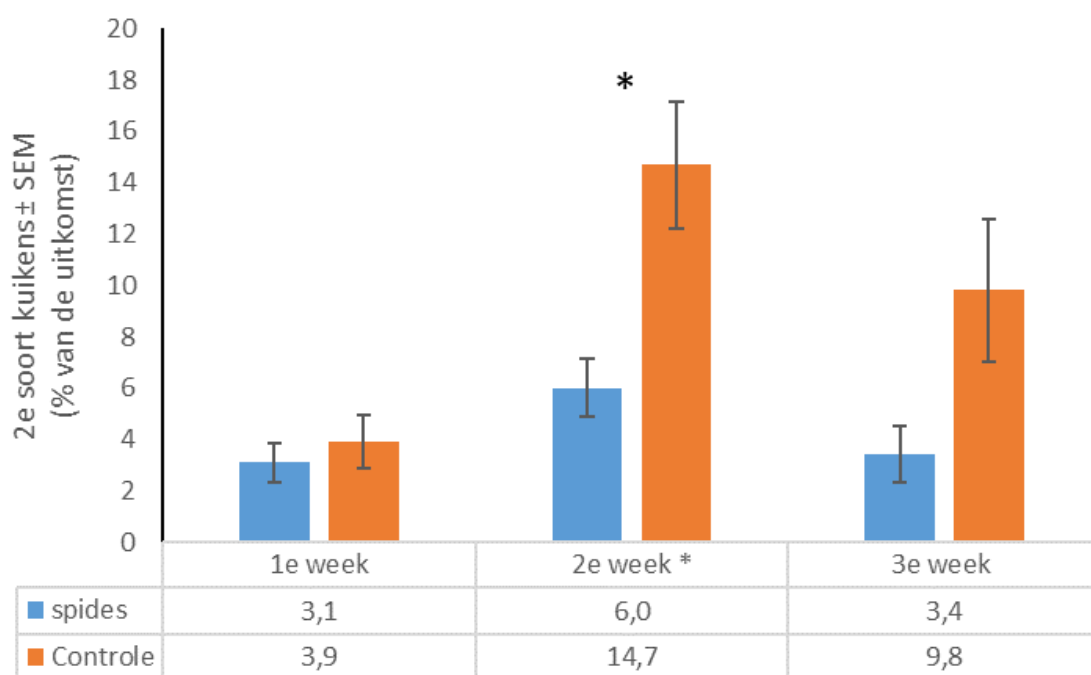


3.2. DE EFFECTEN VAN SPIDES OP DE KUIKENKWALITEIT BIJ 1, 2 EN 3 WEKEN

Om de effecten op de kuikenkwaliteit goed te analyseren, is het percentage 2^e soort kuikens per leeftijd van de moederdieren uitgewerkt. In de grafieken is het percentage 2^e soort kuikens van de uitgekomen kuikens te zien.

