

جمهورية العراق

Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Kufa - College of Sciences



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الكوفة - كلية العلوم
مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة

التاريخ 26 / 4 / 2017
العدد: 1080

رقم البحث: 1053

م/ قبول بحث للنشر

الى / حضرة زهراء صاحب الكعبى المحترمة كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة

حضرة د. عبد الهادي صلال المحترم الكلية التقنية الطبية/ جامعة الفرات الاوسط

حضرة د. حسين خضير المحترم كلية التربية / جامعة القادسية

بعد التحية :

يسر هيئة تحرير مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة إعلامكم عن قبول
بحثكم الموسوم

((دراسة نسجية للبرعم الطرفي في جنين الدجاج بعمر ثمانية أيام))

وسوف ينشر في الأعداد القادمة

*** مع التقدير ***

عن
أ.د. مهدي حسين محيل العمار
رئيس التحرير

المراسلات الى : نائب رئيس التحرير - مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة - قسم علوم الحياة - كلية العلوم
جامعة الكوفة - العراق / Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq

دراسة نسجية للبرعم الطرفي في جنين الدجاج بعمر ثمانية أيام

م.م. زهراء صاحب الكعبي

أ.د. عبد الهادي صلال
أ.م.د. حسين خضير

Abstract الخلاصة

أجريت الدراسة النسجية في كل من مختبري التحضيرات النسجية في المعهد الفني/ الطبي/ كوفة ومستشفى الصدر التعليمي في النجف، إستغرقت مدة الدراسة النسجية ستة أشهر من تاريخ 2015/3/15 ولغاية 2015/9/10، تم جمع عدد عشرة من البيض بعمر ثمانية أيام المحضن في مفقس النجف الحديث (أبو صخير)، أخرجت الأجنة لإخضاعها للإجراءات المخبرية، ثم لونت المقاطع النسجية بالطرق التلوينية الآتية:-

أ- ملونة الهيماتوكسلين - ايوسين Harris Haematoxylin – Eosin stain.

ب - ملونة ماسون ترايكروم Masson's Trichrome stain.

ج - طريقة التلوين المزدوج Double staining method.

أوضحت نتائج الدراسة النسجية الحالية إن الطرف الجنيني Embryonic limb في عمر ثمانية أيام يتكون فيه هيكل بدائي Rudiment skeletal ذو قوام غضروفي ولا اثر للتعظم فيه تحيط به خلايا مولدة للعضلات Myogenic cells التحم بعضها لتكون الانابيب العضلية Myotube، وتمايز جلد البرعم الطرفي إلى طبقتين، عليا وهي البشرة Epidermis والسفلى وهي الأدمة Dermis. تترتب البشرة بصفين من الخلايا، صف إلى الخارج يغطي الجلد يسمى البشرة المحيطية Periderm و طبقة الى الداخل منها تسمى الطبقة القاعدية Basal layer، الأدمة هي عبارة عن نسيج ميزنكييمي رخو Loose mesenchymal tissue مكون من ألياف ميزنكييمية Mesenchymal fibers وخلايا ميزنكييمية Mesenchymal cells في الوقت الذي يلاحظ تكون التكثف الادمي Dermal condensation إلى الأسفل من البشرة مكوناً بذلك براعم ريشية قصيرة Feather buds.

المقدمة Introduction :

يعتبر جنين الطيور هو النموذج المفضل لتتبع نشأة وتشكل أعضاء أجنة الفقرات اذ أستعمل في مجالات عديدة في البحث العلمي والتعليم منذ زمن طويل بدأت مع أرسطو Aristotle (382-

