

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PROGRAMAÇÃO TÉRMICA FETAL E DURAÇÃO DA
FASE DE ECLOSÃO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE
NA ECLOSÃO, VARIÁVEIS SANGUÍNEAS,
PREFERÊNCIA TÉRMICA E RESPOSTA AO DESAFIO
TÉRMICO DE PINTOS FÊMEAS**

Tamiris Iara Vicentini
Bióloga

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PROGRAMAÇÃO TÉRMICA FETAL E DURAÇÃO DA
FASE DE ECLOSÃO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE
NA ECLOSÃO, VARIÁVEIS SANGUÍNEAS,
PREFERÊNCIA TÉRMICA E RESPOSTA AO DESAFIO
TÉRMICO DE PINTOS FÊMEAS**

Tamiris Iara Vicentini
Orientadora: Prof^aDr^a Isabel Cristina Boleli

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como
parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Zootecnia

2015

V633p Vicentini, Tamiris Lara
Programação térmica fetal e duração da fase de eclosão: efeitos sobre a qualidade na eclosão, variáveis sanguíneas, preferência térmica e resposta ao desafio térmico de pintos fêmeas / Tamiris Lara Vicentini. -- Jaboticabal, 2015
xi, 99 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientadora: Isabel Cristina Boleli
Banca examinadora: José Roberto Sartori, Aureo Evangelista Santana
Bibliografia

1. Duração da eclosão. 2. Espessura da casca. 3. Fêmeas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 591.1:636.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Tamiris Iara Vicentini – filha de Valentim Vicentini e Maria Sueli Guim Vicentini, nasceu no dia 04 de junho de 1990, na cidade de Batatais/SP. Em 2008, ingressou no curso de graduação em Ciências Biológicas, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias–UNESP, campus de Jaboticabal/SP, concluindo, em 2011 e 2012, as modalidades de Licenciatura e Bacharelado, respectivamente. Orientada da professora Dra. Isabel Cristina Boleli, foi bolsista de Treinamento Técnico e de Iniciação Científica, pela FAPESP, de 2009 a 2012. Em março de 2013, ingressou no curso de Mestrado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –UNESP, campus de Jaboticabal, sob orientação da professora Dra. Isabel Cristina Boleli, pelo programa de pós-graduação de Zootecnia, durante o qual foi bolsista CAPES.

“O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância, mas a ilusão do conhecimento.” Stephen Hawking

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”
(Arthur Schopenhauer)*

OFEREÇO

Aos meus pais Maria Sueli e Valentim,
Por todo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado,
me apoiando e me dando forças, conselhos,
carinho, amor e por serem meus guias, meus mestres, meus maiores
exemplos.

Como diria o poeta "*Navegar é preciso, mas ter um porto seguro é
fundamental*"

Obrigada mãe e pai, eu amo vocês!!!

À minha querida Orientadora Isabel

Por todo aprendizado ao longo desses anos, pelo exemplo de conduta, de amor ao ensino, à pesquisa, respeito à profissão e à vida. Por todos os conselhos, puxões de orelha, repreensão e pelo abraço e aperto de mão nos momentos de angústia. Pelo apoio na tomada de decisões importantes. Obrigada acima de tudo, por querer o meu melhor. Sempre vou te-la na memória e no coração. Como já disse uma vez: é a mãe da minha vida acadêmica.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Deus, por sempre estar me iluminando, protegendo e me guiando ao longo dessa jornada, sem Ele ao meu lado, nada disso seria possível, obrigada Deus!!!

Aos ANIMAIS, que com suas vidas proporcionam o avanço da ciência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa para execução desse trabalho.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias– Campus de Jaboticabal, pela oportunidade oferecida para a realização do curso e execução do projeto.

Aos membros da banca pelo aceite do convite e pelas importantes sugestões e observações que com certeza contribuíram para a melhoria do presente trabalho.

Em especial a João Batista Matos Junior, pela parceria do projeto, sem palavras para agradecer-lo, mas obrigada João pela paciência, ajuda, parceria, conselhos e sempre estar junto nos momentos de desespero. Meu muito obrigada, valeu parceiro por tudo.

À Viviane de Souza Morita (MORITA) e Vitor Rosa de Almeida (Vitorino) por todo aprendizado, paciência e carinho antes, durante e depois da execução do projeto, nos momentos felizes e mais difíceis e à amizade estabelecida, experiência e à vivência, na qual foi muito importante durante essa jornada, muito obrigada, ADORO VOCÊS, OBRIGADA AMIGOS!!!

Sem palavras para agradecer a Sarah Sgavioli, por pacientemente me auxiliar com as análises estatísticas, pela disponibilidade e carinho incontestáveis, obrigada Sarticha, muitíssimo obrigada de coração.

Aos meus queridos amigos e irmãos de trabalho, O Time: Viviane, Sarah, Vitor, Evandro, Mariane, Karina, Rachel, Gisele, Ana Flávia, Guilherme, Rafael, Isabela, Joice, Diego, Maria Fernanda, Silvia e Eduardo, Lara, Laka, Elaine, Thais, Carla, por todos os momentos maravilhosos, difíceis, sérios, importantes e cotidianos, obrigada por toda paciência e amizade, vocês são os melhores.

Aos amigos Sr. Orandi e Edmar (Neymar), por todos conselhos, ensinamentos e repreensões necessárias, que sempre me

ensinaram cuidadosamente as técnicas e procedimentos necessários para com as amostras, preparo de reagentes e tudo mais, inclusive os cafés, meu obrigada.

Aos funcionários, em especial: Wagner, Clara, Euclides, William e Caique (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal), Izildo, Robson e Vicente (Setor de Avicultura), Oswaldo e Helinho (Fábrica de Ração) e a todos que colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao Diego Mafra, da Pós Graduação, por toda ajuda, pela paciência e pela disponibilidade incontestável, Diego, muitíssimo obrigada por tudo.

Meu agradecimento mais que especial ao Junior Satin, não tenho palavras para agradecer. Sempre esteve ao meu lado incondicionalmente, apoiando e dando forças para continuar, sem você ao meu lado não sei se conseguiria ser tão forte, meu mais sincero e profundo agradecimento: OBRIGADA!!!

Aos meus queridos, doces e amados amigos, em especial, Lays, Karina, Breno, Junior, Marília, Priscila, Lívia, Isabela, Ana Paula Simões, Juliana Castoldi, Luis Gustavo, Sr. Paulo, por todo companheirismo, paciência, conselhos, risadas e por sempre estarem ao meu lado e compreenderem a ausência em eventos e comemorações por vezes necessárias, obrigada amigos. E aos meus novos e queridos amigos do Laboratório e a minha Chefe Cristina, que desde o primeiro contato sempre me apoiaram e me incentivaram, obrigada Laboratório, vocês são incríveis, adoro vocês!!!

Aos meus familiares e pessoas especiais que sempre me apoiaram, oraram e me incentivaram e pela compreensão na ausência de momentos e eventos importantes, em especial minhas irmãs Talita e Tatiane e Vó Lourdes.

À todas as pessoas citadas e não citadas, meu mais sincero obrigada, pois diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, seja com a força de trabalho, com um sorriso, um abraço, um café ou uma palavra amiga. Agradeço por estarem presentes na minha vida e por me auxiliarem. Cada momento foi único e importante, pois neles cresci e amadureci.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VI
RESUMO-	VIII
ABSTRACT-	X
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
OBJETIVO	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
CAPÍTULO 2- CURTO PERÍODO DE ECLOSÃO EM FRANGOS DE CORTE ENVOLVE DIFERENÇAS SEXUAIS EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS	15
RESUMO-.....	15
ABSTRACT-	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. Material e Métodos	18
3. RESULTADOS.....	21
4. DISCUSSÃO	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO 3- INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA FASE DE ECLOSÃO E TEMPERATURA SOBRE PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E CARATERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PINTOS FÊMEAS NA ECLOSÃO.....	37
RESUMO-	37
ABSTRACT-	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
3. RESULTADOS.....	46
4. DISCUSSÃO	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

CAPÍTULO 4 – EFEITO DA PROGRAMAÇÃO TÉRMICA E DA DURAÇÃO DA ECLOSÃO SOBRE AS TEMPERATURAS DE PREFERÊNCIA E RESPOSTA AO CALOR DE FRANGOS DE CORTE FÊMEAS	70
RESUMO -	70
ABSTRACT -	71
1. INTRODUÇÃO	72
2. MATERIAL E MÉTODOS	73
3. RESULTADOS.....	78
DISCUSSÃO	93
CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2- CURTO PERÍODO DE ECLOSÃO EM FRANGOS DE CORTE ENVOLVE DIFERENÇAS SEXUAIS EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS 15

Tabela 1. Critérios e escore de avaliação da qualidade de pintos recém-eclodidos, adaptado de Tona et al. (2003) 24

Tabela 2. Pesos corporal, do saco de vitelo, do coração e do pulmão, e temperatura retal de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo. 27

Tabela 3- pH e conteúdo de gases, íons, glicose, colesterol total, uréia, ácido úrico, triglicerídeos e proteínas totais do sangue venoso de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo. 29

CAPÍTULO 3- INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA FASE DE ECLOSÃO E TEMPERATURA SOBRE PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PINTOS FÊMEAS NA ECLOSÃO..... 37

Tabela 1. Critérios e pontuação de avaliação da qualidade de pintos recém eclodidos, adaptado de Tona et al. (2003). 44

Tabela 2. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre a perda de massa, condutância, porcentagem de casca e espessura das regiões apical, equatorial e basal de ovos de pintos fêmeas pós-eclosão. 50

Tabela 3. Duração do período entre bicagem interna e externa (D_{BI-BE}), entre bicagem interna e saída da casca (D_{BI-SC}) e total da incubação (D_{I-SC}) de pintos fêmeas, de acordo com a D_{BE-SC} (Curto: 6-10h e Longo: 20-26h) e da temperatura de incubação (TI) ($37,5^{\circ}C$ e $39,0^{\circ}C$). 51

Tabela 4. Efeito da duração do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre o peso corporal (g, %) e a temperatura retal de pintos fêmeas recém-eclodidos. 54

Tabela 5. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre os parâmetros eritrocitários de pintainhos fêmeas pós-eclosão.	56
Tabela 6. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre gases, pH e íons sanguíneos de pintos fêmeas pós-eclosão.	57
Tabela 7. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre o colesterol total, ureia, ácido úrico, triglicérides e proteína total de pintos fêmeas pós-eclosão.	58
Tabela 8. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre as concentrações de T_3 e T_4 (ng/mL) e relação $T_3:T_4$ de pintos fêmeas recém-eclodidos.	59
CAPÍTULO 4 – EFEITO DA PROGRAMAÇÃO TÉRMICA E DA DURAÇÃO DA ECLOSÃO SOBRE AS TEMPERATURAS DE PREFERÊNCIA E RESPOSTA AO CALOR DE FRANGOS DE CORTE FÊMEAS	
70	
Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de inicial (1-21 dias de idade) e crescimento (21-42 dias de idade).	82
Tabela 2. Temperaturas de preferência e retal de frangos de corte fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com a duração entre a bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e com a temperatura de incubação (TI)	83
Tabela 3- Diferença entre a frequência de movimentos respiratórios (FMR) sob calor e sob temperatura de preferência antes da exposição ao calor (FMRC – FMRPAC) e entre a FMR sob calor e sob temperatura de preferência depois da exposição ao calor (FMRC – FMRPDC) de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre a bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e a temperatura de incubação (TI).....	92

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2- CURTO PERÍODO DE ECLOSÃO EM FRANGOS DE CORTE ENVOLVE DIFERENÇAS SEXUAIS EM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS 15

Figura 1. Duração da fase de desenvolvimento embrionário e fetal (do início da incubação até a bicagem interna)(A), das subfases da eclosão entre a bicagem interna e externa (B) e entre a bicagem externa e a eclosão (C), da fase de eclosão (a partir de bicagem interna até a eclosão) (D) e da incubação (do início da incubação até a eclosão) (E). a-b: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0.05$)..... 25

Figura 2. Perda de massa dos ovos (A) e porcentagem (B), condutância (C) e espessura da casca nas regiões apical (D), equatorial (E) e basal (F), de acordo com o sexo. ab: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0.05$)..... 26

Figura 3. Escore médio total de qualidade dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo..... 26

Figura 4. Valores eritrocíticos de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo: (A) RBC: número total de células vermelhas do sangue, (B) VCM: volume corpuscular médio, (C) HCT: hematócrito, (D) Hb: hemoglobina, (E) HCM: hemoglobina corpuscular média e (F) CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular. ab: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0,05$)..... 28

CAPÍTULO 3- INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA FASE DE ECLOSÃO E TEMPERATURA SOBRE PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PINTOS FÊMEAS NA ECLOSÃO..... 37

Figura 1. Temperaturas do ar da incubadora e da casca dos ovos cujos pintos apresentaram fase curta (6-10h) e longa (20-26h) entre bicagem externa e saída da casca, de acordo com a temperatura de incubação (A: 37,5°C; B: 39°C) a partir do 13º dia. Linha vertical corresponde ao início do período de alteração da temperatura de incubação. 48

Figura 2- Pontuação média total de pintos fêmeas recém-eclodidos, de acordo com duração da fase entre bicagem externa e saída da casca (DBE-SC) e com a temperatura de incubação..... 53

CAPÍTULO 4 – EFEITO DA PROGRAMAÇÃO TÉRMICA E DA DURAÇÃO DA ECLOSÃO SOBRE AS TEMPERATURAS DE PREFERÊNCIA E RESPOSTA AO CALOR DE FRANGOS DE CORTE FÊMEAS 70

Figura 1. Tempo médio de permanência dos pintos fêmeas ao longo do gradiente térmico das câmaras climáticas durante os testes de preferência realizados no 1º, 7º e 14º dia de vida (A, B e C, respectivamente), de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação..... 84

Figura 2. Tempo médio de permanência dos pintos fêmeas ao longo do gradiente térmico das câmaras climáticas durante os testes de preferência realizados no 21º, 28º e 35º dia de vida (A, B e C, respectivamente), de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação..... 85

Figura 3. Temperatura retal (A) e superficial do pé (B) de frangos fêmeas com 1-2, 7-8, 14-15, 21-22, 28-29 e 35-36 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C)..... 86

Figura 4. Temperatura superficial do olho e do pescoço de frangos fêmeas com 1-2, 7-8, 14-15, 21-22, 28-29 e 35-36 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C)..... 87

Figura 5. Temperatura superficial da cabeça e do dorso de frangos fêmeas com 1-2, 7-8, 14-15, 21-22, 28-29 e 35-36 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C)..... 88

Figura 6. Temperatura superficial da asa de frangos fêmeas com 1-2, 7-8, 14-15, 21-22, 28-29 e 35-36 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C)..... 89

Figura 7. Frequências de movimentos respiratórios de frangos de corte fêmeas, obtidas ao final da exposição sucessiva à temperatura de preferência térmica, ao estresse térmico (5°C acima da temperatura de preferência térmica) e à preferência térmica (45 minutos cada), de acordo tratamento e semana de criação. A. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Curto período de eclosão. B. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Longo período de eclosão. Fêmeas de incubação à 39°C e com Curto período de eclosão. Fêmeas de incubação à 39°C e com Longo período de eclosão. a-c: médias seguidas por letras distintas em cada idade diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$ 90

Figura 8. Temperatura retal de frangos de corte fêmeas, obtidas ao final da exposição sucessiva à temperatura de preferência térmica, ao estresse térmico (5°C acima da temperatura de preferência térmica) e à preferência térmica (45 minutos cada), de acordo tratamento e semana de criação. A. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Curto período de eclosão. B. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Longo período de eclosão. Fêmeas de incubação à 39°C e com Curto período de eclosão. Fêmeas de incubação à 39°C e com Longo período de eclosão. a-c: médias seguidas por letras distintas em cada idade diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$ 91

LISTA DE ABREVIATURAS

BI- Bicagem interna

BE- Bicagem externa

BI-BE- Bicagem interna até bicagem externa

1-BI- 1° dia de incubação até o momento da bicagem interna (Tempo de desenvolvimento)

BI-SC- Bicagem interna até a saída da casca do ovo

BE-SC- Bicagem externa até a saída da casca do ovo

1-SC- 1° dia de incubação até a saída da casca do ovo (Período total de incubação)

RBC- Número de células vermelhas (eritrócitos)

HCT- Hematócrito

HCM- Concentração corpuscular de hemoglobina

VCM- Volume corpuscular médio

CHCM- Concentração de hemoglobina corpuscular média

PCO₂- Pressão parcial de gás carbônico

PO₂- Pressão parcial de oxigênio

TCO₂- Total de gás carbônico

SO₂- Saturação de oxigênio

BEefc- Excesso de base no sangue

HCO₃- Bicarbonato de sódio

Ca- Cálcio

K- Potássio

Na- Sódio

OSM- Osmolaridade

TAI- Temperatura do ar da incubadora

TA- Temperatura do ar

FMR- Frequência dos movimentos respiratórios

FMR_C- Frequência dos movimentos respiratórios sob calor

FMR_{PAC}- Frequência dos movimentos respiratórios sob temperatura de preferência antes do calor

FMR_{PDC}- Frequência dos movimentos respiratórios sob temperatura de preferência depois do calor



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

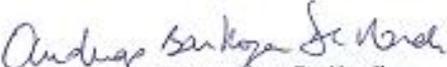


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 022363/12 do trabalho de pesquisa intitulado "Efeito da duração do período de eclosão sobre a qualidade dos pintos e seu desempenho frente ou não a estresse térmico", sob a responsabilidade da Profa Drª Isabel Cristina Boleli está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 08 de novembro de 2012.