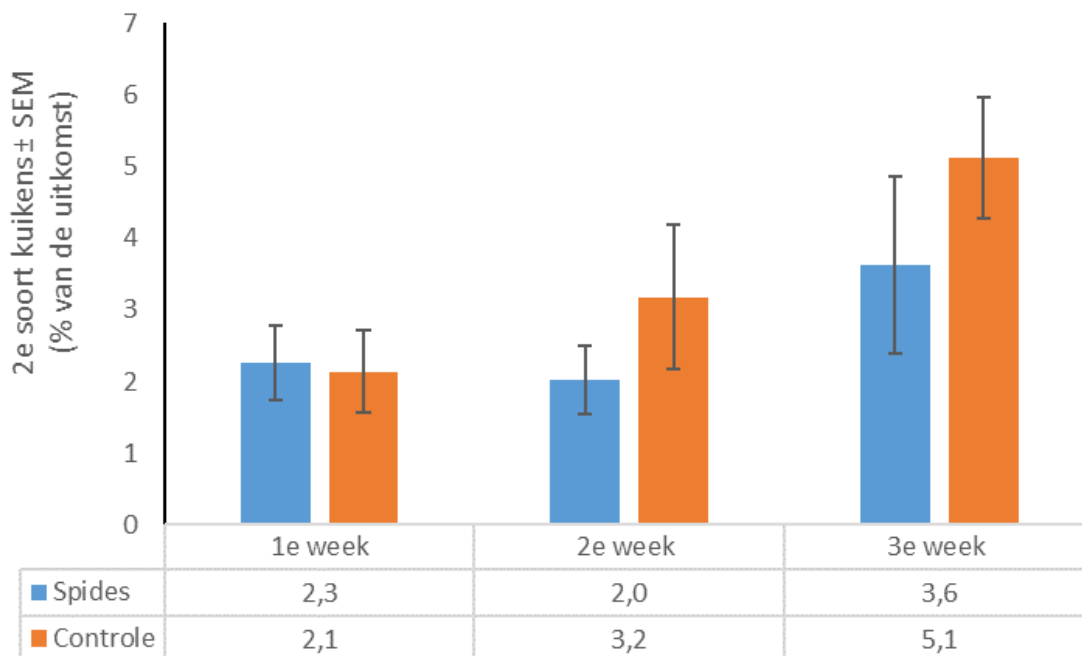
In figuur 4 is het percentage 2^e soort kuikens van 26 weken oude moederdieren te zien. De controle eieren hebben in alle gevallen een hogere percentage 2^e soort kuikens. Na 2 weken bewaren is er een significant verschil waar te nemen. Naar 3 weken bewaring is het verschil niet significant meer. * betekent een significant verschil ($P < 0,05$).

Figuur 4. 2^e soort kuikens als % van de uitkomst en SEM van moederdieren van 26 weken leeftijd



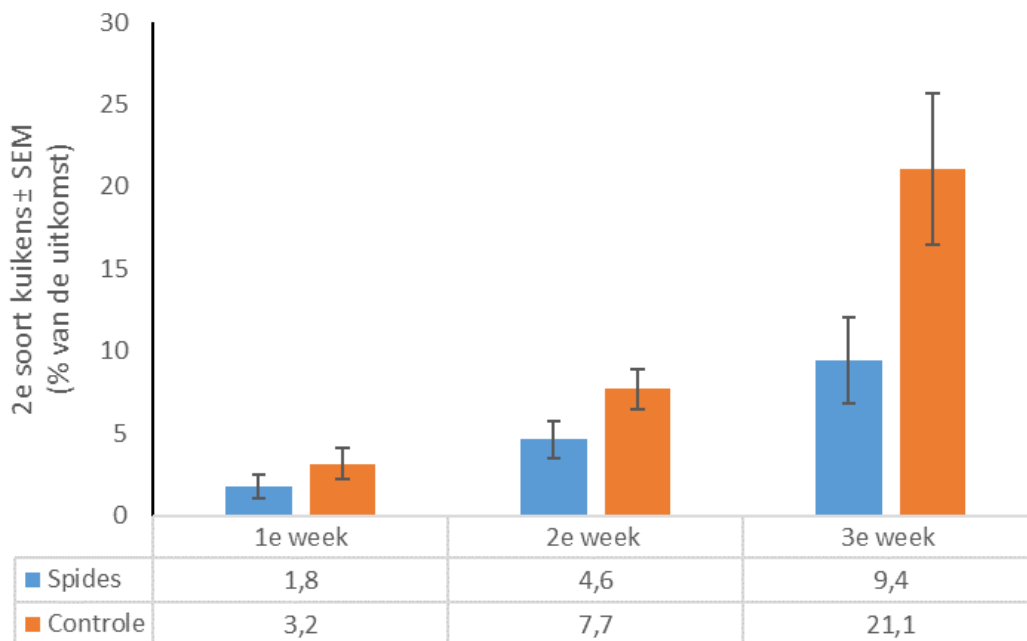
In figuur 5 is het percentage 2^e soort kuikens te zien van de broedeieren van moederdieren met de leeftijd van 44 weken. Te zien is dat na 1 week bewaring het percentage 2^e soort kuikens bij de groep met een SPIDES behandeling hoger is dan bij de controle groep. Bij de tweede en derde week is het percentage bij de controle groep hoger. Er is geen significant verschil opgetreden bij een bewaring van 1, 2 of 3 weken.