322 ق.م) الذي وصف جنين الدجاج بكافة مراحل نموه [1] وبهذا هنالك تاريخ طويل وغني في استخدام اجنة الطيور لانها تتميز بسهولة توفرها ، وهي مصدر جنيني معتمد عليه في المراقبة والمعالجة Manipulations خلال النمو ومراحل تشكيل الأعضاء Organogenesis من دون ان تعاني الانثى الام أي اذى ولهذا تعتبر مصدر رئيسي معتمد عند دراسة اللبائن [2]. ان اول إشارة مرئية لتطور الطرف هو ظهور انتفاخ صغير من الجنب الجسمي Somatopleure على جانبي الجنين يشبه المجذاف يدعى البرعم الطرفي Limb bud يتكون من شبكة من خلايا ميزنكيمية متشابهة مغطاة بطبقة من الاديم الظاهر Ectoderm الذي يتنخن في جزئه الطرفي المحيط بالبرعم مكون تركيب يدعى حافة الاديم الظاهر القمية Apical ectodermal ridge ، له الدور المهم في نمو البرعم الطرفي . اثناء استطالة البرعم الطرفي وامتداده للخارج ، تبدأ الخلايا القريبة من جسم الجنين بالتمايز الى انسجة مختلفة المتخصصة حيث يتكون أولا العضد humerus ومن ثم الكعبرة radius والزند ulna وأخيرا الأصابع digits [3]. ان الدراسة الجنينية لتطور اطراف الحيوانات الفقرية رائدة في معرفة الجوانب الأساسية لتطور الاجنة وخصوصا جنين الدجاج الذي من خلاله استنبط العلماء الكثير من الحقائق العلمية المفيدة في تطور الطرف و تمايز الانسجة التي تكونت من خلايا متشابهة نشأت في برعم صغير فتتحول الى مختلف الانسجة تقوم بوظائف متباينة ولهذا كان الهدف من الدراسة الحالية : تتبع تشكل البرعم الطرفي ودراسته نسيجياً مذ ظهوره عيانيا كطرف جنيني بارز في اليوم الثامن من عمر الجنين وقياس طول وسمك كل من البرعم الطرفي وعضده البدائي .

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

المواد : Materials

أجنة الدجاج Chicken Embryos

تم جمع عدد عشرة من بيض دجاج الليكهورن الأبيض White Leghorn بعمر ثمانية أيام من حاضنات مفقس النجف الحديث (أبو صخير) ، أخرجت الأجنة لإخضاعها للإجراءات المختبرية ، أجريت الدراسة النسجية في مختبر التحضيرات النسجية في المعهد الفني الطبي/ كوفة ومستشفى الصدر التعليمي واستغرقت مدة الدراسة ستة اشهر من تاريخ 2015/3/15 ولغاية 2015/9/10 .

الدراسة النسجية : Histological Study

اتبعت طريقة [4] في تحضير المقاطع النسجية ، إذ غسلت عينات اجنحة الاجنة بالمحلول الملحي لكلوريد الصوديوم (0.9%) بعد ان قطعت بواسطة مقص تشريح من الاجنة التي يتم الحصول عليها من البيوض ، وضعت بعدها في مثبت الفورمالين (10%) لمدة 48 ساعة بعدها غسلت في ماء الحنفية الجاري لمدة 12 ساعة بغية التخلص من المثبت ، ثم نكرت العينات Dehydration وذلك بتمريرها بسلسلة من التراكيز المتصاعدة من الكحول الايثيلي (70% ، 80% ، 90% ، 95% ، 100%) ولمدة ساعتين في كل منها ثم روقت Clearing باستخدام الزيولين لمدة (1 - 1.5) ساعة ثم شربت Infiltration بشمع البرافين المنصهر بدرجة (56 - 58 م) ولمدتين (1 - 1.5 ساعة / مرة) ، وأخيراً طمرت Embedding الأنسجة في شمع البرافين المنصهر وتركت لتتصلب ، بعدها قطعت العينات بواسطة جهاز المشراح الدوار Rotary Microtome وبسمك 5 مايكروميتر ، سطحت المقاطع بدرجة حرارة (40-45م) بحمام مائي وثبتت النماذج على شرائح زجاجية باستعمال لاصق آح ماير Meyer's albumin ، قسمت الشرائح النسجية ثلاث مجاميع لغرض استخدام الطرق التلوينية التي اعتمدت في الدراسة الحالية لغرض الدراسة النسجية.

الطرق التلوينية المستخدمة:

أ- طريقة الهيماتوكسولين - ايوسين Harris Haematoxylin – Eosin method .

ب - طريقة ماسون ترايكروم Masson's Trichrome method .

ج - طريقة التلوين المزدوج Double staining method .

أنجزت الطرائق التلوينية، حملت المقاطع Mounting بالـ DPX وغطيت بالغطاء الزجاجي Cover slip ، وبعدها فحصت باستعمال المجهر الضوئي نوع Olympus تحت قوة تكبير (x10 ، x40) لتحديد التغيرات النسجية في نسيج البرعم الطرفي وصورت المقاطع باستخدام كاميرا سوني.