Jaboticabal, 08 de novembro de 2012.


Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

PROGRAMAÇÃO TÉRMICA FETAL E DURAÇÃO DA FASE DE ECLOSÃO: EFEITOS SOBRE A QUALIDADE NA ECLOSÃO, VARIÁVEIS SANGUÍNEAS, PREFERÊNCIA TÉRMICA E RESPOSTA AO DESAFIO TÉRMICO DE PINTOS FÊMEAS

RESUMO-Em frangos de corte, as fêmeas apresentam tendência a eclodir mais cedo que os machos, o que pode deixá-las expostas mais tempo ao jejum até o acesso a água e ração na granja, aumentando a heterogeneidade e piorando a qualidade do lote. O presente estudo analisou: (1) se a tendência das fêmeas eclodirem mais cedo está associada a diferenças no tempo de desenvolvimento ou de eclosão e (2) se a duração do período de respiração pulmonar intra-ovo, associada ou não com estresse térmico na fase fetal, interfere na qualidade das fêmeas na eclosão, em seus parâmetros cardiorrespiratórios, variáveis eritrocitárias, temperatura superficial da pele, preferência térmica e resposta ao desafio térmico pós-eclosão. No Capítulo 1 é apresentada uma abordagem teórica sobre o tema. No Capítulo 2 são abordados aves machos e fêmeas quanto a duração do período de eclosão, perda de massa do ovo, porcentagem de casca e condutância, qualidade das aves, variáveis bioquímicas e eritrocitárias do sangue. Para tanto, ovos férteis de matrizes de frangos de corte (Cobb 500[®]) foram incubados a partir do 13^o dia à controle (37,5°C) ou quente (39°C). Foi observado que as fêmeas fazem a bicagem interna mais cedo e rápido do que os machos, bem como o tempo total de incubação; possuem maior espessura de casca do que os machos. Foram observadas diferenças significativas no MCV, HCM e MCHC das aves, além da pO₂ e nas variáveis bioquímicas no sangue. No capítulo 3 pintos fêmeas recém-eclodidos com curto ou longo período entre bicagem externa e eclosão foram avaliados quanto às características das cascas dos ovos pós-incubação, rendimento da incubação e sua duração, qualidade, características eritrocitárias e bioquímicas do sangue, peso corporal e do coração e pulmão. Aves incubadas à temperatura de 39°C apresentaram menor espessura de casca nas regiões apical e equatorial e as aves incubadas à 37,5°C de período curto fazem esse processo mais rápido. Aves de período curto de eclosão apresentam maior peso corporal sem saco de vitelo do que as de período longo e as aves incubadas à 39°C apresentaram menor peso do coração que as aves de período curto de eclosão e menor peso do pulmão direito. Aves incubadas à 39°C, em ambos os períodos de eclosão, apresentam menores valores de hemoglobina, porém maiores valores de RBC e menores de HCM e VCM. Aves do período curto de eclosão apresentaram maiores valores de HCO₃, TCO₂, Cai e glicose e menores para BEecf e sO₂. No capítulo 4, pintos fêmeas com curto e longo períodos entre bicagem externa e eclosão criados em câmaras climáticas sob temperaturas recomendadas para a linhagem foram submetidos aos testes de preferência térmica no 1^o dia de vida e depois semanalmente até os 35 dias de idade e no dia seguinte ao teste de preferência térmica, tais aves foram submetidas a teste de desafio térmico, que consistiu em aumentar em 5°C a partir da temperatura de preferência do dia anterior. Ao final de cada um dos testes tiveram a temperatura retal e superficial de diferentes regiões do corpo aferidas (preferência térmica), e frequência de movimentos respiratórios das aves (desafio térmico). Nos dias 1-2 e 14-15 de vida houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo que nos dias 1-2 as aves de período

curto de eclosão preferiram temperaturas mais altas do que as de período longo e aos 14-15 ocorreu o inverso, as aves de período longo e 37,5°C curto preferiram temperaturas maiores, em adição, aves do período longo de eclosão preferiram temperaturas mais altas do que as do período curto. Durante o teste de desafio as aves de todos tratamentos tiveram aumento na frequência de movimentos respiratórios, porém não da temperatura retal.

Palavras-chave: duração da eclosão, espessura de casca, estresse térmico, fêmeas, variáveis eritrocitárias, sangue.

THERMAL FETAL PROGRAMMING OF BROILERS AND DURATION OF HATCHING STAGE: EFFECTS ON NEONATES QUALITY, CARDIORESPIRATORY CHARACTERISTICS, THERMAL PREFERENCE AND RESPONSE TO HEAT CHALLENGE

ABSTRACT- In broilers, females have a tendency to hatch earlier than males, what can leave them exposed to longer time of fasting until the access to water and feed on the farm, increasing heterogeneity and worsening the quality of the lot. This study analyzed: (1) if the tendency of females hatch earlier is associated with differences in development time or hatching, the RBC indices, the concentrations of gases and minerals in the blood, metabolism or bark characteristics, and if that changes its quality at the outbreak; (2) if the duration of the period of intra-egg pulmonary respiration, associated or not with heat stress during fetal life, interferes with the quality of the females in the outbreak, in their cardiorespiratory characteristics, hematological parameters, thermal preference and response to post-hatching thermal challenge. In Chapter 1 a theoretical approach to the subject is presented. In Chapter 2 are covered male and female birds as the duration of the hatching period, mass loss of the egg, eggshell percentage and conductance, quality of birds, biochemical and blood parameters. For this purpose, fertile eggs arrays of broilers (Cobb 500®) were incubated from day 13 under control temperature (37,5°C) or under hot (39°C). It was observed that females make the internal pipping earlier than males, and the internal pipping take less time until hatching and also the total incubation time when compared to males; They have a higher shell thickness than males. A significant difference was observed in MCV, MCH and MCHC poultry, in addition to pO₂ and biochemical parameters in the blood. In chapter 3, newly hatched chicks females with short or long period between external pipping and hatching were evaluated the characteristics of the egg shells after -incubation, the yield of incubation and duration, quality, blood, heart and lung characteristics. Birds incubated under temperature at 39°C had lower shell thickness in the apical and equatorial regions and the short period of 37,5°C of birds make this process faster. Birds with short period of hatching exhibit greater body weight without calf bag than long period of hatching and the birds from incubation temperature of 39 ° C had lower heart weight and short hatching birds and lower right lung weight. Incubation of birds to 39°C, both hatching period, have lower hemoglobin values, but higher RBC values and lower HCM and VCM. Birds of short hatching period showed higher values of HCO₃, TCO₂, Cai and glucose and lower for BEecf and SO₂. In Chapter 4, chicks females with short and long period between external pipping and hatching created in climatic chambers under recommended temperatures for the line and were subjected to thermal preference tests in the 1st and 2nd day of life and then weekly until 35 days of age, had at the end of each test and rectal surface temperature of different parts of the body (thermal preference). On the day following Thermal testing Preferably, the birds were subjected to thermal challenge test, which consisted of consecutive exposure of the poultry at the preferred temperature, temperature 5° C above the preferred temperature (heat stress) and preferred temperature for 45 minutes each. At the end of each was evaluated rectal and surface temperatures of different regions of the body, and the frequency of respiratory movement of the birds. On days 1-2 and 14-15 of life there was no significant difference between treatments on days 1-2

wherein the short period of hatching birds preferred temperatures higher than the long period and the opposite occurred in the 14-15, the long period birds and 37.5 ° C short preferred higher temperatures, in addition, the long period of hatching birds preferred temperatures higher than the short period. During the challenge test birds of all treatments had increased frequency of respiratory movements, but not rectal temperature.

Keywords: duration of the outbreak, heart, heat stress, females, RBC indices, blood.

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

O aumento crescente do consumo de carne de frango impõe ao Setor Avícola o desafio de aumentar a produção. A incubação artificial tem ganhado cada vez mais destaque no setor avícola, visto que é nessa fase em que podemos manipular as condições extra-ovo para obtenção de aves com as características que mais se aproximam das expectativas, ou seja, excelente qualidade, rápido crescimento, alta conversão alimentar, máximo rendimento de carcaça, expressivo potencial de crescimento, bem como baixo custo para o produtor, aliado a um rápido retorno econômico. Além disso, incubação artificial é um momento no qual os fatores físicos como temperatura, umidade relativa do ar, viragem dos ovos e ventilação, concentração de oxigênio e de gás carbônico podem ser controlados (WILSON, 1991; DECUYPERE e MICHELS, 1992; LEANDRO et al., 1999; DECUYPERE e BRUGGEMAN, 2007).

A seleção genética, aliada ao ajuste de tais fatores, contribuiu para obtenção de linhagens que apresentam ganho de peso em menor espaço de tempo, além de boa qualidade ao nascer. Porém, essas aves tornaram-se altamente sensíveis aos desvios ambientais que se afastam de sua tolerância térmica, fato que implica na necessidade de cuidados especiais com o manejo nos galpões de criação, que no Brasil, são em sua grande maioria galpões abertos.

Concomitantemente, o Brasil é caracteristicamente um país tropical de clima quente e úmido na maioria de suas regiões (RUAS, 1999), o que impõe cuidados mais intensos com o manejo das aves na criação em galpões abertos. Elevação da temperatura e oscilações da umidade relativa do ar são parâmetros climáticos que interferem diretamente no desenvolvimento das aves durante a incubação e ao longo da criação (CESARIO, 2013). Ambas atuam conjuntamente e seus efeitos vêm ganhando cada vez mais importância em estudos da ambientação adequada do animal para sua zona de conforto térmico e as respostas fisiológicas do animal frente a tais condições, a fim de alcançar melhor rendimento de carcaça e garantir sucesso máximo das aves, prevalecendo o bem estar das mesmas (CASSUCE, 2011), uma vez que os

frangos possuem alta sensibilidade a elevadas temperaturas, como também alta sensibilidade aos fatores físicos durante o período de incubação, em especial a temperatura, e que cujos seus efeitos precisam ser elucidados, em ambos os períodos (SGAVIOLI, 2013).

É conhecido que o estresse por calor durante a incubação afeta a perda de massa, a capacidade de condutância da casca dos ovos (MORITA et al., 2010), a eclodibilidade e a qualidade dos pintos na eclosão (FRENCH, 2000; BOLELI, 2013; LEKSRIOMPONG et al., 2007; DECUYPERE e BRUGGEMAN, 2007; WILLEMSSEN et al., 2010; BOLELI e QUEIROZ, 2012), afetando seu crescimento pós-eclosão (DECUYPERE et al., 1979; GEERS et al., 1983; NOY e SKLAN, 1999; NOY et al., 2001; GONZALEZ et al., 2003; HALEVY et al., 2003; UNI et al., 2003; CAREGHI et al., 2005). Além disso, o organismo pode responder às alterações de variáveis ambientais alterando alguns padrões biológicos, que podem acarretar adaptações desejáveis ou indesejáveis para o organismo; de forma que, fatores estressantes podem assumir tanto um papel favorável quanto desfavorável ao crescimento da ave (BOLELI, 2013).

O desenvolvimento in ovo dos pintainhos de corte à 37,5-37,8°C e 60% de umidade relativa dura aproximadamente 21 dias, com a eclosão ocorrendo de 480 a 510 horas de incubação (VIEIRA e POPHAL, 2000; MORITA et al., 2010). Alterações de temperatura, umidade relativa e outras variáveis no interior das incubadoras, contudo, podem interferir na duração total do período de incubação e, conseqüentemente, na janela de eclosão (tempo entre o primeiro e último pinto a eclodir no nascedouro), principal influenciador do tempo de jejum hídrico e alimentar dos pintos entre eclosão e o alojamento, um dos fatores determinantes da heterogeneidade do lote de pintos.

A janela de eclosão varia de 24 a 48 horas (Decuypere et al., 2001). Embora haja grande preocupação por parte das empresas (incubatórios), e de alguns pesquisadores, em estabelecer mecanismos de manejo de incubação que possam propiciar redução na janela de eclosão, visando minimizar os efeitos do jejum hídrico e alimentar entre eclosão e alojamento (HALEVY et al., 2000; RICCARDI et al., 2011; NICHELMANN et al., 2001; NICHELMANN e TZSCHENTKE, 2002; TZSCHENTKE, 2008), faltam dados na literatura referentes aos fatores que determinam o assincronismo na eclosão. Nada se

conhece também à respeito do efeito da duração do período de eclosão, associado ou não com estresse por calor na incubação, sobre a qualidade das aves, seu crescimento até a idade de abate, suas concentrações hormonais e valores hematológicos, sua preferência térmica e resposta ao estresse por calor na criação. Considerando ainda, que as fêmeas eclodem mais cedo que os machos e que ficam mais tempo no nascedouro, que apresentam metabolismo pós-eclosão distintos dos machos, e que são futuras progenitoras, compreender sua fisiologia frente ao estresse é crucial para um melhor manejo da incubação que resulte em máxima qualidade e crescimento e desempenho na vida adulta.

REVISÃO DE LITERATURA

Janela de eclosão

A janela de eclosão corresponde ao período de tempo entre o primeiro e o último pinto à eclodir no nascedouro. Sua amplitude é fator importante na prática de incubação e manejo pós-eclosão, uma vez que determina o tempo de jejum hídrico e alimentar dos pintos entre eclosão e o alojamento. Segundo Decuyper et al. (2001), a janela de eclosão varia de 24 a 48 horas. Todavia, na prática dos incubatórios comerciais, considerando o tempo gasto com sexagem, vacinação, embalagem e transporte, os pintos podem ser expostos à 72 horas ou mais ao jejum até o recebimento de água e ração ao serem alojados. Isso gera grande preocupação e interesse por parte das empresas (incubatórios) e de alguns pesquisadores de estabelecerem novos manejos de incubação que propiciam a redução da janela de eclosão, visando minimizar os efeitos do jejum hídrico e alimentar entre eclosão e alojamento (HALEVY et al., 2000; RICCARDI et al., 2011; NICHELMANN et al., 2001; NICHELMANN e TZSCHENTKE, 2002; TZSCHENTKE, 2008), uma vez que isso influencia a qualidade dos pintos. Quanto maior a amplitude da janela de eclosão maior a heterogeneidade do lote dos pintos ao alojamento e à idade de abate. Dessa forma, diminuir a amplitude da janela de eclosão, ou seja, aumentar o

sincronismo na eclosão pode aumentar a homogeneidade dos lotes e, conseqüentemente, seu desempenho.

O desenvolvimento ontogenético *in ovo* de muitas aves precoces demora aproximadamente 21 dias, sendo o primeiro terço da incubação correspondente ao desenvolvimento embrionário (morfogênese) e os dois últimos ao fetal, durante o qual ocorre crescimento, diferenciação morfofuncional e sexo-específica. Contudo, a eclosão de pintainhos de corte ocorre dentro de intervalo de tempo que pode variar de 480 a 510 horas, à temperatura de incubação de 37,5-37,8°C e 60% de umidade relativa do ar, considerando-se 21 dias de incubação (VIEIRA e POPHAL, 2000; MORITA et al., 2010). Fatores como idade da matriz, tempo e temperatura de armazenamento do ovo fértil, temperatura e umidade de incubação, peso do ovo, época do ano e tipo de ave alteram a duração total do período de incubação (WILSON, 1991; MORITA et al., 2009; HALLE e TZSCHENTKE, 2011; WILLEMSSEN et al., 2011) e, conseqüentemente, a janela de eclosão.

Considerando que as fêmeas eclodem mais cedo que os machos, que ficam mais tempo no nascedouro, que apresentam metabolismo pós-eclosão distinto dos machos e que são futuras progenitoras, compreender sua fisiologia frente ao estresse é crucial para um melhor manejo da incubação que possa maximizar sua qualidade, seu crescimento e desempenho pós-eclosão.

Temperatura de incubação

Durante o desenvolvimento *in ovo*, o organismo não é capaz de regular sua temperatura corporal, o que possibilita que as condições ambientais na incubação interfiram em características fisiológicas dos pintos (WALTER e SEEBACHER, 2007). Vários estudos têm analisado se manipulação térmica da incubação pode induzir adaptações epigenéticas que tornem os frangos de corte mais resistentes à alterações ambientais que fogem das condições de seu conforto térmico. Apesar das diferenças de crescimento existentes entre os sexos, esses estudos analisam machos, sendo a literatura carente de estudos que mostrem a ação da temperatura do ambiente de incubação sobre a resposta das fêmeas.

Segundo Decuypere e Michels (1992), a temperatura de incubação é o fator físico mais importante na determinação do desenvolvimento e eclodibilidade dos pintainhos. A temperatura de 37,8°C foi estabelecida como temperatura ótima de incubação para ovos de galinha por Barott, em 1937, por propiciar maior eclodibilidade dos ovos e melhor qualidade da ave recém-eclodida e, desde então, tem sido utilizada nas incubações dos ovos. A exposição do embrião a altas ou baixas temperaturas durante o período de incubação tem diferentes efeitos sobre o seu desenvolvimento, podendo seu mecanismo fisiológico ser afetado em muitos aspectos. Em geral, alta temperatura de incubação acelera o desenvolvimento *in ovo*, levando a uma redução do tempo de incubação (KAPLAN et al., 1978), enquanto que baixas temperaturas causam efeito oposto (BLACK e BURGGREN, 2004). Temperatura de incubação muito baixa ou alta aumenta a mortalidade embrionária, reduzindo, por conseguinte, a eclodibilidade e a qualidade dos recém-eclodidos (DECUYPERE et al., 1979; SUAREZ et al., 1996). Além disso, temperatura de incubação pode influenciar a preferência térmica dos patos na primeira semana de idade. Patos provenientes de ovos incubados à temperaturas abaixo ou acima da termoneutra preferem temperaturas mais baixa e mais alta, respectivamente, do que a recomendada (TZSCHENTKE e NICHELMANN, 1997). Frangos de corte, por sua vez, preferem temperaturas de criação mais elevada quando oriundos de ovos incubados à 39°C do que à 37,5°C (MORITA, 2015).