Figuur 5. 2^e soort kuikens als % van de uitkomst en SEM van moederdieren van 44 weken leeftijd



In figuur 6 zijn de percentages 2^e soort kuikens van moederdieren met een leeftijd van 60 weken te zien. Van 1 week tot 3 weken bewaring is het percentage 2^e soort kuikens bij de controle groep hoger dan bij de eieren die een SPIDES behandeling hebben gehad. Na 3 weken levert het verschil van 11,7 % een P-waarde op van 0.059, dit betekend dat er geen significant verschil is in kuikenkwaliteit met het toepassen van SPIDES.

Figuur 6. 2^e soort kuikens als % van de uitkomst en SEM van moederdieren van 60 weken leeftijd



Alleen bij een moederdieren leeftijd van 26 weken en een bewaartijd van 2 weken is er een significant verschil aangetoond. In alle ander gevallen is er wel een trend te zien waarbij de verschillen gedurende de bewaartijd bij de controle groep sneller oploopt.

3.3. DE EFFECTEN VAN SPIDES OP EMBRYONALE STERFTE EN KUIKENKWALITEIT TUSSEN EIEREN VAN 26, 44 EN 60 WEKEN OUDE MOEDERDIEREN

In de vorige deel paragrafen is de embryonale sterfte en de kuikenkwaliteit per leeftijd moederdieren bekeken.

Bij de jonge-, prime- en oude moederdieren is er een significant verschil te zien in embryonale sterfte vanaf 2 weken bewaring. In alle gevallen is na 1 week bewaring een licht verschil te zien waarbij de sterfte van de controle groep iets hoger ligt. Bij geen van de leeftijden was dit verschil significant. De P-waarden van 2 en 3 weken bewaring zijn vergelijkbaar tussen de 3 verschillende leeftijden.

Bij de percentages 2^e soort kuikens van de totaal uitgekomen kuiken is te zien dat moederdieren met de leeftijd van 26 weken afwijkt ten opzichte van de ander leeftijden. Alleen bij een leeftijd moederdieren van 26 weken is er een significant verschil te zien.

4. DISCUSSIE

Het doel van het onderzoek is om te kijken wat de effecten van een SPIDES behandeling, aan het begin van de bewaarperiode, op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit zijn bij verschillende leeftijd moederdieren.

4.1. REFLECTIE OP DE METHODE

Tijdens het onderzoek is er gebruikt gemaakt van de broedmachines en overige materialen die zijn beschreven in de materiaal en methode. Ook is de SPIDES behandeling uitgevoerd zoals beschreven staat in de materiaal en methode. Het open breken en beoordelen van onbevruucht, vroege- en late dood is macroscopisch gebeurd. Door de enorme embryonale sterfte na 3 weken bewaarperiode kan het zijn dat onbevruucht en vroege dood niet altijd 100% accuraat gesignaleerd is.

De opwarmperiode van 3 uur, zoals beschreven in de materialen en methoden, blijkt net voldoende te zijn voor de 6.750 eieren die gebruikt zijn in dit onderzoek. Wanneer er een SPIDES behandeling van meer dan 6.750 eieren moet plaats vinden is de opwarmperiode van 3 uur te kort om alle eieren op de juiste temperatuur te krijgen.

De broedeieren zijn bij de vermeerderingsbedrijven beoordeeld op de kwaliteit waarna de goede broedeieren op broedlades zijn geplaatst. Toch werden er bij het schouwen enkele kapotte en lege posities in de broedlades gesignaleerd. Deze posities zijn uit het onderzoek gehouden.