التحليل الإحصائي : Statistical Analysis

لدعم الدراسة النسجية في متابعة التطورات الجنينية في برعم طرف أجنة الدجاج في العمر الجنيني المحدد في الدراسة الحالية، أجريت دراسة احصائية لقياس طول البرعم الطرفي بواسطة

القدمة Vernea وقياس سمك و طول العضد فيه وذلك باستخدام المصغرين العيني والمسرحي Ocular and stage micrometer لمعايرة المجهر واخذ القياسات المطلوبة [5] .
حللت نتائج الدراسة الحالية باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS ، حيث استخدم اختبار T (T- test) وطريقة تحليل التباين ذي الاتجاهين (Two way ANOVA) وتحليل الارتباط .Correlation

النتائج Results

أوضح الفحص العياني للجنين في عمر ثمانية أيام أن جسمه صغير خالي من الريش ذو برعم طرفي قصير ورقيق التركيب (اللوحة A-1) ، وأظهرت الدراسة الاحصائية (جدول 1) ، ان معدل طول وسمك البرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر الجنين كان (8 ± 0.12) ملليمتر و (3 ± 0.58) ملليمتر على التوالي وبعد تثبيته بالفورمالين لمدة خمسة أيام (اللوحة B-1) ، ظهر بروز الاصبع الثاني جليا ولكنه اختفى بعد معاملة الطرف بطريقة التلوين المزدوج Double staining ، وأظهرت نتائج هذه الملونة ان هناك عناصر هيكلية بدائية قد بدأت بالظهور (اللوحة C-1) ، تتلون باللون الأزرق مما يدل انها مكونة من نسيج غضروفي ولا اثر للتعظم فيه ، أول هذه العناصر هو العضد Humerus الذي كان طوله (2.5 ± 0.29) ملليمتر وسمكه (0.3 ± 0.06) ملليمتر ، ويظهر الزند Ulna مشابهة للكعبرة Radius ولكن يفوقه في السمك ، وهناك نشوء اولي للرسغ والذي يبدو انه تم التحامه مع المشط وتمايز الى أربعة غضاريف هي المشط الرسغي Carpo-metacarpus كما يظهر في المقطع النسجي مع ملونة الهيماتوكسولين-ايوسين (H&E) (D-1)، الذي اخذ من الشريحة المجهرية مباشرة .

بينت نتائج الدراسة النسجية ان هيكل الطرف هو غضروف جنيني Embryonic cartilage ، وكما يلاحظ من اللوحة (A-2) ، انه يتكون من خلايا مستديرة الشكل هي الخلايا الغضروفية Chondrocytes وتظهر النواة مفككة وغير منتظمة مما يدل انها في اطوار انقسامية مختلفة حيث ان الغضروف الجنيني يمر بمراحل نمو سريعة واتساع في الحجم لتكوين الهيكل البدائي Rudiment skeletal للبرعم الطرفي وقد تجمعت حوله مجموعات كبيرة من الخلايا الميزنكيمية Mesenchymal cells تمر بعملية التمايز الى خلايا مولدة للعضلات Myogenic cells والتي تلتحم مع بعضها مكونة انايبب عضلية Myotubes متعددة الانوية تعلقو الغضروف الجنيني (اللوحة B-2)، وفي هذه الاثناء يحصل نمو وتطور في الجهة الخارجية من الطرف الجناحي ، حيث تمايز الجلد إلى طبقتين ، العليا وهي طبقة البشرة Epidermis والتي تترتب بصفين من الخلايا، صف من خلايا مسطحة إلى الخارج تغطي