Estresse por calor na criação

Os frangos suportam mais o calor nas duas semanas iniciais de vida, a partir da qual a resistência diminui, evidenciando que frangos de corte são mais resistentes ao frio do que ao calor (NASCIMENTO et al., 2012, 2014). Segundo Bícego et al. (2007), para que as aves sejam capazes de suportar as alterações ambientais, elas utilizam-se de recursos comportamentais e autonômicos de produção, dissipação e armazenamento de calor para manutenção da homeotermia. Sob condições de excesso de calor, característica típica de um país tropical, as aves iniciam um processo de diminuição de ingestão de ração e aumento no consumo de água, acarretando

em perda de peso corporal da ave e seu de bem estar, caso a situação comece a se repetir constantemente (CASSUCE, 2011). Quando submetido à ambientes quentes, o organismo ativa mecanismos de perda de calor, como por exemplo, resfriamento evaporativo respiratório, o qual sozinho não é capaz de manter a temperatura corporal dentro dos limites fisiológicos, estando a tolerância ao calor nas aves mais relacionada à sua capacidade de diminuir a produção endógena de calor (NICHELMANN e TZSCHENTKE, 2002). Isso, todavia, compromete seu desempenho e produtividade (FURLAN e MACARI, 2002). Dessa forma, é necessário que as aves sejam mantidas dentro dos limites térmicos aceitáveis ao longo de toda criação, ou seja, nos limites da zona de conforto, também denominada como zona termoneutra, na qual a ave utiliza minimamente a energia metabolizável para a termogênese e a energia líquida de produção é alta (SAKOMURA et al., 2005).

Aves sob estresse devido à alta temperatura ambiente podem apresentar desequilíbrios fisiológicos metabólicos do sangue, moleculares e hormonais [triiodotironina (T_3), tiroxina (T_4) e corticosterona] (BRANCO et al., 2005; YALCIN et al. 2009). A corticosterona é um hormônio liberado nas aves em função do estresse, como altas temperaturas, podendo ocorrer sintomas semelhantes aos de doenças cardiovasculares, como a arteriosclerose, ascite, bem como desequilíbrio imunológico (GRANDIN,1998; YALCIN et al., 2009). Pintainhos expostos a baixas temperaturas nas duas primeiras semanas pós-eclosão elevam a conversão de T_4 em T_3 , aumentando a concentração sanguínea de T_3 (Collin et al., 2004). Alta temperatura durante três horas em diferentes etapas da incubação leva a diminuição da concentração plasmática de T_3 e redução da produção de calor dos pintos expostos a desafio térmico por calor aos três dias de idade (YAHAV et al., 2004). Resposta semelhante foi encontrado por Yalcin et al. (2009), que expondo os ovos à 38,5°C por 6 horas, do 10° ao 18° dia de incubação, registrou diminuição dos níveis de T_3 , o que evidenciou ser possível elevar a capacidade de resistência ao calor dessas aves pré-expondo-as à elevação térmica durante o período de vida fetal.

Variáveis respiratórias e bioquímicas do sangue são importantes sinalizadores de alterações fisiológicas frente a agentes estressores, tal como temperatura (TASAWA et al. 1971a,b; TASAWA, 1986; TASAWA et al., 1988; BORGES, et al., 2003; TASAWA et al. 2012). Molenaar et al. (2011) relatam

que além de prejudicar a eclodibilidade, eclosão e mortalidade, as variações de temperatura no ambiente também podem afetar o desenvolvimento dos órgãos, como coração e pulmão. Outros estudos demonstraram que exposição à 40°C no 19º e 20º dia de incubação e 38,9°C durante o final da incubação reduziu o peso do coração (LEKSRISOMPONG et al., 2007; LOURENS et al., 2007).

Nas aves adultas, a elevação da frequência respiratória acarreta na diminuição significativa de dióxido de carbono (CO_2), interferindo no equilíbrio ácido-básico sanguíneo. Dessa forma, a pressão parcial de CO_2 (pCO_2) diminui, e provoca queda na concentração de ácido carbônico (H_2CO_3), hidrogênio (H^+) e elevação do pH sanguíneo. Em defesa, o organismo responde aumentando a excreção de HCO_3^- nos rins e diminuindo a excreção de H^+ na tentativa de manter o equilíbrio ácido-base da ave (RONDÓN et al., 2000; BORGES, et al., 2003; MUSHTAQ et al., 2005), também denominada alcalose respiratória. Para a manutenção do equilíbrio ácido-base dos fluidos corporais e da pressão osmótica, é de suma importância a presença dos íons sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloro (Cl^-). O estresse calórico afeta diretamente a concentração de Na^+ , K^+ e Cl^- do plasma, sendo que conforme a temperatura aumenta os níveis de K^+ e Na^+ diminuem (BORGES et al., 2002), e o Cl^- aumenta (BELAY e TEETER, 1993). O aumento no Cl^- provoca o declínio na excreção de H^+ e reabsorção de HCO_3^- pelos rins, contribuindo com uma possível acidificação do sangue e por consequência, mudanças nos níveis de Na^+ , K^+ e Cl^- e comprometimento das funções celulares (BORGES, et al., 2003; MUSHTAQ et al., 2005).

Frangos são convencionalmente criados sob as temperaturas recomendadas para a linhagem, as quais foram estabelecidas no passado, baseadas em aves oriundas de ovos incubados à temperatura de 37,5-37,8°C. Embora vários autores tenham estudado o efeito da temperatura de incubação sobre a duração do período de incubação e janela de eclosão de frangos de corte (DECUYPERE et al., 1992; LEKSRISOMPONG et al., 2007; YALCIN et al., 2008, MORITA et al., 2010, WILLEMSSEN et al., 2011; MAATJENS et al., 2014), faltam dados na literatura dos efeitos da duração do período de eclosão, associado ou não à alta temperatura de incubação, sobre a preferência térmica, o potencial cardiovascular, respiratório, metabólico e de crescimento

dos frangos de corte, frente ou não a condições de estresse calórico, sobretudo de fêmeas.

OBJETIVO

Neste estudo, objetivou-se analisar: (i) se eclosão mais rápida de pintos de corte fêmeas em comparação com os machos envolve diferenças sexo-específicas nas variáveis de incubação e na qualidade e variáveis sanguíneas (eritrograma, gasometria, eletrólitos, bioquímica do sangue) na eclosão, (ii) se duração da fase de eclosão entre bicagem externa e saída da casca, associada ou não a alta temperatura de incubação na fase fetal, afeta as variáveis de incubação, a qualidade, variáveis sanguíneas e as concentrações hormonais (T_3 , T_4 e $T_3:T_4$) na eclosão, e a preferência térmica e resposta ao desafio térmico de frangos de corte ao longo do período criação.

REFERÊNCIAS

BICEGO, K.C.; BARROS, R.C.H.; BRANCO, L.G.S. Review Physiology of temperature regulation: Comparative aspects. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v.147, p.616–639, 2007.

BLACK, J.L. BURGGREN, W.W. Acclimation to hypothermic incubation in developing chicken embryos (*Gallus domesticus*). **The Journal Experimental Biology**, v.207, p. 1553-1561, 2004.

BELAY, T.; TEETER, R. G. Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure. **Poultry Science**, v.72, p.116-124, 1993.

BOLELI, I. C.; QUEIROZ, S. A. Effects of incubation temperature and relative humidity on embryonic development in eggs of Red-Winged Tinamou (*Rhynchotus rufescens*). **International Journal of Poultry Science**, v.11, p.517-523, 2012.

BOLELI, I.C., Estresse, mortalidade e malformações. In: **Manejo da Incubação**, MACARI, M. et al. Jaboticabal FACTA, 3 ed. , 2013, 468p.

BORGES, S. A.; FISCHER DA SILVA, A. V.; ARIKI, J.; HOOGE, D. M.; CUMMINGS, K. R. Dietary electrolyte balance for broiler chickens under

moderately high ambient temperatures and relative humidities. **Poultry Science**, v.82, p. 301-308, 2003.

BRANCO, L.G.; STEINER, A.A.; BICEGO, K.C., Regulação neuroendócrina da temperatura corporal. In: Antunes-Rodrigues, J. Moreira, A.C., Elias, L.L.K, Castro M., (Ed). **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**, Guanabara Koogan S.A. Brasil, p.64-80, 2005.

CAPALBO, A. C. **Respostas respiratórias à hipóxia e hipercapnia de frangos de corte provenientes de ovos incubados em diferentes temperaturas**. Dissertação de Mestrado, Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, 2013, 73p.

CAREGHI C., TONA K., ONAGBESAN O., BUYSE J., DECUYPERE E. BRUGGEMAN V. The Effects of the Spread of Hatch and Interaction with Delayed Feed Access After Hatch on Broiler Performance Until Seven Days of Age. **Poultry Science**, v.84, p.1314–1320, 2005

CASSUCE, D.C. **Determinação das faixas de conforto térmico para frangos de corte de diferentes idades criados no Brasil. Viçosa**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, MG, 91 p., 2011.

CESARIO, M.D. Desenvolvimento embrionário pré e pós-postura – períodos críticos. In: MACARI, M. et al. (Eds.). **Manejo da Incubação**. 3.ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2013.

COLLIN, A.; BUYSE, J.A.S P. V.; DARRAS, V. M.; MALHEIROS, R. D.; MORAES, V. M. B.; REYNS, G. E.; TAOUIS, M.; DECUYPERE, E. Cold-induced enhancement of avian uncoupling protein expression, heat production, and triiodothyronine concentrations in broiler chicks. **General and Comparative Endocrinology**, v.130, p.70–77, 2004.

DECUYPERE, E.; NOUWEN, E.J.; KUHN, E.R.; GEERS,R.; MICHELS, H. Iodohormones in the serum of chick embryos and post-hatching chickens as influence by incubation temperature. Relationship with the hatching process and thermogenesis. **Annales De Biologie Animale, Biochimie, Biophysique**, v. 19, n. 6, p. 1713–1723, 1979.

DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. **World's Poultry Science**, v.48, p.28-38, 1992.

DECUYPERE, E., K. TONA, V. BRUGGEMAN, BAMELIS, F. The day-old chick, a crucial hinge between breeders and broilers. **World's Poultry Science Journal**, v. 57, p.127–138., 2001.

DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, p. 1037-1042, 2007.

FARIA FILHO, D.E. **Efeito de dietas com baixo teor protéico, formuladas usando o conceito de proteína ideal, para frangos de corte criados em temperaturas fria, termoneutra e quente.** Dissertação de Mestrado, Jaboticabal/SP, Universidade Estadual Paulista, 2003, 85p.

FRENCH, N. A. Effect of short periods of high incubation temperature on hatchability and incidence of embryo pathology of turkey eggs. **British Poultry Science**, v. 41, p. 377–382, 2000.

FURLAN, R. L.; MACARI, M. Termorregulação. In: **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.** MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. 2th rev. ed. Jaboticabal: Funep, 2002, 209-230p.

GEERS, R.; MICHELS, H.; NACKAERTS, G., KONINGS, F. Metabolism and growth of chickens before and after hatch in relation to incubation temperatures. **Poultry Science**, v.62, p.1869-1875, 1983.

GONZALES, E., Kondo, N., Saldanha, E. S., Loddy, M. M., Careghi, C., Decuyper, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, v. 82, p.1250–1256, 2003.

GRANDIN, T. Objective scoring on animal handling and stunning practices in slaughter plants. **Journal of The American Veterinary Medical Association, Chicago**, v.212, p.36-39, 1998.

HALLE, I., TZSCHENTKE, B. Influence of temperature manipulation during the last 4 days of incubation on hatching results, post-hatching performance and adaptability to warm growing conditions in broiler chickens. **Japan Poultry Science Association**, v.48, p. 97-105, 2011.

HALEVY, O., GEYRA, A., BARAK, M., UNI, Z., SKLAN, D. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. **Journal of Nutrition**, v.130, p.858-864, 2000.

HALEVY, O., NADEL, Y., BARAK, M., ROZENBOIM, I., SKLAN, D. Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poults. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1376–1382, 2003.

KAPLAN, S., KOLESARI, G.L., BAHR, J.P. Temperature dynamics of the fertile chicken egg. **Animal Journal Physiology**, v.234, p.183–187, 1978.

LOURENS A., VAN DEN BRAND H., HEETKAMP, M.J.W. et al. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. **Poultry Science**, v.86, p.2194-2199, 2007.

LEANDRO, N.S.M. et al. Incubabilidade e qualidade de pintos de ovos de matrizes de frangos de corte submetidos estresse de temperatura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p.39-44, 1999.

LEKSRISOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, W.; BRANNAN, K. E.; BRAKE, J. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chick. **Poultry Science**, v. 86, p. 685–2691, 2007.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. **Poultry Science**, v. 84, p. 914-920, 2005.

MAATJENS, C.M.; REIJRINK, I. A. M.; MOLENAAR, R.; VAN DER POL, C. W.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Temperature and CO₂ during the hatching phase. I. Effects on chick quality and organ development. **Poultry Science**, v.93, p.645–654, 2014.

MOLENAAR, R.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R. et al. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period. **Poultry Science**, v.90, p.1257–1266, 2011.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; CARGNELUTTI FILHO, A. Hematological values and body, heart and liver weights in male and female broiler embryos taken from eggs of young and old breeders. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.11, p.19-27, 2009

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; OLIVEIRA, J. A. Hematological and Incubation Parameters of Chicks from Young Breeders Eggs: Variation with Sex and Incubation Temperature. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 6, p.606-612, 2010.

MORITA, V.S. **Programação térmica fetal: efeitos sobre a temperatura de preferência e características morfofisiológicas de frangos de corte**. Jaboticabal. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, 2015, 134p.

MUSHTAQ, T.; SARWAR, M.; NAWAZ, H.; MIRZA, M. A.; AHMAD, T. Effect and interactions of dietary sodium and chloride on broiler starter performance (hatching to twenty-eight days of age) under subtropical summer conditions. **Poultry Science**, v.84,p. 1716-1722, 2005.

NASCIMENTO, S. T.; SILVA, I. J. O.; MOURÃO, G. B.; CASTRO, A. C. Bands of respiratory rate and cloacal temperature for different broiler chicken strains. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p. 318–1324, 2012.

NASCIMENTO, S. T.; SILVA, I. J.O.; MAIA, A. S. C.; CASTRO, A. C.; VIEIRA, F. M. C. Mean surface temperature prediction models for broiler chickens- a study of sensible heat flow. **International Journal of Biometeorology**, v. 58 p. 195–201, 2014.

NICHELMANN, M.; TZSCHENTKE, B. Ontogeny of thermoregulation in precocial birds. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v.131, p.751–763, 2002.

NICHELMANN, M.; JANKE, O.; HOCHERL, J. et al. Development of physiological control system in avian embryos. **News Biomedical Science**, v.1, p.15-25, 2001.

NOY, Y., SKLAN, D. Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, v.78, p.1750–1756, 1999.

NOY, Y., GEYRA, A., SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, v.80, p.912–919, 2001.

RAHN, H. CHRISTENSEN, V. L., EDENS, F.W. Changes in shell conductance, pore, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. **Poultry Science**, v.60, p.2536- 254, 1981.

RICCARDI, R. R.; MALHEIROS, E. B.; BOLELI, I. C. Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to post hatch fasting. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 23-29, 2011.

RONDÓN, E. O. O.; MURAKAMI, A. E.; FURLAN, A. C.; GARCIA, J. Exigências nutricionais de sódio e cloro e estimativa do melhor balanço eletrolítico da ração para frangos de corte na fase pré-inicial (1-7 dias de idade). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1162-1166, 2000.

RUAS. **Avaliação de Conforto Térmico: Contribuição à aplicação prática das normas internacionais**. Dissertação de Mestrado Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Civil, Campinas, 79p., 1999.

SAKOMURA, N. K.; BASAGLIA, R.; FORTES, C. M. L. S. et al. Modelos para determinar as exigências de energia metabolizável para poedeiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.507-515, 2005.

SGAVIOLI, S. **Vitamina c intra-ovo e estresse por calor na incubação em frangos de corte**. Jaboticabal. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, 2013, 222p.

SUAREZ, M. E., WILSON, H. R., MCPHERSON, B. N., MATHER, F. B. AND WILCOX, C. J. Low temperature effects on embryonic development and hatch time. **Poultry Science**, v.75, p. 924–932, 1996.

TAZAWA, H., MIKAMI, T., YOSHIMOTO, C., Respiratory properties of chicken embryonic blood during development. **Respiration Physiology**, v.13, p. 160–170,. 1971a.

TAZAWA, H., MIKAMI, T., YOSHIMOTO, C., Effect of reducing the shell area on the respiratory properties of chicken embryonic blood. **Respiration Physiology**, v.13, p.352–360, 1971b.