De kuikenselectie van de eieren die 1 en 2 weken zijn bewaard is gebeurd na een broedperiode van 514 uur. Bij de uitkomst van de eieren met een bewaarperiode van 3 weken is besloten om de selectie te verhogen naar 522 uur. Dit is gedaan omdat de kuikens niet volledig waren uitgekomen. Dit komt ook terug in het onderzoek van Tona et al. (2003). In dit onderzoek kwam naar voren dat elke extra dag opslag het broedproces met 64 minuten verlengd.

De verzamelde gegevens zijn samengevoegd in één Excel-bestand en geüpload naar JASP. In JASP is de ANOVA-test uitgevoerd omdat er meer dan twee verschillende groepen waren. De ANOVA-test is een statistische analyse die wordt gebruikt om te bepalen of er een significant verschil is tussen de gemiddelden van drie of meer onafhankelijke groepen.

4.2. REFLECTIE OP DE RESULTATEN

Na 1 week bewaring vertoonden de verschillen in embryonale sterfte tussen de controle groep en de groep behandeld met de SPIDES-methode slechts een klein verschil. De effecten van de SPIDES methode werden wel duidelijk zichtbaar bij een bewaarperiode van 2 of 3 weken. Gedurende deze periode nam de embryonale sterfte in de controle groep aanzienlijk meer toe in vergelijking met de groep behandeld met SPIDES. Dit betekent dat de SPIDES methode resulteert in een significant lagere embryonale sterfte bij een bewaarperiode van minimaal 2 weken. Deze vermindering in embryonale sterfte werd op dezelfde wijze waargenomen bij moederdieren van verschillende leeftijden. De resultaten van dit onderzoek komen overeen met een eerdere studie van Gharib (2013), waarbij ook een significante verbetering werd waargenomen na een minimale bewaarperiode van 7 dagen.

In het onderzoek is er een trend waargenomen met betrekking tot de kuikenkwaliteit in relatie tot de leeftijd van moederdieren en het gebruik van SPIDES behandelingen. Over het algemeen blijkt dat kuikens uit eieren die een SPIDES behandeling hebben ondergaan, vaker van de eerste kwaliteit zijn. Hoewel deze trend consistent is, is het verschil niet significant. Echter, wanneer de gegevens van verschillende moederdieren worden samengevoegd en geanalyseerd na een bewaarperiode van 3 weken, is er wel een significant verschil waar te nemen. In dit geval blijkt dat eieren met een bewaarperiode van 3 weken en SPIDES behandeling resulteren in significant meer kuikens van eerste kwaliteit en minder van tweede kwaliteit. Het onderzoek van Okasha et al. (2023) heeft ook significante verbeteringen in kuikenkwaliteit aangetoond ($P < 0,05$). In deze studie werden 6300 eieren gebruikt, wat resulteert in een grotere kans op het vinden van een significant verschil dan in dit huidige onderzoek met 4500 eieren per onderzoeksgroep.

Interessant genoeg bleek uit de resultaten dat bij moederdieren van 44 weken leeftijd na een bewaarperiode van 1 week en een SPIDES behandeling juist meer kuikens van de tweede kwaliteit werden waargenomen. Echter, bij moederdieren van andere leeftijden was het omgekeerde het geval, waarbij de kuikenkwaliteit juist verbeterde met een SPIDES behandeling bij een bewaarperiode van 1 week. Deze bevindingen suggereren dat er geen waarneembare verbetering in kuikenkwaliteit is bij een SPIDES behandeling en een bewaarperiode van 1 week. Maar bij een bewaarperiode van 3 weken of langer, en met een grotere onderzoeksgroep, blijkt de kwaliteit van kuikens na een SPIDES behandeling wel significant beter te zijn. Al met al wijst het onderzoek erop dat de effectiviteit van SPIDES behandelingen voor kuikenkwaliteit afhangt van verschillende factoren, zoals de bewaarperiode en de leeftijd van de moederdieren. Bij moederdieren van 44 weken leeftijd werd de laagste embryonale sterfte waargenomen.