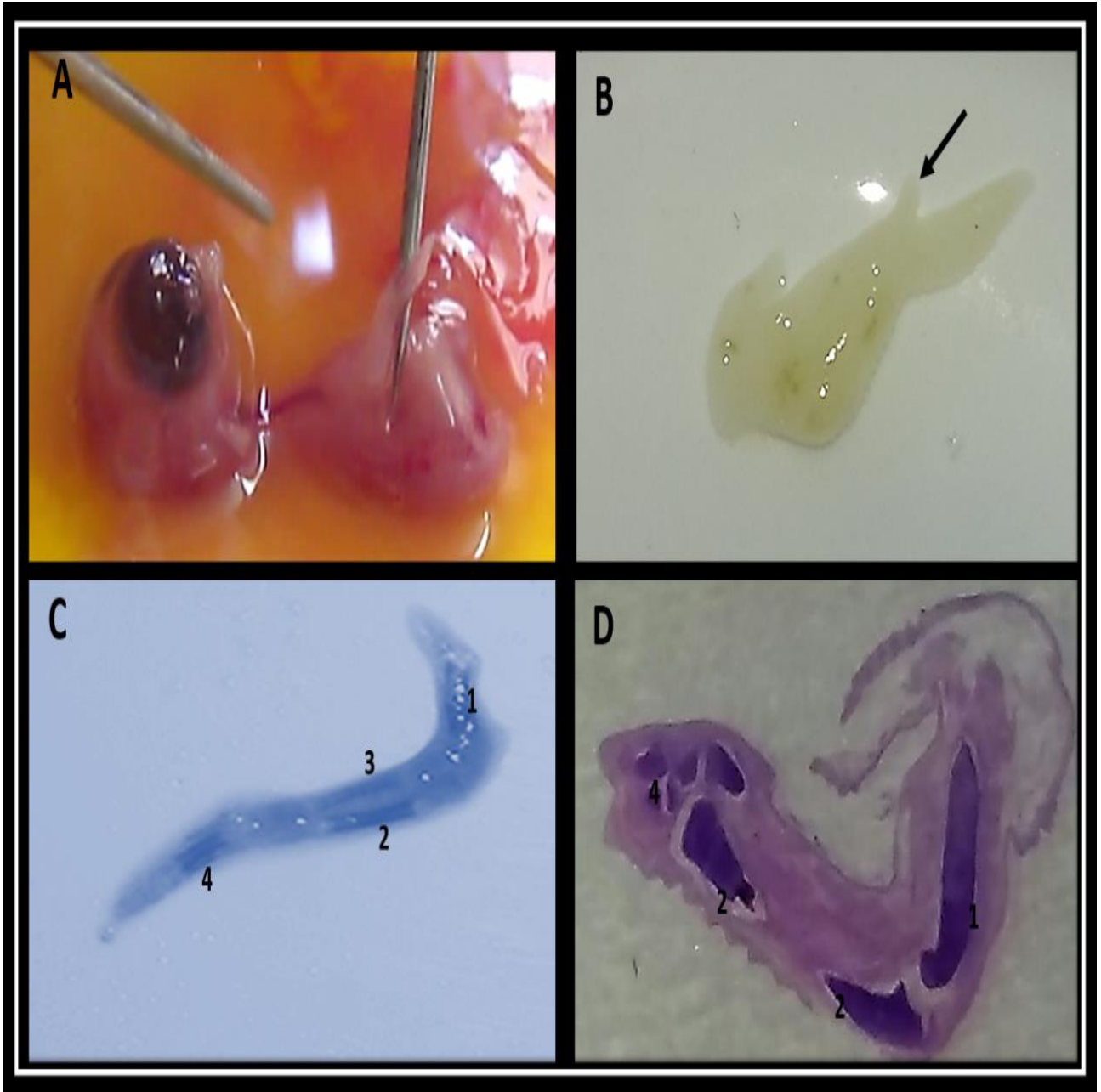
الجلد تسمى البشرة المحيطية Periderm ويقع إلى الأسفل منها مباشرة الاديم الظاهر والذي يظهر في المقطع الطولي بشكل طبقة من خلايا مكعبة إلى عمودية الشكل (اللوحة 2-C، D) ، تسمى الطبقة القاعدية Basal layer او الطبقة المولدة Stratum germinativum .

يقع إلى الأسفل من البشرة منطقة الأدمة Dermis التي هي عبارة عن نسيج ميزنكيمي رخو Loose mesenchymal tissue مكوّن من ألياف غراوية رقيقة حديثة التكوين وخلايا ميزنكيميائية في الوقت الذي يلاحظ تكون الأدمة الكثيفة Dense dermis إلى الأسفل من الطبقة القاعدية ، لوحظ زيادة سمك وكثافة مناطق الادمّة الكثيفة لتكوّن التكتف الاديمي Dermal condensation الذي يرتفع إلى الأعلى دافعاً معه البشرة مشكلاً لبها مكوناً بذلك براعم ريشية Feather buds قصيرة (اللوحة 2-C، D).

لوحظ مع ملونة ماسون ترايكروم Masson's Trichrome stain تجمعات ميزنكيميائية كثيفة في منطقة عناصر الهيكل البدائي للطرف الجناحي (اللوحة 3-A) مع تجهيز دموي عالي ، كما تكون هذه الخلايا ملتصقة مع بعضها بشكل وثيق ومتكورة لتأخذ شكلاً كروياً استعداداً للتمايز إلى الخلايا المولدة للغضروف Chondroblasts التي تساهم في تخلق النسيج الغضروفي الجنيني وكما هو واضح في اللوحة (3-B) ، وقد أظهرت اللوحة (3-C، D) نسيجي البشرة والادمّة في منطقة البراعم الريشية والمناطق الخالية منها يتغلب عليهما اللون الاحمر مع ملونة ماسون ترايكروم ، في حين تتلون الالياف الغراوية باللون الأخضر الفاتح .