TAZAWA, H., Acid–base equilibrium in birds and eggs. In: Heisler, N. (Ed.), *Acid–Base Regulation in Animals*. Elsevier, Amsterdam, pp. 203–233. 1986.

TAZAWA, H., NAKAZAWA, S., OKUDA, A., WHITTOW, G.C. Short-term effects of altered shell conductance on oxygen uptake and hematological variables of late chicken embryos. *Respiration Physiology*, v. 74, p.199–210, 1988.

TAZAWA H., ANDREWARTHA, S.J., BURGGREN, W.W. Acute regulation of hematocrit and blood acid–base balance during severe hypoxic challenges in late chicken embryos (*Gallus gallus*). *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v.184, p. 86– 96, 2012.

TZSCHENTKE, B. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. *Computers and electronics in agriculture*, v.64, p.61–71, 2008.

TZSCHENTKE, B., NICHELMANN, M. Influence of prenatal and postnatal acclimation on nervous and peripheral thermoregulation. *Annals New York Academic of Sciences*, 813, p.87–94. 1997.

UNI, Z., SMIRNOV, A., SKLAN, D. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. *Poultry Science*, v. 82, p.320–327, 2003.

VIEIRA, S.L., POPHAL, S. Nutrição Pós-Eclosão de Frangos de Corte. *Revista Brasileira de Ciências Avícolas*, v.2, n.3, p.189-199, 2000.

WALTER, I., SEEBACHER, F. Molecular mechanisms underlying the development of endothermy in birds (*Gallus gallus*): a new role of PGC-1. *Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, v. 293, p.2315-2322, 2007.

WILLEMSSEN, H.; KAMERS, B.; DHALKE, F., HAN, H., SONG, Z., ANSARI PIRSARAEI, Z., TONA, K., DECUYPERE, E., EVERAERT, N. High and low temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poultry Science*, v.89, p.2678-2690, 2010.

WILLEMSSEN, H.; LI, Y.; WILLEMS, Y.; FRANSSENS, E.; WANG, Y. e DECUYPERE, E. Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. *Everaert Poultry Science*, v.90, p.1302-1312, 2011

WILSON, H. R. Physiological requirements of the developing embryo: Temperature and turning. In: *Avian Incubation*. S. G. Tullet (ed.) Butterworth-Heinemann, London, 1991.

YAHAV, S.; COLLIN, A.; SHINDER, D.; PICARD, M. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. *Poultry Science*, v.83, p.1959–1963, 2004.

YALÇIN, S.; ÇABUK, M.; BRUGGEMAN, V., BABACANOĞLU, E., BUYSE, J., DECUYPERE, E., SIEGEL, P.B. Acclimation to heat during incubation: 3. Body weight, cloacal temperatures, and blood acid-base balance in broilers exposed to daily high temperatures. **Poultry Science**, v.87, p.2671-2677, 2008.

CAPÍTULO 2 - PERÍODO DE ECLOSÃO EM FRANGOS DE CORTE: DIFERENÇAS SEXUAIS BIOQUÍMICAS SÉRICAS E ERITROCITÁRIAS

RESUMO– Foi analisado se a tendência dos pintos fêmeas eclodirem mais cedo que os machos está relacionada com diferenças entre os sexos na duração do desenvolvimento *in ovo* e da fase de eclosão e nas variáveis sanguíneas e qualidade das aves na eclosão. Quatrocentas e cinquenta ovos férteis de matrizes de frango de corte foram incubados em três incubadoras (150 ovos/incubadora), mantidas à 37,5°C e 60% de umidade relativa durante todo o período de incubação. A duração da incubação, da fase de eclosão (entre bicagem interna e eclosão) e da subfase de eclosão entre bicagem interna e externa foram maiores nos machos ($p \leq 0,05$). Não ocorreram diferenças ($P > 0,05$) entre os sexos na duração do desenvolvimento embrionário + fetal, da subfase de eclosão entre bicagem externa e eclosão, nos pesos corporal, do saco de vitelo, do coração e do pulmão, nas concentrações de eletrólitos e gases e nas variáveis bioquímicas do sangue. No entanto, RBC, Hb e CHCM foram maiores nos machos, enquanto que de VCM e HCM foram maiores nas fêmeas ($P \leq 0,05$). Além disso, os machos apresentaram menor concentração de colesterol total e triglicérides, mas maior concentração de uréia, ácido úrico e proteína total no sangue do que as fêmeas ($P \leq 0,05$). Em conjunto, esses resultados sugerem que as fêmeas têm menos recursos para se adaptar a uma câmara de ar-hipóxica e hipercápnica e, assim, aceleraram o processo de eclosão entre a bicagem interna e externa.

Palavras chave: Tempo de incubação, bicagem, sangue, eclosão, sexo.

CHAPTER 2 - PERIOD HATCHING IN BROILER: SEX DIFFERENCES AND SERUM BIOCHEMICAL ERYTHROCYTE

ABSTRACT-In this study, we assessed whether early female broiler hatching compared to males relates to differences in developmental and hatching times, blood characteristics and quality of hatchling. Four-hundred and fifty fertile eggs from broiler breeders were incubated in three incubators (150 eggs/incubator), maintained at 37.5°C and 60% relative humidity during the entire incubation period. Incubation time, hatching time between internal and external pipping, hatching time between internal pipping and hatching were longer in males ($P \leq 0.05$). However, embryonic + fetal development time and time between external pipping and hatching were not influenced by sex ($P > 0.05$). There was no difference ($P > 0.05$) in the body, yolk-sac, heart and lung weights, and blood ions, gases and glucose concentrations between the sexes. However, RBC, Hb and MCHC were higher in males, whereas MCV and MCH were higher in females ($P \leq 0.05$). Also, males had lower total cholesterol and triglyceride concentrations in blood, but higher urea, uric acid and total protein concentrations when compared to females ($P \leq 0.05$). Altogether, these results suggest that females have fewer resources to adapt to a hypoxic and hypercapnic air-chamber and, thus accelerate hatching between the internal and external pipping.

Key words- Incubation time, pipping, blood, hatching, Sex

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por carne de aves desafia continuamente os avicultores a aumentarem a produção, mantendo a qualidade do produto, baixos custos e retornos econômicos. Maximização na produção de frangos de corte envolve, entre outras coisas, aumento da homogeneidade e qualidade dos lotes de pintos, uma vez que isso contribui para maior homogeneidade no crescimento e sobrevivência dos lotes de frangos.

Assincronia na eclosão constitui um dos fatores que afetam a homogeneidade na qualidade dos pintos de mesmo lote. Eclosão assíncrona gera uma janela de nascimento entre o primeiro e último pinto a eclodir, cuja duração pode variar de 24 a 48 horas dentro de um mesmo lote (DECUYPERE et al., 2001; TONA et al., 2003). Esta janela de tempo priva os primeiros pintos eclodidos do acesso à água e alimento por um período mais longo do que os pintos eclodidos mais tardiamente (DECUYPERE et al., 2001). Atraso no acesso ao alimento provoca perda de peso (CAREGHI et al., 2005; LAMOT et al., 2014) e afeta o crescimento das aves (NOY e SKLAN, 1999; NOY e UNI, 2010; HALEVY et al., 2003; UNI et al., 2003; CAREGHI et al., 2005; GONZALES et al., 2008). Tempo de nascimento também influencia o comportamento precoce do pintinho (LOTDEVT e JENSEN, 2014), o desenvolvimento gastrointestinal, os níveis hormonais e o sistema imunológico (DECUYPERE e BRUGGEMAN, 2007).

Os efeitos da idade fértil (RUIZ e LUNAM, 2002), do tamanho de ovo (ULMER FRANCO et al., 2010) e duração de armazenamento dos ovos (REIS et al., 1997; TONA et al., 2003) sobre a duração da incubação também foram documentados. Além disso, as fêmeas tendem a eclodir mais cedo do que os machos (REIS et al., 1997). Eclosão mais cedo de fêmeas indica que elas permanecem mais tempo privadas de água e ração do que os machos, o que aumenta a heterogeneidade e diminui a qualidade dos lotes produzidos nas incubadoras, afetando a qualidade do lote de alojamento. No entanto, não há diferença no peso corporal entre os sexos (REIS et al., 1997).

Estudos anteriores geralmente têm abordado incubação assíncrona como uma alteração no tempo de desenvolvimento embrionário, com pouca atenção à duração das diferentes fases da incubação (desenvolvimento embrionário + fetal e eclosão) e subfases da eclosão (tempo entre bicagem

interna e externa e entre bicagem externa e eclosão). Além disso, fatores subjacentes referentes ao tempo de eclosão das fêmeas não foram ainda elucidados.

Na eclosão, a bicagem interna corresponde à fase de incubação na qual a ave perfura a câmara de ar com o bico e inicia a respiração pulmonar (MORTOLA, 2009). Após a bicagem interna, o déficit de O₂ e saturação de CO₂ dentro da câmara de ar representam os principais fatores indutores da bicagem externa e a eclosão de fato (MORTOLA, 2009). Os elevados investimentos em energia associados à quebra da casca do ovo caracteriza a bicagem externa e eclosão real. No seu conjunto, estes resultados sugerem que as diferenças dependentes do sexo no tempo para incubação pode estar associado com o transporte de gás no sangue e no metabolismo de energia; contudo, até o momento, não foram encontrados trabalhos que testaram esta hipótese.

Nesse estudo, analisou-se se há diferenças relacionadas ao sexo no padrão de desenvolvimento *in ovo* e de eclosão e nas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas do sangue que expliquem a eclosão mais cedo das fêmeas. A obtenção de tais dados auxilia na formação de base sólida de conhecimento sobre o período de eclosão, que pode contribuir para estabelecimento de manejo de incubação que aumente o sincronismo na eclosão.

2. Material e Métodos

Condução Experimental

O protocolo experimental utilizado foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo 022383/12), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista-UNESP. Quatrocentos e cinquenta ovos férteis de matrizes de corte com 56 semanas de idade (Cobb®-500), obtidos de Incubatório comercial (Itirapina-SP-Br), foram distribuídos homoganeamente pelos seus pesos (65-70g) em três incubadoras (Premium Ecológica IP220, 150 ovos/incubadora) com controle automático de temperatura e giro a cada duas horas até o 18º dia. As incubadoras foram mantidas à 37,5°C e 60% de umidade relativa do ar até a eclosão.

Duração da incubação, desenvolvimento in ovo e eclosão

Foram analisadas, em horas, as variáveis: duração da incubação (do início da incubação até a eclosão), duração do desenvolvimento embrionário e fetal (do início da incubação até a bicagem interna), duração da eclosão (da bicagem interna até a eclosão, $1 - B_i$), duração das subfases da eclosão entre bicagem interna e externa ($B_i - B_E$) e entre bicagem externa e eclosão ($B_E - SC$). Para determinar o momento da bicagem interna, os ovos foram submetidos à ovoscopia a cada duas horas, a partir do dia 19º dia de incubação. A ocorrência de bicagem externa foi determinada visualmente por observação a cada 15 minutos.

Perda de massa de ovo, e peso e espessura da casca

A perda de massa do ovo correspondeu a perda de massa(g) do primeiro ao 19º dia de incubação. Para tanto, todos os ovos foram pesados antes da incubação e, no 19º dia de incubação. A condutância do vapor de água da casca do ovo foi calculada de acordo com Christensen et al. (1994), pela seguinte fórmula: $C = mL/SVP$, onde C = condutividade, ML = perda de massa de ovos, SVP = pressão de vapor saturada de 23.86mm/Hg e 25°C, utilizando a perda de massa de ovos total(g) a partir do dia 1º. Essas variáveis foram determinadas com base nas análises de 12 ovos por sexo.

O peso relativo da casca (calculada em relação ao peso do ovo antes da incubação) e a espessura da casca foram determinados ao final do período de incubação, após a remoção das membranas interna e externa e cutícula da casca dos ovos, seguindo a metodologia de Rahn et al., (1981) e utilizando 12 ovos por sexo. Para a determinação da espessura da casca dos ovos, fragmentos da casca foram obtidos a partir das regiões apical (extremidade oposta à câmara de ar), equatorial e basal (extremidade da câmara de ar) dos ovos. Depois, as membranas da casca do ovo e cutícula foram removidas, mantendo os fragmentos em solução aquosa de NaOH 0,5% por 3 minutos. Em seguida, os fragmentos de casca foram lavados em água destilada e mantidos à temperatura ambiente durante 72 horas, para a secagem e posterior análise. As medições da espessura da casca do ovo foram realizadas utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo- Resolução 0.001 milímetros).

Qualidade dos pintos pós eclosão

Após a eclosão e secagem da plumagem, os pintos foram analisados de acordo com características físicas, atividade (adaptado de Tona et al., 2003) (Tabela 1), pesos corporal e do saco de vitelo. Foi analisado a porcentagem com que os diferentes tipos de alteração física e atividade ocorreram. Além disso, de acordo com a pontuação total obtida, as aves foram classificadas em uma das seis seguintes classes de qualidade: excelente (100 pontos), muito bom (81-99 pontos), bom (61-80 pontos), ruim (41-60 pontos), muito ruim (20-40 pontos), e péssimo (0-19 pontos).

Peso das aves e órgãos

Na eclosão, 12 aves/sexo foram pesadas e sacrificadas por deslocamento cervical e removido o saco vitelínico. Os pesos corporais com e sem saco vitelínico foram determinados utilizando uma balança digital (Marte, 0,001 g) expresso em gramas (g) e depois em porcentagem em relação ao peso dos ovos, antes do início da incubação (%). Os pesos do saco de vitelo, coração e pulmão também foram expressos em gramas (g) e em porcentagem em relação ao peso corporal do pinto com saco vitelino (%).

Variáveis hematológicas

Na eclosão, 10 aves/sexo foram submetidas a punção venosa (veia jugular) para coleta de sangue a ser usado na análise das variáveis eritrocitárias, gases, minerais e constituintes químicos e bioquímicos do sangue. Amostras de sangue para análises eritrocitárias, de gases e bioquímica foram coletadas utilizando-se seringa comercial descartável heparinizada e utilizando o sangue imediatamente após a coleta. As contagens de células vermelhas do sangue (RBC) foram feitas em câmara de Neubauer, utilizando amostras de sangue diluído (1:800) em solução Natt e Henrick (1952). Hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb), gases sanguíneos, pressão parcial de dióxido de carbono, PCO_2 ; pressão parcial de oxigênio, PO_2 ; dióxido de carbono total, o TCO_2 ; taxa de saturação de oxigênio, SO_2 ; excesso de base, BEefc; bicarbonato, HCO_3^- , pH, íons minerais (Ca^{++} , K^+ e Na^+) e de glicose foram obtidos utilizando-se de um analisador clínico portátil (i-STAT®Co- Abbott Laboratories- EUA, cartucho CG8 + ®), sendo aferida e

utilizada a temperatura retal da ave antes de cada teste. Variáveis eritrocitárias (volume corpuscular médio, VCM; hemoglobina corpuscular média, HCM, concentração de hemoglobina corpuscular, e CHCM) foram calculados pela seguinte fórmula $VCM = HCT/RBC \times 10$, $HCM = Hb/RBC \times 10$ e $CHCM = Hb \times HCT \times 100$, respectivamente. Para as análises bioquímicas do sangue, foi coletado sangue a partir da veia jugular, sem anticoagulante, mantido em eppendorf, durante uma hora à temperatura ambiente para separação do soro, e em seguida centrifugado a 3.500 rpm e 4°C durante 10 minutos. O soro (sobrenadante) foi recolhido e mantido congelado (-70°C) até à análise. As dosagens de colesterol total, triglicérides, ácido úrico, uréia e proteínas foram realizadas utilizando kits comerciais (Labtest Diagnóstica SA, Belo Horizonte, MG). As amostras foram preparadas e analisadas de acordo com as especificações do fabricante. Três leituras foram realizadas em amostras, utilizando um espectrofotometro (Beckman Coulter, DU-800).

Análises estatísticas

Para todas as variáveis analisadas, pintos, ovos dos quais eclodiram e a casca dos ovos foram considerados como unidades de repetição. Os dados foram submetidos a testes de efeitos sexuais por ANOVA utilizando procedimento GLM do SAS (SAS Institute, 2009), e considerando-se significância de $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

Duração da incubação, do desenvolvimento in ovo e eclosão

A Figura 1 mostra os efeitos do sexo sobre a duração do período de incubação, do desenvolvimento embrionário e fetal, da eclosão e das subfases de eclosão: tempo entre bicagem interna e externa e entre bicagem externa e saída da casca. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) do sexo sobre a duração do desenvolvimento embrionário e fetal, da fase de eclosão, e da subfase de eclosão entre bicagem externa e eclosão (Fig. 1 A e C). No entanto, a duração do período de incubação, da fase de eclosão e da subfase de eclosão entre bicagem interna e externa foi mais curta ($P \leq 0,05$) em fêmeas do que em machos (Fig. 1 B, D e E).

Características de perda de massa de ovo e casca de ovo

Não houve efeito significativo do sexo sobre a perda de massa dos ovos, peso relativo da casca e a condutância do vapor de água ($P>0,05$; Fig. 2A,B e C). No entanto, a espessura da casca nas regiões apical, equatorial e basal foi mais espessa para as fêmeas do que para os machos ($P\leq 0,05$; Fig. 2D-F).