In een recent gepubliceerd artikel van fokkerij organisatie Aviagen is er uitgebreid gekeken naar de verschillende mogelijke manieren om SPIDES uit te voeren. Hieruit kwam naar voren dat bij een bewaring van 21 dagen, met 4 herhalingen de beste resultaten werden behaald (Nicholson, 2023). Dit zou kunnen betekenen dat de resultaten bij dit onderzoek nog hoger waren geweest wanneer er meerdere keren een behandeling van SPIDES werd toegepast.

Wanneer de eieren langer dan 2 uur boven de 90 Fahrenheit verblijven worden de resultaten minder of juist slechter dan zonder behandeling. Bij een te lange periode van verwarming kan de uitkomst desastreus verslechteren (Nicholson, 2023). In dit zelfde onderzoek kwam ook naar voren dat het belangrijk is dat eieren gelijkmatig worden opgewarmd en gekoeld worden. Wanneer dit niet gelijkmatig gebeurt kan het resulteren in ongelijke resultaten.

5. CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN

In dit onderzoek is onderzocht wat de effecten van het voorverwarmen van broedeieren van verschillende leeftijd moederdieren voor de bewaarperiode op embryonale sterfte en kuikenkwaliteit is.

5.1. CONCLUSIE

Uit dit onderzoek blijkt dat zowel de bewaarperiode, de leeftijd van de moederdieren als de SPIDES behandeling allemaal invloed hebben op de embryonale sterfte en kuikenkwaliteit. De optimale aanpak voor het bewaren van broedeieren van vleeskuikens is om ze binnen een week na het leggen in te leggen voor het broedproces. In situaties waarin langere opslag vereist is, kan een SPIDES behandeling voor de opslagperiode de embryonale sterfte significant beperken bij het daaropvolgende broedproces.

Uit het onderzoek is een trend waargenomen waarbij kuikens uit eieren met SPIDES behandeling vaker van de eerste kwaliteit zijn, maar dit verschil was niet significant. Echter, na samenvoeging van de gegevens van verschillende moederdieren en een bewaarperiode van 3 weken, was er wel een significant verschil waarneembaar, met meer kuikens van de eerste kwaliteit.

SPIDES behandelingen blijken voordelig te zijn voor eieren van zowel prime moederdieren als jonge en oude moederdieren. De laagste embryonale sterfte werd waargenomen bij eieren afkomstig van 44 weken oude moederdieren die gedurende 7 dagen werden bewaard en een SPIDES behandeling kregen.

5.2. AANBEVELINGEN

Er is er in verschillende bronnen een gelijkmatig onderzoek uitgevoerd naar de effecten van SPIDES. De SPIDES behandeling werd in bijna alle eerdere onderzoeken op een andere manier uitgevoerd. Zo verschilt de lengte maar ook de frequentie van de behandeling. Hierdoor is het aan te bevelen om in een verder onderzoek de verschillende manieren van een SPIDES behandeling te onderzoeken.

Om een beter inzicht te verkrijgen in de relatie tussen SPIDES behandelingen en kuikenkwaliteit, zou verder onderzoek met een grotere steekproefgrootte kunnen worden uitgevoerd. Een dergelijk onderzoek zou kunnen focussen op de specifieke categorie van 2^e soort kuikens en nagaan welke specifieke kenmerken van deze kuikens verbeteren als gevolg van de SPIDES behandeling. Door het apart bestuderen van de kuikens van de tweede kwaliteit zou het mogelijk zijn om te bepalen welke aspecten van hun ontwikkeling en gezondheid worden beïnvloed door de toepassing van SPIDES. Het uitvoeren van een dergelijk onderzoek zou waardevolle inzichten kunnen opleveren en kan bijdragen aan het optimaliseren van de SPIDES methode voor het verkrijgen van een nog betere kuikenkwaliteit.