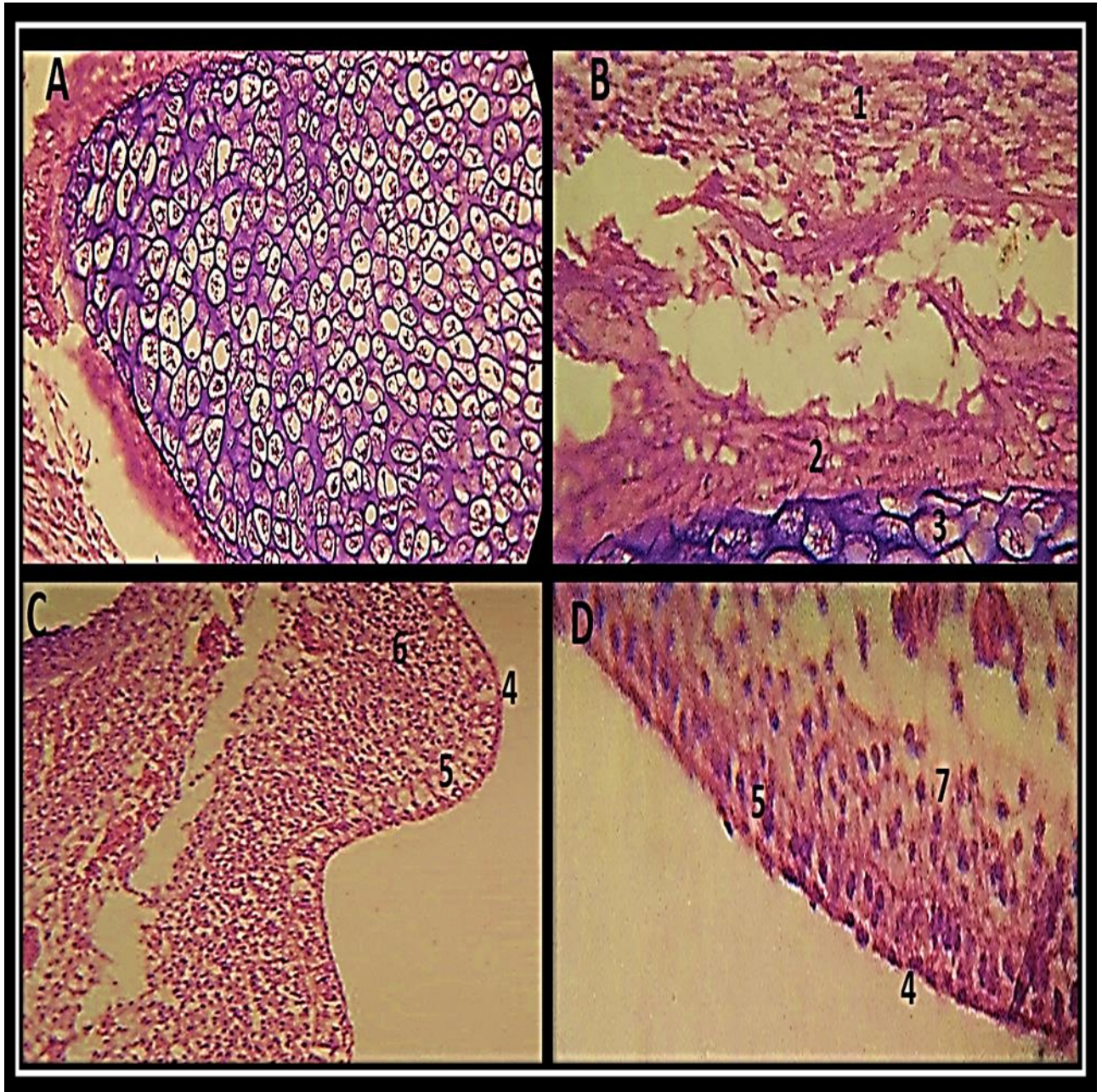
جدول (1) العلاقة بين معدلات الطول والسمك لكل من البرعم الطرفي وعضده البدائي

معدل الطول $\pm$ الانحراف القياسي (مليمتر)	معدل السمك $\pm$ الانحراف القياسي (مليمتر)	
8 ± 0.12	3 ± 0.58	الطرف الجناحي
2.5 ± 0.29	0.3 ± 0.06	العضد البدائي