Qualidade dos pintos

As aves de ambos os sexos receberam pontuação média correspondente à muito boa qualidade (Figura 3). Anormalidades físicas relacionadas com os olhos, pernas e saco vitelínico não foram observadas em machos ou fêmeas. Contudo, problemas de empenamento só foram relatados para os machos (18%). Incorporação do saco de vitelo (57,5% e 48,49%) e anormalidades no umbigo (52,5% e 30%) ocorreu com maior frequência nas fêmeas do que nos machos, respectivamente. Por outro lado, baixa atividade também foi observada para ambos os sexos, mas foi mais frequente nos machos (67%) do que nas fêmeas (20%). Além disso, 3,04% dos machos e 5,13% das fêmeas apresentaram qualidade excelente, e 96,96% dos machos e 94,87% das fêmeas tiveram muito boa qualidade, enquanto que os demais escores avaliados (bom, regular, ruim e muito ruim) não ocorrem.

Temperatura retal, corpo e peso dos órgãos

Como mostrado na Tabela 2, a temperatura retal e os pesos do corpo com e sem saco de vitelo, do saco vitelínico, do coração, dos pulmões direito e esquerdo não foram influenciados por sexo ($P> 0,05$).

Variáveis hematológicas

O sexo das aves afetou todas as variáveis eritrocitárias, exceto HCT e Hb (Figura 4). Os machos apresentaram valores maiores de RBC e CHCM, enquanto que as fêmeas apresentaram valores maiores de VCM e HCM. A Tabela 3 mostra o pH do sangue e concentrações de gases, eletrólitos, glicose, colesterol, uréia, ácido úrico, triglicerídeos e proteínas. Nenhum efeito significativo ($P>0,05$) de sexo foi encontrado para o pH do sangue, TCO_2 , PCO_2 , SO_2 , HCO_3^- , Na^+ e K^+ , Cai, BEecf, e glicose. No entanto, o colesterol

total foi maior nas fêmeas do que nos machos, enquanto PO_2 , triglicérides, proteína total, ácido úrico e uréia foram maiores nos machos do que nas fêmeas.

Tabela 1. Critérios e escore de avaliação da qualidade de pintos recém-eclodidos, adaptado de Tona et al. (2003)

Critérios	Descrição	Caracterização	Ponto
Atividade	Avaliada pelo tempo em que o pintinho permaneceu em decúbito dorsal	>30 s → boa atividade	6
		<30 s → baixa atividade	0
Empenamento	Presença de sujeira e umidade	Limpo e seco	10
	-Limpo e seco → bom empenamento	Limpo e úmido	8
	-Mistura com sujeira ou umidade → mau empenamento	Sujo e úmido	0
Olhos	Brilho e abertura das pálpebras	Aberto e brilhante	20
		Aberto e não brilhante	10
		Olhos fechados	0
Perna	Permanência do pinto em pé	Normal	20
	-Sem dificuldade → pernas normais	Uma perna inflamada	10
	-Com dificuldade → articulação com a presença de vermelhidão ou inflamação	Duas pernas inflamadas	
			0
Região umbilical	Presença de sujeira, cor ou abertura do região	Fechado e limpo	12
		Parcialmente aberto e sem vermelhidão	6
		Aberto e esbranquiçado	0
Cordão alantoideano	Ausência e comprimento do cordão alantoideano	Ausência	12
		Curto (≤ 1 cm)	8
		Longo (>1 cm)	4
Saco de vitelo	Grau de incorporação do saco de vitelo na cavidade abdominal	Incorporação total	20
		Incorporação Parcial	14
		Não incorporado	8

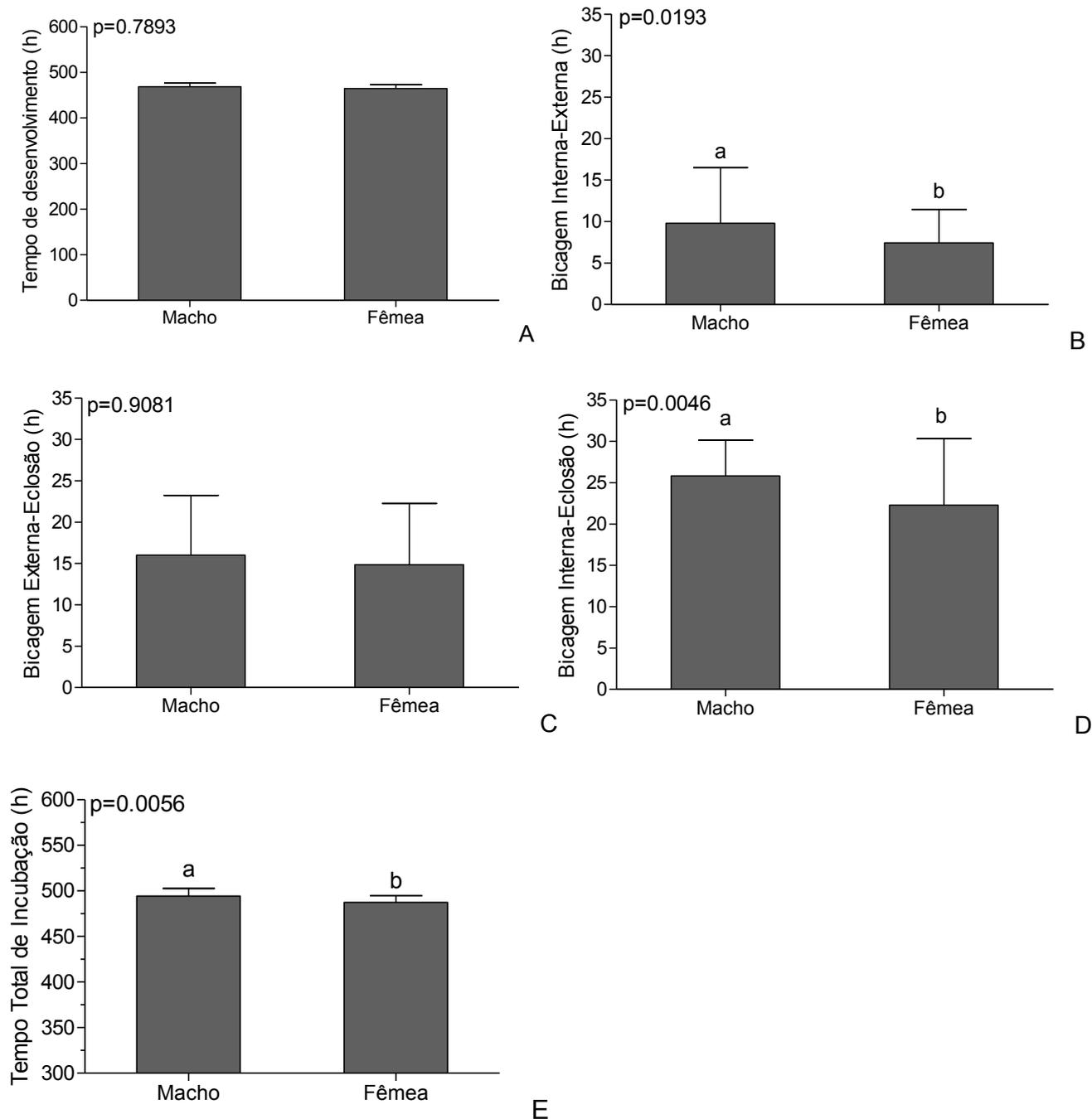


Figura 1. Duração da fase de desenvolvimento embrionário e fetal (do início da incubação até a bicagem interna) (A), das subfases da eclosão entre a bicagem interna e externa (B) e entre a bicagem externa e a eclosão (C), da fase de eclosão (a partir de bicagem interna até a eclosão) (D) e da incubação (do início da incubação até a eclosão) (E). a-b: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0.05$).

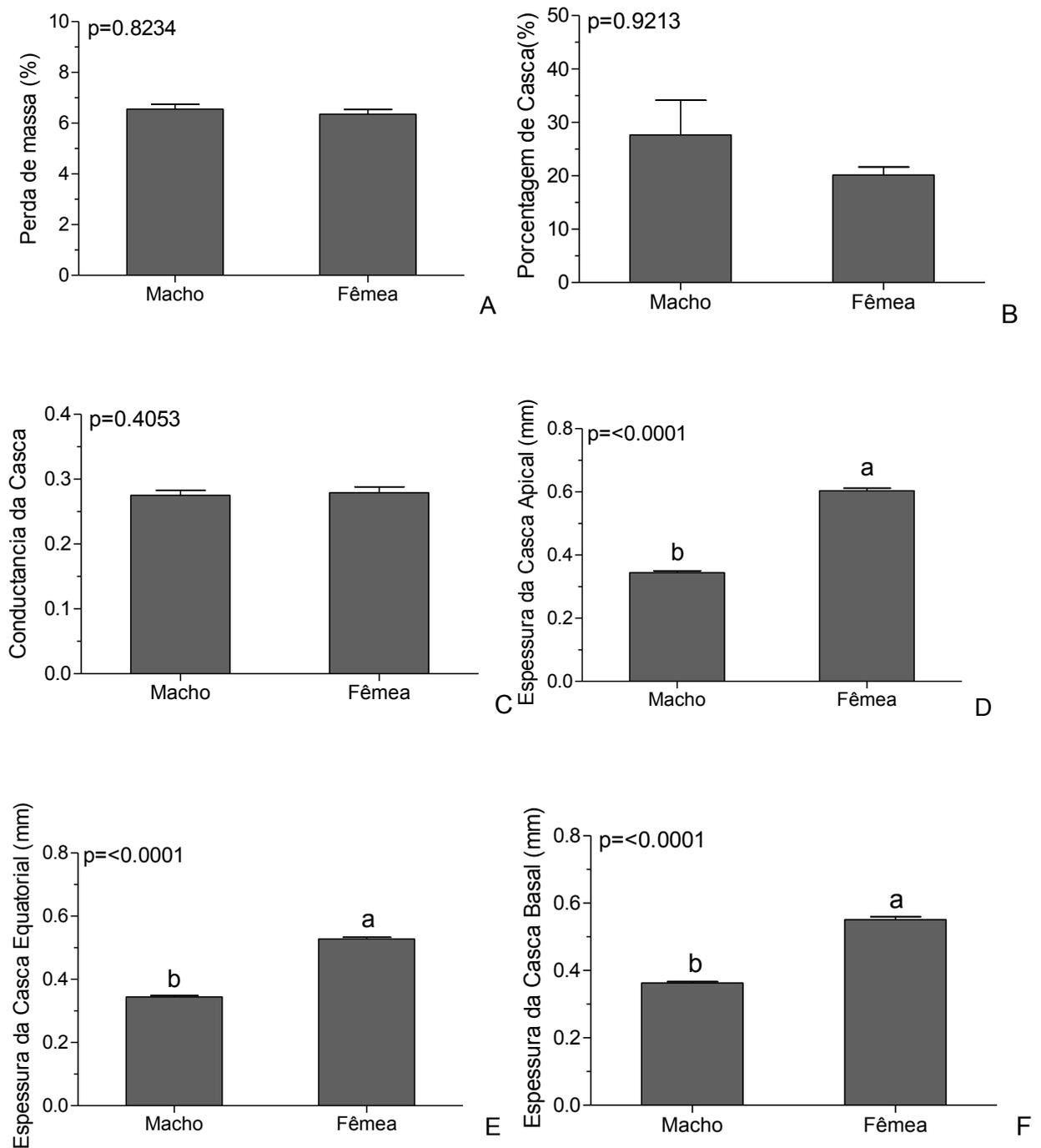


Figura 2. Perda de massa dos ovos (A) e porcentagem (B), condutância (C) espessura da casca nas regiões apical (D), equatorial (E) e basal (F), de acordo com o sexo. ab: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0.05$).

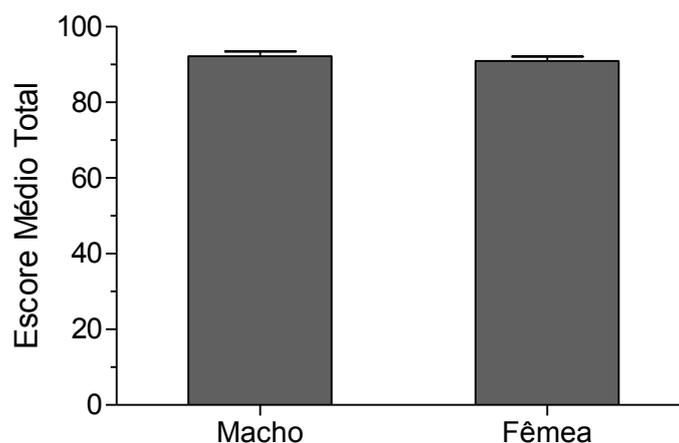


Figura 3. Escore médio total de qualidade dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo.

Tabela 2. Pesos corporal, do saco de vitelo, do coração e do pulmão, e temperatura retal de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo.

Variáveis	Sexo		<i>(P-value)</i>	CV	
	Macho	Fêmea			
PCCSV	(g)	50,55±1,68	50,89±1,83	0,18	3,04
	(%) ¹	73,38±1,77	73,35±1,92	0,06	2,93
PCSSV	(g)	42,65±2,09	42,07±1,44	0,94	4,37
	(%) ¹	62,16±2,90	61,09±1,82	0,67	4,16
Saco de vitelo	(g)	7,71±1,49	8,45±0,99	0,60	15,42
	(%) ²	15,31±2,91	16,70±1,67	0,32	14,68
Coração	(g)	0,37±0,06	0,38±0,05	0,42	16,61
	(%) ²	0,74±0,12	0,76±0,09	0,66	13,77
Pulmão direito	(g)	0,20±0,04	0,18±0,04	0,64	20,38
	(%) ²	0,41±0,08	0,36±0,08	0,90	18,42
Pulmão esquerdo	(g)	0,20±0,06	0,18±0,04	0,39	22,07
	(%) ²	0,41±0,11	0,37±0,08	0,82	21,55
Temperatura retal	(°C)	39,25±1,00	39,21±1,01	0,94	2,49

PCCSV: peso corporal com saco de vitelo. PCSSV: peso corporal sem saco de vitelo. ¹: Relativo ao peso do ovo antes da incubação. ²: Relativo ao peso corporal.

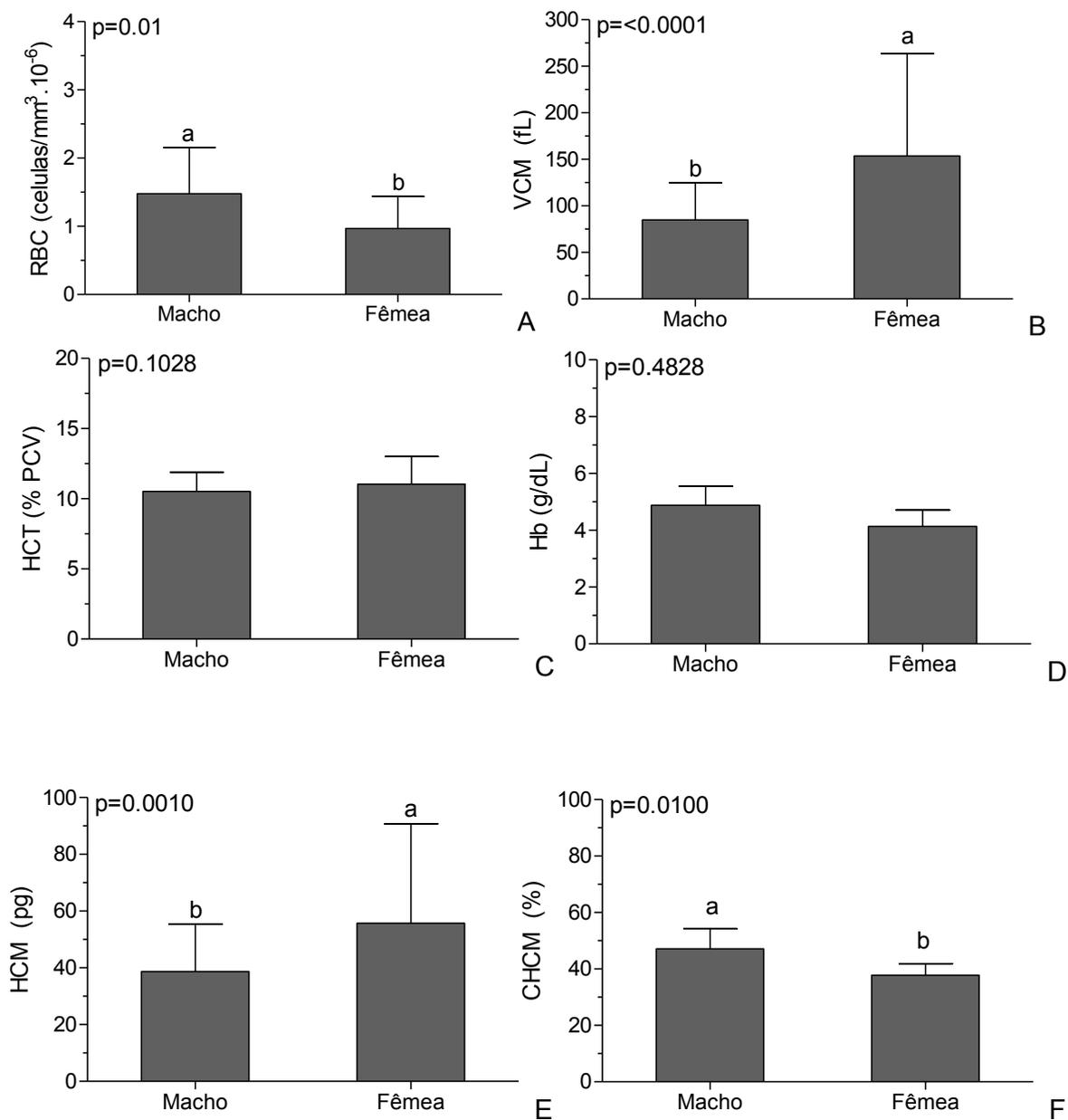


Figura 4. Valores eritrocíticos de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo: (A) RBC: número total de células vermelhas do sangue, (B) VCM: volume corpuscular médio, (C) HCT: hematócrito, (D) Hb: hemoglobina, (E) HCM: hemoglobina corpuscular média e (F) CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular. ab: médias com letras distintas diferem significativamente ($P \leq 0,05$).