Tevens is het voor een continu proces van SPIDES behandelingen in een commerciële broederij aan te raden om een broedmachine met een verhoogde verwarming en koelcapaciteit aan te schaffen. Een voorbeeld hiervan kan de X-Streamer™ Re-Store incubator van Petersime zijn (Petersime, z.d.). Door het specifieke SPIDES programma in de machine kan het zelf doormiddel van eischaaltemperatuur metingen de optimale tijd van terug koelen bepalen en vervolgens uitvoeren. Op deze manier is het bij deze Re-Store broedmachine mogelijk om zonder verder toezicht van een broedmeester, SPIDES uit te voeren. Dit betekent dat een broederij medewerker s 'avonds de broedmachine kan laden en aanzetten. De volgende morgen kan een andere medewerker de broedmachine leeghalen en op nieuw laden met andere eieren voor een nieuwe opwarmperiode. Op deze manier kan de machine optimaal draaien en is de terug verdientijd korter.

BRONNENLIJST

Abdel-Halim, A. A., Mohamed, F. R., Desoky, A. A., Elmenawey, M. A., & Gharib, H. B. (2015). Effect of heating hatching eggs before or during storage on the alleviation of the negative effect of prolonged storage periods on hatchability. *Egypt. Poultry Sci. J*, 35, 703-717.

Berkhout, P., van der Meulen, H., Ramaekers, P., Verhoog, A. D., Berkhout, P., Bergevoet, R. H. M., ... & Polman, N. B. P. (2022). Staat van Landbouw en Voedsel (No. 2022-013). Wageningen Economic Research.

De Wit, J., & Van den Beukel, L. (2019). Agrarische en groene sector [factsheet arbeidsmarkt]. UWV. Geraadpleegd op 5 juni 2023, van <https://www.uwv.nl/overuwv/Images/factsheet-agrarisch-groene%20sector-2019.pdf>

Edwards, C. L. (1902). The physiological zero and the index of development for the egg of the domestic fowl, *Gallus Domesticus*: A contribution to the subject of the influence of temperature on growth. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 6(6), 351-397.

Dymond, J., Vinyard, B., Nicholson, A. D., French, N. A., & Bakst, M. R. (2013). Short periods of incubation during egg storage increase hatchability and chick quality in long-stored broiler eggs. *Poultry science*, 92(11), 2977-2987.

Elibol, O., & Brake, J. (2008). Effect of egg position during three and fourteen days of storage and turning frequency during subsequent incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, 87(6), 1237-1241.

Fasenko, G. M. (2007). Egg storage and the embryo. *Poultry science*, 86(5), 1020-1024.

Funk, E. M., & Biellier, H. V. (1944). The minimum temperature for embryonic development in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Poultry Science*, 23(6), 538-540.

Gharib, H. (2013). Effect of pre-storage heating of broiler breeder eggs, stored for long periods, on hatchability and chick quality. *Egyptian Journal of Animal Production*, 50(3), 174-184.

Graumans, K. (2014, 2 december). Export broedeieren ligt stil. Boerderij. Geraadpleegd op 2 mei 2023, van <https://www.boerderij.nl/export-broedeieren-ligt-stil>

Lapao, C., Gama, L. T., & Soares, M. C. (1999). Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poultry science*, 78(5), 640-645.

Lohmann Tierzucht. (2018). Management guide Hatchery [reader].

Meijerhof, R. (1994). Vochtverlies tijdens de bewaring van broedeieren. *Praktijkonderzoek voor de Pluimveehouderij*, 5(1), 32-34.

Nicholson, D. (2023). Chicken egg storage and transport. Embryo development and hatchery practice in poultry production, 141–168.