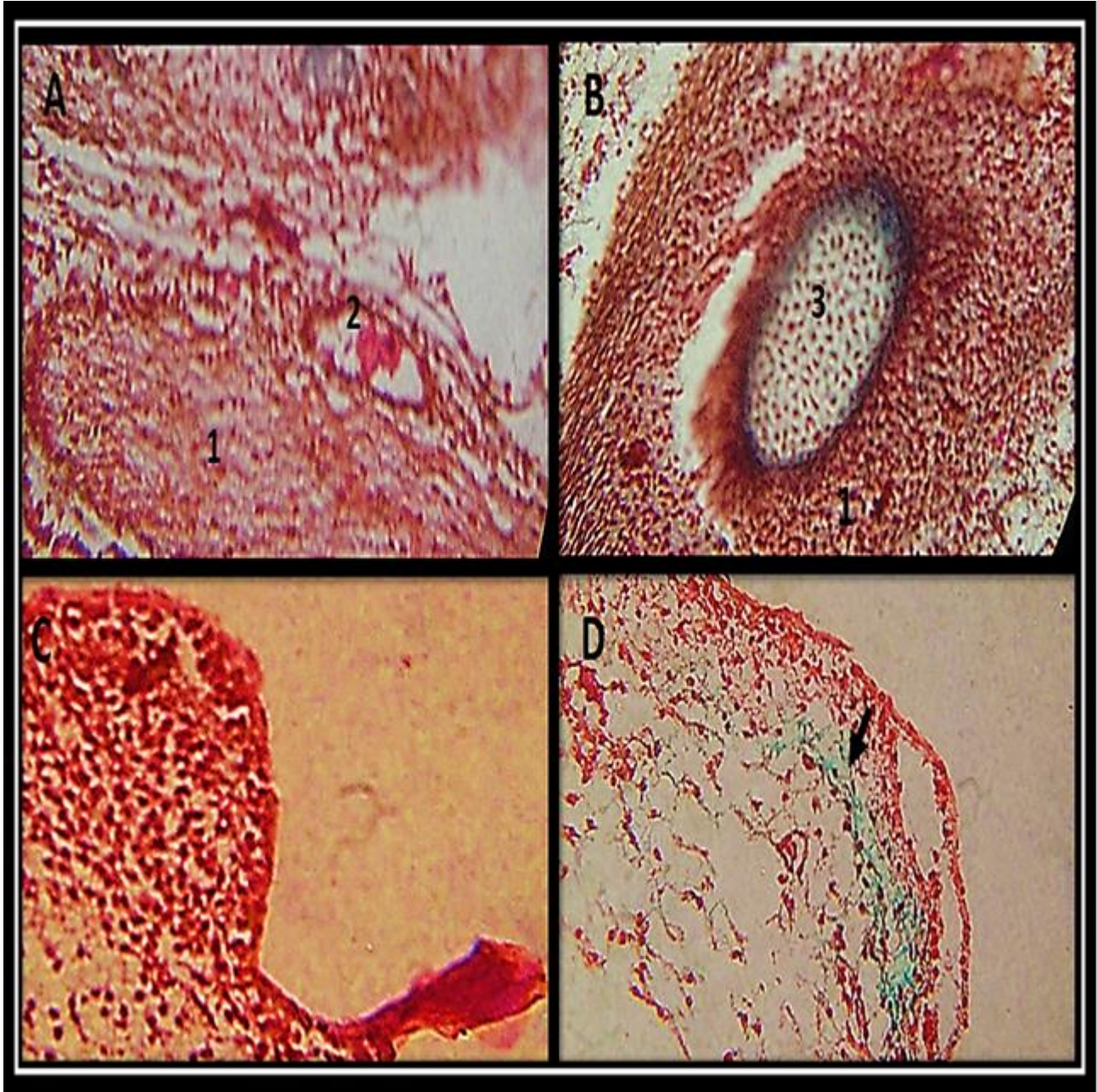
اللوحة (1) البرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر جنين الدجاج
(الفحص العياني)

- A – جنين دجاج عمر ثمانية أيام .
 B – برعم طرفي بعد التثبيت يظهر فيه بروز الاصبع الثاني (السهم) .
 C – الهيكل البدائي 1- العضد، 2- الزند، 3- الكعبرة، 4- المشط الرسغي. (Double stain)
 D – مقطع نسجي للبرعم الطرفي اخذ مباشرة من الشريحة. (H&E)



اللوحة (2) البرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر جنين الدجاج
(H&E)

- A – غضروف جنيني في طور النمو مكون من خلايا مستديرة في مراحل مختلفة من الانقسام الخلوي . (x400)
- B – 1 - خلايا ميزنكيمية مهاجرة تستعد للتمايز العضلي، 2- خلايا مولدة للعضلات تتجمع حول الهيكل البدائي، 3- غضروف جنيني (زجاجي). (x400)
- C – برعم ريشي قصير 4-البشرة المحيطية، 5-الطبقة القاعدية للبشرة، 6-التكثف الادمي. (x400)
- D – جلد غير مريش، 7-الادمة الكثيفة. (x400)



اللوحة (3) البرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر جنين الدجاج
(Massons Trichrome)