Tabela 3- pH e conteúdo de gases, íons, glicose, colesterol total, uréia, ácido úrico, triglicerídeos e proteínas totais do sangue venoso de pintos recém-eclodidos, de acordo com o sexo.

Variáveis	Sexo		<i>(P-value)</i>	
	Macho	Fêmea	P	CV
pH	7,42±0,05	7,41±0,09	0,8712	1,05
TCO ₂ (mmol/l)	13,54±2,52	13,91±3,03	0,3783	20,31
sO ₂ (%)	69,29±15,47	63,62±12,54	0,3032	21,19
PCO ₂ (mm/Hg)	20,54±15,48	21,05±12,54	0,7398	20,62
PO ₂ (mm/Hg)	38,68±8,61a	35,96±7,48b	0,0182	21,58
HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	12,94±2,36	13,31±2,95	0,2950	20,40
Na ⁺ (mmol/l)	134,22±3,41	134,65±3,50	0,9924	2,57
K ⁺ (mmol/l)	5,67±1,29	5,62±1,27	0,9559	22,66
Ca ²⁺ (mmol/l)	0,30±0,02	0,29±0,04	0,1235	11,36
BEecf (mmol/l)	10,79±3,10	10,70±4,03	0,2161	33,50
Glicose (mg/dL)	124,50±22,38	126,13±24,61	0,3075	18,75
Colesterol Total mg/dL)	223,03±23,6b	299,00±56,81a	0,0063	36,77
Uréia (mg/dL)	73,10±20,61a	28,71±4,40b	<0,0001	38,37
Ácido úrico (mg/dL)	6,41±3,92a	3,94±1,28b	0,0002	56,34
Triglicerídeos (mg/dL)	252,79±62,29a	103,80±46,03b	0,0011	66,90
Proteína Total (g/dl)	4,16±1,30a	2,01±0,46b	0,0004	31,72

a-b: médias seguidas por letras diferentes (linhas) diferem significativamente ($P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou se eclosão mais cedo dos pintos fêmeas em comparação com os machos está associado à diferenças entre os sexos na duração das fases de incubação, perda de massa, condutância e porcentagem de casca do ovo, características, qualidade e variáveis eritrocitárias, gases e bioquímicas séricas de pintos de frangos de corte.

Nossos resultados mostram que fêmeas tem período de incubação mais curto do que os machos, em decorrência de tempo mais curto entre bicagem interna e externa e entre bicagem interna e eclosão, não havendo diferenças

entre os sexos no tempo de desenvolvimento embrionário + fetal e entre bicagem externa e eclosão. Estes resultados apontam a tendência de eclosão mais cedo para fêmeas, observado também por Reis et al. (1997) e Van den Ven et al. (2013). Porém, estudos prévios têm geralmente abordado uma incubação mais curta e incubação assíncrona como uma alteração geral na duração do desenvolvimento embrionário+fetal, ao passo que identificaram-se nesse estudo diferenças entre os sexos na duração da subfase entre o bicagem interna e externa.

O ovo de ave atua como uma câmara de incubação externa. Neste contexto, a casca do ovo desempenha papel importante na manutenção do desenvolvimento embrionário e fetal: proteção, troca gasosa (O_2 , CO_2 e vapor de H_2O) e fornecimento de minerais. Investigamos a possível relação entre as características de ovos e a eclosão mais cedo das fêmeas. Trabalhos anteriores indicam que a perda de peso do ovo e condutância da casca estão associadas e podem influenciar o metabolismo de frangos de corte, crescimento e desenvolvimento *in ovo* (PEEBLES et al., 2005; HOCKING, 2009). Todavia, neste estudo, não foram encontradas diferenças relacionadas ao sexo nestas duas variáveis e sobre o peso da casca do ovo. No entanto, as cascas dos ovos foram 34-43% mais espessas para fêmeas do que para os machos. A troca gasosa entre os ambientes interno e externo do ovo ocorre através dos poros da casca e depende diretamente do número e área de poros, entre outros fatores (LA SCALA JR, 2013). Assim, embora a similaridade na perda de vapor de água e condutância da casca entre os tratamentos possa indicar perfis de troca gasosa semelhantes durante o desenvolvimento *in ovo* entre os sexos; a maior espessura de casca representa uma barreira significativamente maior para a troca gasosa durante o desenvolvimento para fêmeas. Esta maior distância percorrida por gases pode ter contribuído mais cedo para um ambiente hipercápnico e hipóxico, induzindo uma eclosão mais rápida das aves fêmeas.

A eclosão representa uma fase crítica do desenvolvimento *in ovo*, pois é o momento que os pintos trocam a respiração alantóide pela respiração pulmonar. Além disso, em função da limitação da casca de ovo para a troca gasosa, a respiração alantoideana e a pulmonar entre bicagem interna e externa dependem em grande parte da PO_2 e PCO_2 presente na câmara de ar.

Estudos anteriores revelaram que diminuição da PO_2 na câmara de ar ao final da incubação (WANGENSTEEN, 1974; KHANDOKER et al., 2003; MORTOLA, 2009). Diminuição na PO_2 e aumento simultâneo da PCO_2 induzem uma fase de incubação mais curta entre bicagem interna e externa (TONA et al., 2003). Isso sugere que a eclosão mais cedo de fêmeas pode ser consequência da saturação mais rápida de CO_2 e/ou depleção de O_2 no ar da câmara.

Muitos autores têm demonstrado que a exposição do pintinho à hipóxia e ambientes hipercápnicos pode causar aumento no RBC e/ou VCM, resultando em maior Hct e Hb (ACKERMANN, 1970; BURGGREN et al., 2012;. TAZAWA et al., 2012;. MUELLER et al., 2013;. ANDREWARTHA et al., 2014). Estas alterações eritrocitárias foram interpretadas como respostas fisiológicas adaptativas que mantêm uma oferta adequada de O_2 para a ave. No presente estudo, não foi observada diferença no peso do coração e pulmão entre os sexos. No entanto, as fêmeas apresentaram menor RBC e CHCM e maior VCM e HCM do que os machos, mas não diferiram em seu Hct. O organismo das fêmeas respondeu à lentidão da troca de gás com o maior VCM e HCM, mas seu menor RBC e CHCM podem reduzir a sua capacidade de transporte de oxigênio. Este déficit em associação com um ambiente hipóxico e hipercápnico no interior da câmara de ar do ovo ao final da incubação pode induzir a bicagem mais rápida observada entre bicagem interna e externa.

Algumas das mudanças associadas à hipóxia e hipercapnia incluem osmolaridade do sangue (OSM), PO_2 , PCO_2 e pH, que podem afetar os valores RBC, VCM, HCT e Hb (COSSINS e GIBSON, 1997;. HOFFMANN et al., 2009). A menor porosidade da casca do ovo aumenta a retenção de CO_2 dentro do ovo, e pode promover o aumento da PCO_2 arterial e HCO_3^- (TULLETT e BURTON, 1985). Apesar das cascas dos ovos de fêmeas serem mais grossas, não encontramos diferenças entre os sexos nas concentrações sanguíneas de gases e minerais (PCO_2 , TCO_2 , SO_2 , HCO_3^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e BE_{ecf}), bem como no pH do sangue. Esta falta de diferenças entre machos e fêmeas provavelmente resulta de uma rápida recuperação no equilíbrio ácido-base do sangue imediatamente após a bicagem externa. Entretanto, as fêmeas apresentaram menor PO_2 do que os machos, indicando que eclosão mais cedo das fêmeas pode ser resultante do esgotamento mais rápido de oxigênio na câmara de ar, causado pela baixa disponibilidade de oxigênio.

O processo de incubação depende de fontes de energia de carboidratos do fígado ou do saco de vitelo (FREEMAN, 1965; DICKSON, 1983; MOOLENAR et al., 2010). Assumiu-se que todos os frangos de corte exigem quantidades semelhantes de energia durante o desenvolvimento (MOOLENAR et al., 2010). Assim, podemos esperar que as fêmeas, em comparação com os machos, gastem maior quantidade de energia por unidade de tempo, em função de sua eclosão mais rápida. Não foram encontradas diferenças na concentração de glicose no sangue. No entanto, isso pode resultar de diferentes taxas de quebra de glicogênio no fígado ou de utilização da glicose do saco vitelínico.

Diferentemente da glicose, foi encontrado maior concentração de colesterol e menor uréia, ácido úrico, proteínas totais e PO_2 em pintos fêmeas do que nos machos. O ácido úrico e uréia constituem produtos do metabolismo de proteínas que se alteram no sangue quando há necessidade de produção ou excreção (STUART, 2013). A colesterolemia e trigliceridemia em fêmeas significativamente maiores do que nos machos e urecemia, uremia e proteinúria em machos quando comparados às fêmeas indicam diferenças nas fontes de produção de energia entre os sexos, sendo que os machos utilizam mais lipídios e fêmeas mais proteína.

Condições ambientais subótimas dentro e fora do ovo durante o desenvolvimento embrionário e fetal podem levar a anomalias físicas e motoras nos pintos recém-eclodidos, tornando-os impróprios para a comercialização e produção. No presente estudo, avaliou-se a qualidade dos pintos recém-eclodidos com base em análises físicas, como ocorrência de anormalidades, grau de atividade, presença de saco vitelínico, cordão umbilical, entre outras características utilizando metodologia adaptada de Tona et al. (2003). De acordo com o escore total médio obtido, as aves de maneira geral apresentaram qualidade muito boa, sugerindo que o fato das fêmeas eclodirem mais cedo não interfere na sua qualidade em comparação com os machos. O uso de escore total médio na análise da qualidade dos pintos desse estudo, contudo, não forneceu diagnóstico preciso da qualidade do lote de pintos obtidos. De acordo com os resultados, cerca de 3,04% dos machos e 5,13% das fêmeas apresentaram qualidade excelente e 96,96% dos machos e 94,87% das fêmeas tiveram muito boa qualidade. Além disso, problemas de

empenamento só ocorreram nos machos (18%), problemas com a incorporação do saco de vitelo na cavidade abdominal (57,5% e 48,49) e anormalidades no umbigo (52,5% e 30%) ocorreram com maior frequência nas fêmeas do que nos machos, respectivamente, enquanto que baixa atividade foi marcadamente mais frequente nos machos (67%) do que nas fêmeas (20%). Assim, nossos resultados mostram que o período mais curto de eclosão prejudica a incorporação do saco de vitelo e as condições umbilicais das fêmeas. Por outro lado, também é mostrado que período mais longo de eclosão torna os machos recém-eclodidos menos ativos.

Em conclusão, o presente estudo demonstra associação da eclosão mais cedo de fêmeas com diferenças na espessura da casca dos ovos, atividades metabólicas, variáveis eritrocitárias e bioquímicas séricas. Juntas, estas alterações sugerem que as fêmeas têm menos recursos para se adaptar às condições de hipóxia e hipercápnia ao final da incubação e, assim, aceleraram a eclosão entre a bicagem interna e externa. Estudos estão sendo conduzidos para elucidar as mudanças nos gases na câmara de ar dos ovos a partir do 19º dia de incubação e os mecanismos subjacentes de diferenças metabólicas das fêmeas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro a este estudo (FAPESP, processo nº 2011 / 24156-4) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado concedida à TIV (CAPES-Proex).

REFERÊNCIAS

ACKERMAN, N.R., The physiological effects of hypoxia on the erythrocytes of the chick embryo. **Developmental Biology**, v.23, p.310–323,1970.

ANDREWARTHA S. J., TAZAWA H., BURGGREN, W. W. Acute regulation of hematocrit and acid–base balance in chick embryos in response to severe intrinsic hypercapnic hypoxia. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v.195, p.1–10, 2014.

BURGGREN, W.W., ANDREWARTHA, J.S., TAZAWA, H. Interactions of acid–base balance and hematocrit regulation during environmental respiratory gas challenges in developing chicken embryos (*Gallus gallus*). **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v.183, p.135–148, 2012.

CHRISTENSEN, V. L. et al. Egg characteristics, carbohydrate metabolism and hatchability of commercial turkey eggs. **Poultry Science**, v.73, n.2, p.236–244, 1994.

CAREGHI C., TONA K., ONAGBESAN O., BUYSE J., DECUYPERE E. BRUGGEMAN V. The Effects of the Spread of Hatch and Interaction with Delayed Feed Access After Hatch on Broiler Performance Until Seven Days of Age. **Poultry Science**, v.84, p.1314–1320, 2005

COSSINS, A.R., GIBSON, A.J. Volume-sensitive transport systems and volume homeostasis in vertebrate red blood cells. **Journal of Experimental Biology**, v.200, p.343–352, 1997.

DECUYPERE, E., TONA, K., BRUGGEMAN, V., BAMELIS, F. The day-old chick, a crucial hinge between breeders and broilers. **World's Poultry Science Journal**, v.57, p.127–138, 2001.

DECUYPERE, E., BRUGGEMAN, V. The Endocrine Interface of Environmental and Egg Factors Affecting Chick Quality. **Poultry Science**, v.86, p.1037–1042, 2007.

DICKSON, A. J. Gluconeogenesis in chick embryo isolated hepatocytes. **International Journal of Biochemistry**, v.15, p.861–865, 1983.

FREEMAN, B. M. The importance of glycogen at the termination of the embryonic existence of *Gallus domesticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.14, p.217–222, 1965.

GONZALES, E.; STRINGHINI, J. H.; DAHLKE, F.; CUNHA, W. C. P.; XAVIER, S. A. G. Productive consequences of fasting neonatal chicks of different genetic constitutions for growing. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 4, p. 253–256, 2008.

HALEVY, O., Y. NADEL, M. BARAK, I. ROZENBOIM, D. SKLAN. Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poultrys. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1376–1382, 2003.

HOCKING, P. M. Biology of Breeding Poultry. **Poultry Science Symp. Ser.** v. 29. CABI, Wallingford, UK, 2009.

HOFFMANN, E.K., LAMBERT, I.H., PEDERSEN, S.F., Physiology of cell volume regulation in vertebrates. **Physiological Reviews**, v.89, p.193–277, 2009.

KHANDOKER, A.H., DZIALOWSKI, E.M, BURGGREN, W.W., TAZAWA,H. Cardiac rhythms of late pre-pipped and pipped chick embryos exposed to altered oxygen environments. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A ,v.136, p.289–29, 2003.

LA SCALA JR, N. Aspectos físicos da incubação. In: Macari M, Gonzales E, editors. In: **Manejo da Incubação**. Campinas: Facta; p. 97-124, 2013.

LAMOT D. M, VAN DE LINDE I. B., MOLENAAR R., VAN DER POL C. W., WIJTEN P. J. A.,KEMP B.AND VAN DEN BRAND H. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science**, v,93, p.2604–2614, 2014.

LOTVEDT, P., R JENSEN, P. Effects of Hatching Time on Behavior and Weight Development of Chickens. **PLoS ONE**, v.9, n.7, p.103040, 2014.

MOLENAAR, R., DE VRIES S., VAN DEN ANKER, I., MEIJERHOF, R., KEMP, VAN DEN BRAND, B. H., Effect of eggshell temperature and a hole in the air cell on the perinatal development and physiology of layer hatchlings. **Poultry Science**, v.89, p.1716–1723, 2010.

MORTOLA, J.P., Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A ,v.153, p.359–377, 2009.

MUELLER, C.A., TAZAWA, H., BURGGREN, W.W. Dynamics of metabolic compensation and hematological changes in chicken (*Gallus gallus*) embryos exposed to hypercapnia with varying oxygen. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 185, p. 272–280, 2013.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. A. New blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v. 31, p. 735-738, 1952.

NOY, Y., SKLAN, D. Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, v.78, p.1750–1756, 1999.

NOY, Y., A.GEYRA, D. SKLAN.The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, v.80, p.912–919, 2001.

NOY, Y.; Z. UNI.Early nutritional strategies. **World's Poultry Science Journal**, v.66, p.639–646. 2010.

PEEBLES, E. D., R. W. KEIRS, L. W. BENNETT, T. S. CUMMINGS, S. K. WHITMARSH, GERARD, P.D. Relationships among pre hatch and post hatch physiological parameters in early nutrient restricted broilers hatched from eggs laid by young breeder hens. **Poultry Science**, v. 84, p.454–461, 2005.

REIS, L. H., GAMA, L. T., CHAVEIRO SOARES, M., Effects of Short Storage Conditions and Broiler Breeder Age on Hatchability, Hatching Time, and Chick Weights. **Poultry Science**, v.76, p.1459–1466, 1997.

RAHN, H. CHRISTENSEN, V. L., EDENS, F.W. Changes in shell conductance, pore, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. **Poultry Science**, v.60, p.2536- 254,1981.