Nicholson, D., French, N., Tullett, S., van Lierde, E., & Jun, G. (2013). Short periods of incubation during egg storage–SPIDES. *Lohmann Information*, 48(2), 51-61.

Nasri, H., van den Brand, H., Najar, T., & Bouzouaia, M. (2020). Interactions between egg storage duration and breeder age on selected egg quality, hatching results, and chicken quality. *Animals*, 10(10), 1719.

Narınç, D., & Aydemir, E. (2021). Chick quality: an overview of measurement techniques and influencing factors. *World's Poultry Science Journal*, 77(2), 313-329.

Oliveira, B. D., & Oliveira, D. D. (2013). Qualidade e tecnologia de ovos. *Lavras: Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras)*, 223.

Okasha, H. M., El-Gendi, G. M., & Eid, K. M. (2023). The effect of storage periods and SPIDES on embryonic mortality, hatching characteristics, and quality of newly hatched chicks in broiler eggs. *Tropical Animal Health and Production*, 55(2), 133.

Özlü, S. (2021). Research Note: Storage period and prewarming temperature effects on synchronous egg hatching from broiler breeder flocks during the early laying period. *Poultry Science*, 100(3), 100918.

Özlü, S., Elibol, O., & Brake, J. (2018). Effect of storage temperature fluctuation on embryonic development and mortality, and hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry science*, 97(11), 3878-3883.

Petersime. (z.d.). *Precise heat treatment of stored eggs*. Geraadpleegd op 11 juli 2023, van <https://www.petersime.com/solutions/incubation/heat-treatment-during-egg-storage>

Proudfoot, F. G. (1966). Hatchability of stored chicken eggs as affected by daily turning during storage and prewarming and vacuuming eggs enclosed in plastic with nitrogen. *Canadian Journal of Animal Science*, 46(1), 47-50.

Reijrink, I. A. M., Berghmans, D., Meijerhof, R., Kemp, B., & Van den Brand, H. (2010). Influence of egg storage time and preincubation warming profile on embryonic development, hatchability, and chick quality. *Poultry science*, 89(6), 1225-1238.

Reijrink, I. (2010). Storage of hatching eggs: Effects of storage and early incubation conditions on egg characteristics, embryonic development, hatchability, and chicken quality [proefschrift Wageningen University and Research]. ProQuest LLC.

Scott, T. A., & Silversides, F. G. (2000). The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry science*, 79(12), 1725-1729.

Tona, K., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V. M., Buyse, J., ... & Decuypere, E. (2003). Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poultry science*, 82(5), 736-741.

Yassin, H. A. G. J., Velthuis, A. G., Boerjan, M., van Riel, J., & Huirne, R. B. (2008). Field study on broiler eggs hatchability. *Poultry Science*, 87(11), 2408-2417.