- A – 1-خلايا ميزنكيمياية متجمعة في منطقة عناصر الهيكل البدائي، 2-وريد دموي . (x200)
B – 3-غضروف جنيني نامي . (x200)
C – برعم ريشي قصير . (x400)
D – جلد غير مريش تتوضح فيه الالياف الغراوية (السهم) . (x400)

أجريت الدراسة الحالية لتتبع المراحل الجنينية لنمو البرعم الطرفي وتطوره باختيار أجنة الدجاج وذلك لسهولة الحصول على الاجنة من المفاس المنتشرة في أماكن عديدة من المحافظة وان عملية اخراج الجنين سهلة ولا تسبب أي ضرر للام مما يقلل عدد العينات التي يتم خسارتها جراء الدراسة البحثية ، وهو يطابق بما جاء في [6] ، أن كثير من البحوث التقليدية التي أجريت لتتبع تطور ونمو اطراف الفقرات كانت تتضمن جنين الدجاج بسبب سهولة الدخول والمتابعة المستمرة لتطور الجناح او الساق وان معظم المراحل المبكرة لنمو البراعم الطرفية عند الدجاج مشابهة لما عند الفئران .

تم اختيار اليوم الثامن من عمر الجنين بسبب اكتساب انسجته الميزنكيميا الرقيقة بعض القوة والمتانة وامتداده للخارج ونمو بعض من عناصر الهيكل البدائي بشكل اولي ويكون من الممكن قياسه واخضاعه للعمليات الروتينية لتحضير المقاطع النسجية والطرق التلوينية المختلفة بالاعتماد على الكثير من الدراسات إذ أكدت الدراسات أن البرعم الطرفي يعاني من زيادة في الطول اكثر من بقية الأيام التي سبقتة من عمر الجنين مع نمو وتطور واضحين في انسجته الجنينية التي كانت مكونة فقط من خلايا جنينية متشابهة تعاني انقسامات متتالية ونمو وانتشار واسعين [1;7;8]

أوضحت الدراسة الحالية ان البرعم الطرفي في هذه المرحلة العمرية يكون على شكل برعم طويل ممتد للخارج عاري من الريش ذو هيكل بدائي غضروفي تظهر عناصره بشكل متتابع هي العضد أولا ومن ثم الزند والكعبرة وأخيرا المشط ويبرز الاصبع الثاني كامتداد لحمي خالي من السلاميات وأشار الى ذلك الباحثان [1;9] : اول ما يتكون من عناصر الهيكل الجنيني في برعم الطرف الامامي لجنين الدجاج هو العضد Humerus في اليوم الخامس من عمر الجنين ومن ثم الكعبرة Radius و الزند Ulna بعمر ستة أيام اللذان يكونان متزامنان في وقت النشوء ومتماثلان في النمو ، يظهر الرسغ Carpal والمشط Metacarpal بين اليومين السادس والثامن من عمر الجنين .

بينت الدراسة الإحصائية ان طول البرعم الطرفي يبلغ 8 ملليمتر وسمكه 3 ملليمتر وهذا ما أكده الباحثان [10] بان البرعم الطرفي في عمر ثلاثة أيام يبلغ طوله وعرضه 1 ملليمتر بينما في عمر ستة أيام يقفز طوله الى 6 ملليمتر وسمكه يبقى ملليمتر واحد ولكنه يزداد ملليمترين فقط طولا وسمكا في عمر ثمانية أيام .

تتفق الدراسة الحالية مع ما وصفه الكثير من الباحثين في ان العضلات تنشأ من خلايا ميزنكيمية مهاجرة من البدينات الى البرعم الطرفي وهناك تتجمع حول الهيكل البدائي وتبدأ بالتكاثر والتمايز الى خلايا مولدة للعضلات : ان هذه الهجرة تبدأ مباشرة بعد بداية نشوء البرعم الطرفي وتكون محصورة بحركة الامامي الخلفي ، ولوحظ اثناء مراحل الهجرة ودخول الخلايا المولدة للعضلات Myogenic cells البرعم الطرفي يتم اقصاصها من مناطق معينة وهي منطقة التقدم Progress zone ولب البرعم حيث مواقع تمايز هيكل الطرف [13;12;11].

تناولت الكثير من الدراسات التركيب النسجي للبشرة و الأدمة في البرعم الطرفي لجنين الدجاج في هذا العمر [15; 14] ، وجاء موافقاً لما بينته الدراسة الحالية إذ ظهر الجلد في هذا العمر مكوناً من بشرة مكونة من طبقتين، طبقة داخلية تمثل الطبقة القاعدية تعلوها طبقة رقيقة غامقة اللون هي البشرة المحيطية وهي طبقة جنينية تختفي في الجلد البالغ أما الأدمة فظهرت على شكل نسيج ميزنكيمي تنتشر فيه الخلايا الميزنكيمية والتي تكون نجمية الشكل ، و الياف ميزنكيمية قليلة مع وجود أوعية دموية متفرقة وتظهر البراعم الريشية مكورة الشكل متجهة الى الخارج بفعل نمو كثيف للأدمة .