RUIZ, J., Lunam, C.A. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. **British Poultry Science**, v.43, p.374-383, 2002.

SAS Institute. SAS (Statistical Analysis System). Users guide. SAS Institute Inc., Cary, NC. 2009.

TAZAWA, H., ANDREWARTHA, S.J., BURGGREN, W.W. Acute regulation of hematocrit and blood acid–base balance during severe hypoxic challenges in late chicken embryos (*Gallus gallus*). **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v.184, p. 86–96, 2012.

TONA, K., F. BAMELIS, B. DE KETELAERE, V. BRUGGEMAN, V. B. M. MORAES, J. BUYSE, O. ONAGBESAN, AND E. DECUYPERE. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality and chick juvenile growth. **Poultry Science**, v.82, p.736–741, 2003.

TULLETT S. G.; BURTON F. G.The effects of eggshell porosity on blood-gas and acid-base status of domestic fowl embryos within eggs of the same weight. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.81A, p.137-142., 1985.

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

UNI, Z., A. SMIRNOV, D. SKLAN. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v.82, p.320–327, 2003.

VAN DE VEN, L. J. F., VAN WAGENBERG, A. V., DECUYPERE, E., KEMP, B., VAN DEN BRAND, H. Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poultry Science**, v.92, p.1050–1061, 2013.

WANGENSTEEN, O. D., RAHN, H., BURTON, R. R., SMITH, A. H. Respiratory gas exchange of high altitude adapted chick embryos. **Respiration Physiology**, v.21, p.61-70. 1974.

CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DA FASE DE ECLOSÃO E TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE PARÂMETROS DE INCUBAÇÃO, QUALIDADE E VARIÁVEIS ERITROCITÁRIAS E BIOQUÍMICAS SÉRICAS DE PINTOS FÊMEAS NA ECLOSÃO

RESUMO- Foi analisado os efeitos da duração do período de respiração pulmonar intraovo e temperatura de incubação na fase fetal sobre o aproveitamento da casca do ovo, pesos corporal, do coração e do pulmão, variáveis eritrocitárias, características bioquímicas séricas e qualidade dos pintos fêmeas recém-eclodidos. 900 ovos férteis de matrizes de frangos de corte (Cobb[®]) foram distribuídos em 8 incubadoras (112 ovos cada), mantidas à 37,5°C e 60% UR até o 12º dia de incubação. A partir do 13º dia de incubação até a eclosão, 4 incubadoras tiveram a temperatura elevada para 39°C, mantendo 60% de UR. No 18º dia, os ovos foram monitorados à cada hora, para determinação da duração do período entre bicagem externa e eclosão (curto: <10h ou longo: >20h). Após a eclosão, os pintos fêmeas foram avaliados quanto a qualidade, características sanguíneas e corporais. Os dados foram analisados quanto aos efeitos da temperatura de incubação (37,5°C e 39°C) e da duração do período entre bicagem externa e eclosão (curto e longo) e interações, sendo submetidos à análises de variância usando programa SAS[®] e, quando necessário, foi utilizado o teste de Tukey para comparação entre médias (P<0,05%). Ovos incubados à 39°C apresentaram menor espessura de casca nas regiões apical e equatorial. O tempo entre a bicagem interna e externa foi mais curto e o tempo entre a bicagem interna e saída da casca foi mais longo para fêmeas de incubação a 39°C, e alta temperatura de incubação reduziu essas duas variáveis em pintos com curto período de eclosão. Isto resultou em maior tempo de incubação para pintos com longo período de eclosão e para os de temperatura de incubação à 39°C. Embora a pontuação total recebida por filhotes seja semelhante entre os tratamentos, indicando muito boa qualidade para todos os pintos, cerca de 20-30% deles tiveram excelente qualidade, e de 7,5 a 12% deles apresentaram boa qualidade com temperatura de incubação à 39°C. Problemas de empenamento ocorreu sob incubação à 39°C apenas, as mudanças nas condições de umbigo e cordão alantóico foram mais freqüentes em pintos com período de eclosão longo, problemas com a incorporação do saco vitelino ocorreram com maior freqüência com período de eclosão curto sob incubação à 39°C. Longo período de eclosão reduziu o peso corporal sem saco vitelínico, Hb e ácido úrico, HCO₃⁻, TCO₂, Cai e glicose, enquanto que a alta temperatura de incubação reduziu VCM, HCM, ácido úrico e proteína, e aumentou RBC, Hb, ácido úrico e proteína com curto período de eclosão à 39°C. Os resultados mostraram eclosão mais rápida com período mais curto entre bicagem externa e saída da casca com alta temperatura de incubação associada, aves com deficiência no potencial de transporte de gases.

Palavras-chave: casca, eclosão, estresse térmico, fêmeas, qualidade de pintos, sangue

CHAPTER 3 - CONDITIONS OF INCUBATION, QUALITY AND FEATURES OF BIOCHEMICAL FEMALE CHICKS NEWLY HATCHED SUBMITTED TO THERMAL FETAL PROGRAMMING

ABSTRACT- We analyzed whether the duration of pulmonary respiration period intra ovo associated with heat stress affect the body, lung and heart weight, hematimetric indexes and blood biochemical characteristics, quality and eggshell utilization of female hatchlings. About 896 fertile broiler breeder eggs (Cobb®) were incubated in eight incubator (112 eggs each) at 37,5°C until the 12th day, and then at 37,5°C or 39°C (four incubators each) from the 13th day of incubation to hatching, maintaining 60% RH all time. From day 18, eggs were monitored as to duration between external pipping and hatching. For all data, we investigated the effects of incubation temperature (37,5°C and 39°C), duration between external pipping and actual hatching (short:<10h and long:>20h) and interactions. The data were verified as to presence of outliers, normality of the errors (Cramer-Von Mises-test) and homogeneity of variances (Levene test) and subjected to analysis of variance using the SAS ® program. In case of significant interactions ($P<0,05$), the Tukey test for comparison of means was used. It was observed lower eggshell thickness in the apical and equatorial regions for birds incubated at 39°C than at 37,5°C. The time between internal and external pipping was very shorter, while the time between internal pipping and hatch longer was very longer for females from incubation at 39°C, and high incubation temperature reduced these two variables in hatchlings com short D_{BE-H} . This resulted in longer incubation period for hatchling with long D_{BE-H} and for hatchlings of incubation at higher temperature. Although the total score received by hatchlings are similar among the treatments and indicate very good quality for all hatchlings, about 20-30% of them had excellent quality, and 7,5 to 12% of them presented good quality when incubation occurred at 39°C. Feathering problems occurred under incubation at 39°C only, changes in the navel conditions and alantoic cord were more frequent in hatchlings with long hatching period, problems with yolk sac incorporation with higher frequency with short hatching period under incubation at 39°C. Longer hatching period reduced the body weight without yolk sac, Hb and uric acid under 39°C, HCO_3^- , TCO_2 , Cai and glucose and increased BEecf, uric acid under 37,5°C e triglycerides under 39°C, whereas high incubation temperature reduced VCM, HCM, uric acid and protein under 39°C, and increased RBC, Hb and increased uric acid and protein with short hatching period at 39°C. The results show faster hatching with short hatching period and high incubation temperature is associated with deficient gases transport potential and changes in the metabolism.

Keywords: blood variables, eggshell, female quality, hatching time, heat stress.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade dos pintos na eclosão determina sua sobrevivência e desempenho, sendo, portanto, de crucial importância para a otimização da produção. Isso torna a determinação da qualidade de pintos uma prática fundamental dentro dos incubatórios, embora de difícil definição (WILLEMSEN et al., 2008; VAN DE VEN et al., 2012).

O assincronismo na eclosão é um dos fatores que podem afetar a qualidade dos pintos (FAIRCHILD, 2005). A janela de eclosão, cuja alargada amplitude pode deixar os primeiros pintos eclodidos mais tempo em jejum de água e ração até o seu alojamento em comparação com os pintos que eclodem mais tarde, podem gerar esse assincronismo. Dessa forma, reduzir a janela de eclosão é uma importante tarefa para os pesquisadores, de forma que conhecer e entender os fatores que causam o assincronismo na eclosão auxiliará nesse problema.

É conhecido que diferentes condições de incubação fornecem diferentes disponibilidades de nutrientes, sem necessariamente alterar o estado fisiológico da ave (MOLENAAR et al., 2011), mas podendo acelerar ou retardar o desenvolvimento *in ovo* (ROMANOFF, 1960; LANCASTER e JONES, 1988; WILSON, 1991; LEANDRO et al., 1999; NAKAGE et al., 2003; MORITA et al., 2010). Além de ser fator iniciador e mantenedor do desenvolvimento *in ovo*, a temperatura de incubação interfere diretamente na eclodibilidade das aves, nos tipos e idade de mortalidade, perda de massa e condutância da casca dos ovos e no peso e qualidade dos pintos, podendo ser um potencial indutor de adaptações epigenéticas, quando manipulada ao final da incubação (MINNE; DECUYPERE, 1984; TZSCHENTKE e NICHELMANN, 1997; GLADYS et al., 2000; COLLIN et al., 2007, LEKSRISSOMPONG et al., 2007, PIESTUN et al., 2009 ; SHINDER et al., 2009; TZSCHENTKE e HALLE, 2009). O período de eclosão das aves começa com a realização da bicagem interna, a qual permite que o ar entre nos pulmões, ativando a respiração pulmonar (VILLAMOR et al. 2002). Posteriormente, os pintos fazem a bicagem externa, respirando o ar do ambiente extra ovo pela primeira vez (VILLAMOR et al. 2002). Essa bicagem é desencadeada pelo esgotamento de O₂ disponível e saturação de CO₂ dentro da câmara de ar (WANGENSTEEN, 1971; TONA et al., 2003, MORTOLA,

2009). Isso sugere que o assincronismo na eclosão pode estar relacionado com a disponibilidade de O_2 na câmara de ar, reforçado pelos resultados do Cap.2, onde verificou-se que fêmeas apresentam tendência de eclodir mais cedo que os machos, que mostrou estar relacionado com maior espessura de casca e menor potencial de transporte de gases.

Embora vários autores tenham estudado os efeitos de altas temperaturas de incubação, a literatura carece de dados de seus efeitos sobre o desenvolvimento, qualidade e características fisiológicas de pintos provenientes de eclosão cedo ou mais tarde. Nesse contexto, de especial interesse é analisar as fêmeas, já que tendem a eclodir mais precocemente do que os machos. Nesse ensaio, foi analisado se a duração da fase de eclosão associada à alta temperatura de incubação influencia a duração do período de desenvolvimento embrionário + fetal, do período entre bicagem interna e externa e do período entre bicagem externa e saída da casca, o aproveitamento da casca, perda de massa e condutância do vapor de água, a qualidade e índices eritrocitários, gases e variáveis bioquímicas séricas dos pintos fêmeas na eclosão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foi utilizado o protocolo experimental estabelecido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, regido pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- proc. nº 022383/12), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Jaboticabal.

2.1. Condução experimental

Foram utilizados 900 ovos férteis (não estocados) de matrizes de frangos de corte (Cobb®-500) com 56 semanas de idade, provenientes de incubatório comercial (Globo Aves, Itirapina-SP). Os ovos foram distribuídos

homogeneamente pelo peso (65-70g) em oito incubadoras horizontais (Premium Ecológica)(N=112 ovos/incubadora), com controle automático de temperatura e giro dos ovos (1 giro à cada 2 horas de 1-18 dias), mantidas à 37,5°C do 1° ao 12° dia de incubação. A partir do 13° dia de incubação, quatro incubadoras tiveram sua temperatura elevada para 39°C, enquanto que a temperatura das outras quatro incubadoras permaneceu à 37,5°C. A umidade relativa do ar (UR) foi mantida à 60% durante toda a incubação. A alteração da temperatura de incubação a partir do 13° dia baseou-se no fato do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide já se encontrar estabelecido nessa idade (MCNABB e OLSON, 1996). A partir do 18° dia de incubação, os ovos foram monitorados a cada hora, para estabelecimento da duração do período entre bicagem externa e eclosão. Pintos fêmeas com curto (6-10h) e longo (20-26h) período entre bicagem externa e eclosão, oriundos de ovos incubados à 37,5°C e 39°C, foram comparados quanto à parâmetros de incubação, características da casca ao final da incubação, duração das fases da incubação e características físicas, variáveis eritrocitárias e bioquímicas séricas. As temperaturas do ar das incubadoras e da casca dos ovos também foram analisadas. A obtenção de dados de fêmeas foi possível pela identificação dos sexos na eclosão.

2.1.1 Temperatura do ar da incubadora e da casca dos ovos

As temperaturas do ar das incubadoras (TAI) e da casca dos ovos (TCO) foram registradas ao longo do período de incubação (1-19 dias) por meio de mini-termopares tipo T (cobre-constant; Alutal). Para registrar a temperatura da casca dos ovos, os termopares foram fixados na região equatorial dos ovos com auxílio de fita adesiva, cobrindo uma superfície circular de 8 mm de diâmetro da casca, sendo utilizadas quatro incubadoras (duas mantidas à 37,5°C e duas à 39,0°C) e 10 ovos/incubadora. Para registrar a temperatura do ar da incubadora, os termopares foram posicionados na região central da máquina. Os dados de temperatura foram coletados e registrados à cada 30 minutos, armazenados em data loggers e descarregados em computador para posterior análise. Foram calculados os valores médios diários da TAI e da TCO, os valores médios da TCO e as diferenças médias entre os valores de

TCO e TAI (TCO-TAI) de 1-12 dias e de 13-18 dias de incubação (antes e durante alteração da temperatura de incubação).

2.1.2. Perda de massa, condutância do vapor de água e características da casca ao final da incubação

A perda de massa dos ovos (g) até o 19º dia incubação foi calculada a partir da diferença entre o peso dos ovos no início da incubação e no 19º dia. A condutância do vapor de água através da casca dos ovos foi calculada segundo Christensen et al. (1994), pela fórmula: $C = PM/PSV$, onde (C= condutância, PM= perda de massa, PSV= pressão de saturação de vapor igual a 23,86 mm/Hg à 25°C). Os dados de perda de massa e condutância do vapor de água através da casca foram obtidos a partir da análise de 15 ovos de fêmeas por tratamento.

O peso relativo e a espessura da casca dos ovos ao final da incubação foram obtidos após a remoção das membranas interna e externa e da cutícula. Para essa remoção, fragmentos da casca foram mantidos em solução aquosa fervente de NaOH 0,5% por 3 minutos, lavados em água destilada e mantidos à temperatura ambiente durante 72 horas para secagem (Rahn et al., 1981). O peso das cascas foi calculado em porcentagem, em relação ao peso dos ovos pré-incubação. A espessura de casca foi mensurada em fragmentos extraídos das regiões apical (extremidade oposta à que contém a câmara de ar), equatorial e basal (extremidade onde se localiza a câmara de ar), utilizando-se um micrômetro digital (Mitutoyo – resolução 0,001 mm). Foram analisados 15 ovos/temperatura de incubação/período de eclosão.

2.1.3. Duração das fases de incubação

Foram analisadas as durações da fase de desenvolvimento embrionário + fetal [tempo entre início da incubação e a bicagem interna (D_{1-BI})], da fase de eclosão [tempo entre bicagem interna à saída da casca (D_{BI-SC})], de suas subfases [espaço de tempo entre bicagem interna e externa (D_{BI-BE}) e entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC})], e a duração total da incubação [do início da incubação até a saída da casca (D_{1-SC})], todas expressas em horas. A

partir do 19º dia de incubação, foi realizada a ovoscopia a cada duas horas, a fim de determinar o momento da bicagem interna, sendo esse processo o mais rápido possível para não interferir no desenvolvimento final do embrião. Para determinar o momento da bicagem externa, a partir do 19º dia de incubação, os ovos foram observados através da tampa acrílica transparente da incubadora a cada 30 minutos. Quando detectada a bicagem interna e/ou a bicagem externa esse dado era anotado para posterior contabilização do tempo da subfase na qual se encontrava. Tais dados foram obtidos a partir da análise de 400 ovos por temperatura de incubação (200 ovos por duração do período de eclosão).

2.1.4. Qualidade dos pintos recém-eclodidos e peso corporal

Após a eclosão e secagem da penugem, a qualidade dos pintos fêmeas foi avaliada por meio da observação de suas características físicas e atividade, pontuadas de acordo com metodologia adaptada de Tona et al. (2003a) (Tab. 1). A qualidade das fêmeas recém-eclodidas foi determinada pelo total de pontos individualmente obtido, máximo de 100, como segue: péssima (0-20 pontos), ruim (21-40 pontos), regular (41-60 pontos), boa (61-80 pontos), muito boa (de 81-89 pontos) e excelente (100 pontos). Posteriormente à classificação, 12 aves/temperatura de incubação/duração do período de eclosão foram pesadas, com balança digital (Marte, BL3200H, 0,01g), e sacrificadas por deslocamento cervical. O peso corporal vivo foi expresso em gramas (g) e em porcentagem em relação ao peso do ovo (%) e foi mensurado com e sem o saco de vitelo. O peso do saco de vitelo foi expresso em gramas (g) e em porcentagem em relação ao peso dos ovos e ao peso corporal dos pintos (%).

Tabela 1. Critérios e pontuação de avaliação da qualidade de pintos recém eclodidos, adaptado de Tona et al. (2003).