Bijlage 1 Onderzoeksofzet

Toevoegingen:											
Nummer van broedlades worden exact overgenomen naar uitkomstbakken! Dus eieren van broedlade 1 komen in uitkomstbak 1											
Alle lades worden kriskras door de broedkar geplaatst zodat effect van plaats wordt geminimaliseerd											
Elke broedla bevat 150 broedeieren											
vb 2356				vb 3839				vb 6270			
lade/bak nummer	behandeling	inleg	kar nummer	lade/bak nummer	behandeling	inleg	kar nummer	lade/bak nummer	behandeling	inleg	kar nummer
1	spides	inleg 1	K1	31	spides	inleg 1	K1	61	spides	inleg 1	K1
2	spides	inleg 1	k1	32	spides	inleg 1	k1	62	spides	inleg 1	k1
3	spides	inleg 1	k1	33	spides	inleg 1	k1	63	spides	inleg 1	k1
4	spides	inleg 1	k1	34	spides	inleg 1	k1	64	spides	inleg 1	k1
5	spides	inleg 1	k1	35	spides	inleg 1	k1	65	spides	inleg 1	k1
6	spides	inleg 2	k2	36	spides	inleg 2	k2	66	spides	inleg 2	k2
7	spides	inleg 2	k2	37	spides	inleg 2	k2	67	spides	inleg 2	k2
8	spides	inleg 2	k2	38	spides	inleg 2	k2	68	spides	inleg 2	k2
9	spides	inleg 2	k2	39	spides	inleg 2	k2	69	spides	inleg 2	k2
10	spides	inleg 2	k2	40	spides	inleg 2	k2	70	spides	inleg 2	k2
11	spides	inleg 3	k3	41	spides	inleg 3	k3	71	spides	inleg 3	k3
12	spides	inleg 3	k3	42	spides	inleg 3	k3	72	spides	inleg 3	k3
13	spides	inleg 3	k3	43	spides	inleg 3	k3	73	spides	inleg 3	k3
14	spides	inleg 3	k3	44	spides	inleg 3	k3	74	spides	inleg 3	k3
15	spides	inleg 3	k3	45	spides	inleg 3	k3	75	spides	inleg 3	k3
16	geen behandeling	inleg 1	K1	46	geen behandeling	inleg 1	K1	76	geen behandeling	inleg 1	K1
17	geen behandeling	inleg 1	k1	47	geen behandeling	inleg 1	k1	77	geen behandeling	inleg 1	k1
18	geen behandeling	inleg 1	k1	48	geen behandeling	inleg 1	k1	78	geen behandeling	inleg 1	k1
19	geen behandeling	inleg 1	k1	49	geen behandeling	inleg 1	k1	79	geen behandeling	inleg 1	k1
20	geen behandeling	inleg 1	k1	50	geen behandeling	inleg 1	k1	80	geen behandeling	inleg 1	k1
21	geen behandeling	inleg 2	k2	51	geen behandeling	inleg 2	k2	81	geen behandeling	inleg 2	k2
22	geen behandeling	inleg 2	k2	52	geen behandeling	inleg 2	k2	82	geen behandeling	inleg 2	k2
23	geen behandeling	inleg 2	k2	53	geen behandeling	inleg 2	k2	83	geen behandeling	inleg 2	k2
24	geen behandeling	inleg 2	k2	54	geen behandeling	inleg 2	k2	84	geen behandeling	inleg 2	k2
25	geen behandeling	inleg 2	k2	55	geen behandeling	inleg 2	k2	85	geen behandeling	inleg 2	k2
26	geen behandeling	inleg 3	k3	56	geen behandeling	inleg 3	k3	86	geen behandeling	inleg 3	k3
27	geen behandeling	inleg 3	k3	57	geen behandeling	inleg 3	k3	87	geen behandeling	inleg 3	k3
28	geen behandeling	inleg 3	k3	58	geen behandeling	inleg 3	k3	88	geen behandeling	inleg 3	k3
29	geen behandeling	inleg 3	k3	59	geen behandeling	inleg 3	k3	89	geen behandeling	inleg 3	k3
30	geen behandeling	inleg 3	k3	60	geen behandeling	inleg 3	k3	90	geen behandeling	inleg 3	k3

BIJLAGE 2 BROEDPROGRAMMA

Dag	uren	tempratuur °F	% relatieve luchtvochtigheid	% CO2
0	0	100,3	94	0,26
1	24	100,2	94	0,85
2	48	100,1	94	0,85
3	72	100,1	94	0,85
4	96	100,1	94	0,85
5	120	100,0	94	0,85
6	144	100,0	92	0,85
7	168	99,9	92	0,85
8	192	99,8	88	0,55
9	216	99,8	88	0,45
10	240	99,8	82	0,40
11	264	99,6	82	0,30
12	288	99,3	78	0,30
13	312	99,1	78	0,30
14	336	98,7	76	0,30
15	360	98,5	76	0,30
16	384	98,2	74	0,30
17	408	98,0	74	0,30
18	432	97,9	74	0,30