References

- 1- **Ruth**, B. and Mark, O. (2005) . The Atlas of chick Development. Elsevier Academic Press , California, second edition .pp:105-109.
- 2- **Pisenti** , M. ; Delany ,R.; Taylor , J. , et. al (1999) . Avian Genetic resources for biological research . RePort No. 20 . University of califoornia Division of Agriculture and Natural Resources , Genetic Resources Conser Vation Program , Davis CA USA.120 P.
- 3- **Barna**, M., Pandolfi, P. P. and Niswander, L. (2005). Gli3 and Plzf cooperate in proximal limb patterning at early stages of limb development. Nature 436, 277-281.
- 4- **Al-hajj**, H.(1998). Light microscopic techniques, theory and practice. 1st.Ed.Jordan book center, Amman- Jordan.
- 5- **Galigher**, A. and Kozloff, E., N. (1964). Essential practical micro-technique, Lea & Febiger. United states of America.
- 6- **Logan**, M., Martin, J. F., Nagy, A., Lobe, C., Olson, E. N. and Tabin, C. J. (2002). Expression of Cre Recombinase in the developing mouse limb bud driven by a Prxl enhancer. Genesis 33, 77-80.
- 7- **Olea**, G. and Sand0val, M.(2012). Embryonic development of Columba livia (Aves:columbiformes) from an altricial-precocial perspective. Corrientes, Argentina. Rev Colomba Chenc Pec 2012 ; 25:3-13.
- 8- **Todt**, W. and Fallon, J. (1984) Development of the apical ectodermal ridge in the chick wing bud . J. Embryol. exp. Morph. 80, 21-41 .

- 9- **Wuelling, M.** and Vortkamp, A. (2010). Transcriptional networks controlling chondrocyte proliferation and differentiation during endochondral ossification. *Pediatric nephrology*(Berlin,Germany) 25, 625--631

- 10- **Carter, D.** and Beaupre, G. (2001). *Skeletal Function and Form: Mechanobiology of Skeletal Development, Aging, and Regeneration.* Cambridge, UK: Cambridge University .

- 11- **Tajbakhsh, S.** and Buckingham, M. (2000). The birth of muscle progenitor cells in the mouse: spatiotemporal considerations. In: Ordahl CP, editor. *Current Topics in Developmental Biology, Somitogenesis.* London: Academic Press; 2000. pp. 225–268.

- 12- **Christ, B. ,** Christ M. , Jacob, H-J. (1983). On the origin of the ventrolateral abdominal muscles in the avian embryo . *Anat. Embryol* ; 166: 87-101.

- 13- **Christ, B.** and Ordahl, CP. (1995). Early stages of chick somite development. *Anat. Embryol.* 191:381–396.

- 14- **Kitamura, K.;** Sezaki, M.;and Yanazawa, M. (1990) . Analysis of embryonic chick periderm by monoclonal antibody specific against periderm . *Dev. Growth & Differ.* 32 : 157 – 163 .

- 15- **Dhouailly, D.** (1977) . Dermo – epidermal interactions during morphogenesis of cutaneous appendages in amniotes . *front . Matrix Biol* . 4 : 86 – 121 .

Histological Study of limb bud in chick embryos at eight days age

Abstract

This study was investigated in the lab of histological preparations of technical institute / Kufa laboratory medical dept. and Al-Sadr hospital in Najaf. The period of histological study is six months from 15/3/2015 to 10/9/2015 , ten eggs of chicken were collected, from Al Najaf Alhadeeth hatchery (Abu Sakhir). Ten eggs were hatched for 8 days . Samples of embryos limbs were removed and subjected to histological procedures and used three different stains:

- 1- Haematoxylin- Eosin stain (H&E).
- 2- Masson's Trichrome stain .
- 3- Double staining .

The results of current histological study showed that the embryonic limb at the age of eight days in which a Rudiment skeletal a form of cartilage and not found any ossification which is surrounded by myogenic cells adhesion some of it to form myotubes . The skin differentiated to two layers: Upper layer is epidermis, which arranged in two rows of cells, the outer row is the periderm and the inner row is the basal layer The dermis which formed from loose mesenchymal tissue, it contains mesenchymal cells and fibers. In this stage, dermal condensation can be seen under epidermis that give short feather buds .