Critérios	Descrição	Caracterização	Pontos
Atividade	Avaliada pelo tempo em que o pintinho permaneceu em decúbito dorsal	>30 s →boa atividade	6
		<30 s →baixa atividade	0
Empenamento	Presença de sujeira e umidade	Limpo e seco	10
	-Limpo e seco → bom empenamento	Limpo e úmido	8
	-Mistura com sujeira ou umidade →mau empenamento	Sujo e úmido	0
Olhos	Brilho e abertura das pálpebras	Aberto e brilhante	20
		Aberto e sem brilho	10
		Olhos fechados	0
Perna	Permanência do pinto em pé	Normal	20
	-Sem dificuldade → pernas normais	Uma perna inflamada	10
	-Com dificuldade → articulação do joelho com vermelhidão ou inflamação	Duas pernas inflamadas	0
Região umbilical	Presença de sujeira, cor ou abertura da região	Fechado e limpo	12
		Parcialmente aberto e sem vermelhidão	6
		Aberto e esbranquiçado	0
Cordão alantoideano	Ausência e comprimento do cordão alantoideano	Ausência	12
		Curto (\leq 1cm)	8
		Longo (>1cm)	4
Saco de vitelo	Grau de incorporação do saco de vitelo na cavidade abdominal	Totalmente incorporado	20
		Incorporação parcial	14
		Não incorporado	8

2.1.2. Variáveis hematológicas

Na eclosão, 10 aves/sexo foram submetidas a punção venosa (veia jugular) para coleta de sangue a ser usado na análise das variáveis eritrocitárias, gases, minerais e constituintes químicos e bioquímicos do

sangue. Amostras de sangue foram coletadas utilizando-se seringa comercial descartável heparinizada e utilizando o sangue imediatamente após a coleta. As contagens de células vermelhas do sangue (RBC) foram feitas em câmara de Neubauer, utilizando amostras de sangue diluído (1:800) em solução Natt e Henrick (1952). Hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb), gases sanguíneos, pressão parcial de dióxido de carbono, PCO_2 ; pressão parcial de oxigênio, PO_2 ; dióxido de carbono total, o TCO_2 ; taxa de saturação de oxigênio, SO_2 ; excesso de base, BEefc; bicarbonato, HCO_3^- , pH, íons minerais (Ca^{++} , K^+ e Na^+) e de glicose foram obtidos utilizando-se de um analisador clínico portátil (i-STAT®Co- Abbott Laboratories- EUA, cartucho CG8 + ®), sendo aferida e utilizada a temperatura retal da ave antes de cada teste. Variáveis eritrocitárias (volume corpuscular médio, VCM; hemoglobina corpuscular média, HCM, concentração de hemoglobina corpuscular, e CHCM) foram calculados pela seguinte fórmula $VCM = HCT/RBC \times 10$, $HCM = Hb/RBC \times 10$ e $CHCM = Hb \times HCT \times 100$, respectivamente. Para as análises bioquímicas do sangue, foi coletado sangue a partir da veia jugular, sem anticoagulante, mantido em eppendorf, durante uma hora à temperatura ambiente para separação do soro, e em seguida centrifugado a 3.500 rpm e 4°C durante 10 minutos. O soro (sobrenadante) foi recolhido e mantido congelado (-70°C) até à análise. As dosagens de colesterol total, triglicérides, ácido úrico, uréia e proteínas foram realizadas utilizando kits comerciais (Labtest Diagnóstica SA, Belo Horizonte, MG). As amostras foram preparadas e analisadas de acordo com as especificações do fabricante. Três leituras foram realizadas em amostras, utilizando um espectrofotômetro (Beckman Coulter, DU-800).

2.1.3. Hormônios tireoideanos (T_3 e T_4)

Para as análises das concentrações plasmáticas de 3,5,30-tri-iodo-L-tironina (T_3 , ng/ml) e 3,5,30,50-tetra-iodo-L-tironina (T_4 , ng/dl), amostras de sangue de 12 aves/tratamento foram coletadas por punção venosa (jugular, cerca de 1,5 ml de sangue) e armazenados em tubos de eppendorf contendo EDTA. As amostras de sangue foram centrifugadas à 3500 rpm por 10 minutos à 4°C para obtenção do plasma, que foi armazenado em freezer mantido à -70°C até análise. A determinação das concentrações de T_3 e T_4 foi realizada

comkits comerciais "Coat-A-Count" (kit T3 AccuBind ELISA, Monobind cod 125-300B; T₄ AccuBind ELISA Kit, Monobind 225-300B), utilizando um contador de radiação gama C12 DPC.

2.2. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para todos os dados foram analisados os efeitos da temperatura de incubação (TI: 37,5°C e 39°C), da duração do período entre bicagem externa e eclosão (PE: curto: 6-10h e longo:>20h) e das interações, usando modelo $Y_{ijk} = \mu + TI_i + PE_j + (TI \times PE)_{ij} + e_{jkl}$. Os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa SAS[®] (SAS *Institute*, 2009). Em caso de interação significativa ($P \leq 0.05$), foi aplicado o teste de Tukey para comparação entre médias.

3. RESULTADOS

3.1.1. Temperatura do ar da incubadora e da casca dos ovos

A Figura 1 mostra o perfil de temperatura do ar das incubadoras e da casca dos ovos ao longo da incubação, de acordo com temperatura de incubação (37,5°C e 39°C) e D_{BE-SC} (curto e longo). Durante os 13 primeiros dias de incubação, a temperatura da casca dos ovos de todos os tratamentos permaneceu abaixo da temperatura do ar da incubadora. Sob incubação à 37,5°C, independentemente da D_{BE-SC}, a temperatura da casca dos ovos aumentou progressivamente de 36,6° para 37,4°C do 8° para o 15° dia de incubação, a partir do qual se manteve dentro de estreito intervalo de temperatura (Fig. 1A). Com o aumento da temperatura de incubação para 39°C, a temperatura da casca dos ovos cujos pintos apresentaram curto e

longo período de eclosão aumentou abruptamente de 36,8° para 38,8°C do 11° para o 13° dia, continuando a aumentar e atingindo 39,3°C no 19° dia (Fig. 1B).

A temperatura média da casca dos ovos de 1 a 12 dias permaneceu abaixo da temperatura do ar da incubadora e foram similares em todos os tratamentos, ou seja, não houve efeito significativo ($P>0,05$) da D_{BE-SC} , da temperatura de incubação e nem interação entre ambas. Após o 13° dia de incubação, a temperatura da casca dos ovos incubados à 37,5°C e cujos pintos apresentaram curta e longa D_{BE-SC} e a temperatura da casca dos ovos incubados à 39°C cujos pintos tiveram longa D_{BE-SC} ficaram acima da temperatura do ar da incubadora, enquanto que a temperatura da casca dos ovos incubados à 39°C cujos pintos apresentaram curta D_{BE-SC} ficou semelhante à do ar da incubadora; mas, seus valores não foram influenciados pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação e interação entre ambas ($P>0,05$). Contudo, a temperatura média da casca dos ovos após o 13° dia foi afetada pela temperatura de incubação, sendo, independentemente da D_{BE-SC} , maior nos ovos incubados à 39°C do que nos ovos incubados à 37,5°C ($P\leq 0,05$).

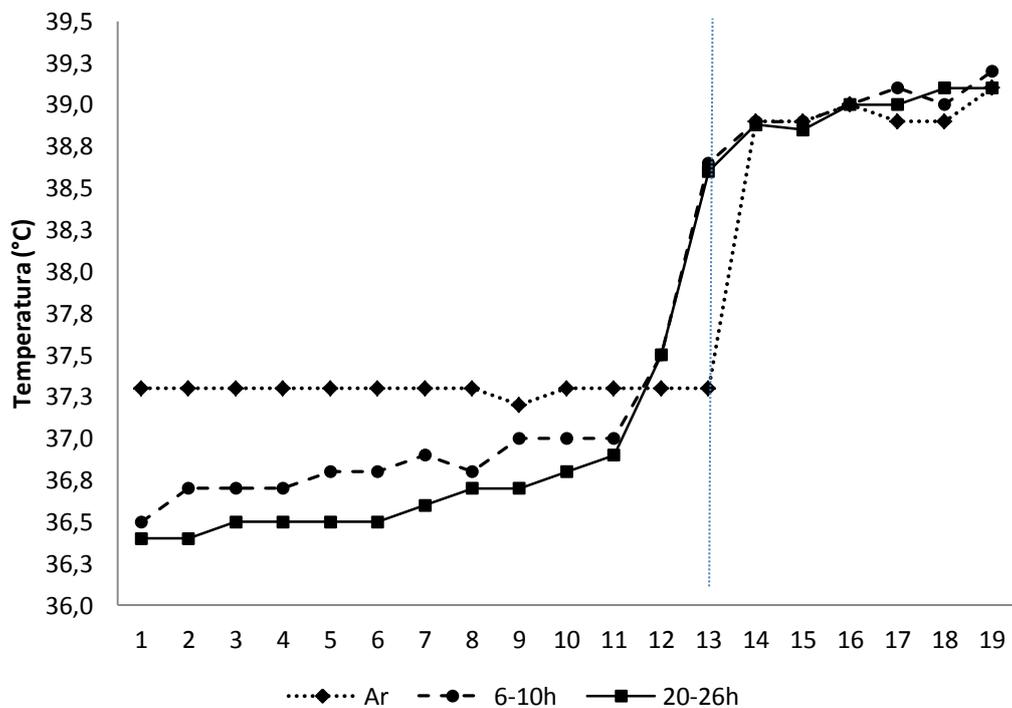
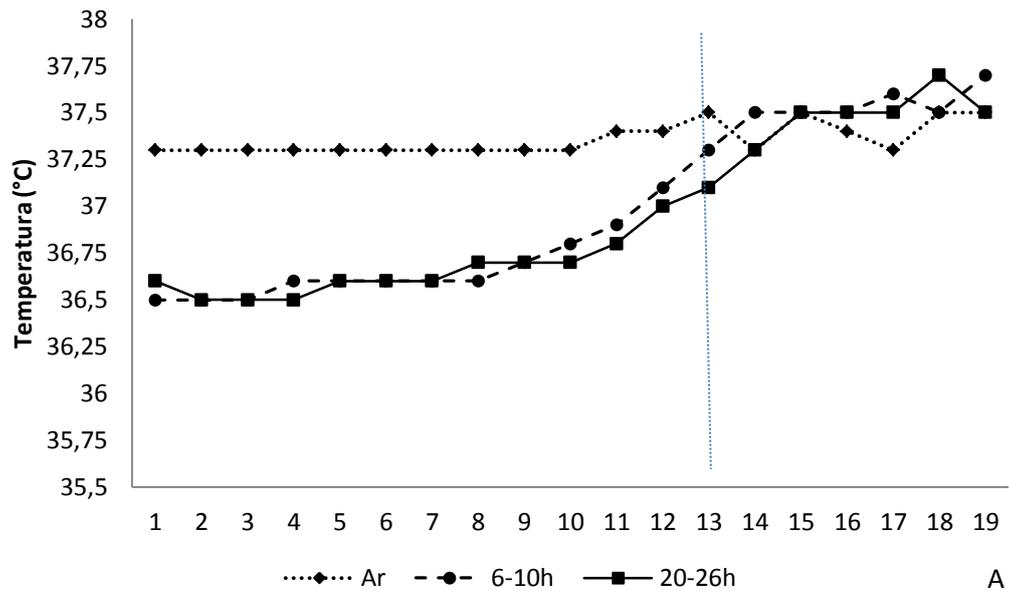


Figura 1. Temperaturas do ar da incubadora e da casca dos ovos cujos pintos apresentaram fase curta e longa D_{BE-SC} , de acordo com a temperatura de incubação (A: 37,5°C; B: 39°C) a partir do 13º dia de incubação. Linha vertical corresponde ao início do período de alteração da temperatura de incubação.

3.1.2 Perda de massa, condutância e características da casca ao final da incubação

A Tabela 2 mostra que a perda de massa, a condutância do vapor de água, a porcentagem e a espessura da casca na região basal dos ovos não foram influenciadas pela temperatura de incubação, pela D_{BE-EC} e nem pela interação entre ambas. Contudo, a espessura da casca nas regiões apical e equatorial dos ovos foi afetada pela temperatura de incubação, sendo menor ($P \leq 0,05$) sob incubação à 39°C do que à 37,5°C em ambas as regiões.

3.1.3. Duração das fases da incubação

Os resultados da duração total da incubação (D_{1-SC}) e da duração de cada uma de suas fases e subfases são apresentados na Tabela 3. A D_{1-BI} não foi influenciada significativamente ($P > 0,05$) pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação e interação entre ambas. A D_{BI-BE} foi influenciada ($P \leq 0,05$) pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação e interação entre ambas. De acordo com a interação, a D_{BI-BE} foi maior nas aves de incubação à 37,5°C que apresentaram curta D_{BE-SC} do que nas aves dos demais tratamentos, foi maior nas aves de incubação à 39°C que apresentaram curta D_{BE-SC} do que nas aves com longa D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C e 39°C, que não diferiram nos valores dessa variável. A D_{BI-SC} também foi influenciada ($P \leq 0,05$) pela D_{BE-SC} e temperatura de incubação, e houve interação significativa entre ambas, segundo a qual a D_{BI-SC} foi menor para as aves com curta D_{BE-SC} oriundas de incubação à 39°C do que nas aves dos demais tratamentos, que apresentaram valores similares de D_{BI-SC} . Por sua vez, a D_{1-SC} foi afetada significativamente ($P \leq 0,05$) pela D_{BE-SC} e temperatura de incubação, mas não pela interação entre ambas ($P > 0,05$). A D_{1-SC} foi menor nos pintos que tiveram curta D_{BE-SC} e também nas aves de incubação à 39°C.

Tabela 2. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre a perda de massa, condutância, porcentagem de casca e espessura das regiões apical, equatorial e basal de ovos de pintos fêmeas pós-eclosão

Tratamentos	Perda de massa (%)	Condutância	Casca (%)	Espessura de casca (mm)		
				Apical	Equatorial	Basal
D_{BE-SC}						
Curto	6,86±1,20	0,29±0,05	1,21±0,09	0,60±0,02	0,50±0,04	0,55±0,03
Longo	6,67±0,08	0,28±0,04	1,22±0,08	0,58±0,05	0,51±0,05	0,56±0,04
TI						
37.5°C	6,65±0,14	0,30±0,04	1,20±0,08	0,61a±0,03	0,53a±0,02	0,55±0,04
39.0°C	6,880±,25	0,29±0,05	1,23±0,09	0,58b±0,04	0,48b±0,04	0,56±0,04
Probabilidade						
D_{BE-SC}	0,5085	0,5232	0,1766	0,0958	0,7294	0,2493
TI	0,5884	0,5232	0,8598	0,0223	0,0011	0,4880
$D_{BE-SC} \times TI$	0,9921	0,9536	0,2272	0,0519	0,9448	0,7170
CV (%)	17,2175	17,3873	7,3540	6,5650	8,1820	7,6889

CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 3. Duração do período entre bicagem interna e externa (DBI-BE), entre bicagem interna e saída da casca (DBI-SC) e total da incubação (D1-SC) de pintos fêmeas, de acordo com a DBE-SC (Curto: 6-10h e Longo: 20-26h) e da temperatura de incubação (TI) (37,5°C e 39,0°C)

Tratamentos	D _{1-BI} (horas)	D _{BI-BE} (horas)	D _{BI-SC} (horas)	D _{1-SC} (horas)
D_{BE-SC} x TI				
Curto x 37,5°C	467,68±7,80	15,21±6,54a	24,41±3,23a	493,97±1,34
Curto x 39,0°C	469,94±8,03	8,24±9,34b	16,30±7,65b	482,76±5,43
Longo x 37,5°C	466,55±9,13	4,41±5,21c	27,22±5,44a	497,17±8,43
Longo x 39,0°C	462,40±6,46	6,61±8,54c	26,85±9,34a	490,68±7,71
D_{BE-SC}				
Curto	467,07±8,33	11,73±5,38	20,36±6,06	488,12b±8,93
Longo	466,17±0,10	5,51±3,83	27,05±3,59	493,92a±6,33
TI				
37,5°C	468,81±7,83	9,81±6,87	25,82±4,33	495,64a±6,75
39,0°C	464,43±8,01	7,43±4,03	21,35±6,70	486,72b±7,02
Probabilidade				
D _{BE-SC}	0,6963	<0,0001	<0,0001	0,0042
TI	0,0615	0,0428	0,0011	<0,0001
D _{BE-SC} x TI	0,1738	0,0002	0,0026	0,2060
CV (%)	1,6967	45,7650	17,5081	1,2815

CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P≤0,05).

3.1.4. Qualidade e peso corporal dos pintos fêmeas recém-eclodidos

Não houve diferença significativa na pontuação total média de qualidade entre pintos que apresentaram curta e longa D_{BE-SC} (P: 0,2892), entre os pintos de incubação à 37,5°C e 39°C (P: 0,9031) e nem interação entre ambas (P: 0,5831). A pontuação total média de qualidade recebida pelas aves dos diferentes tratamentos variou de 89,38 à 92,94, indicativa de que os pintos

fêmeas apresentaram muito boa qualidade (Fig. 2). Todavia, a análise da porcentagem de pintos apresentando as diferentes categorias de qualidade mostrou que os pintos de incubação à 37,5°C receberam a classificação excelente (30% para curta D_{BE-SC} e 20% para longa D_{BE-SC}) e muito boa (70% para curta D_{BE-SC} e 80% para longa D_{BE-SC}) qualidade, enquanto que os pintos de incubação à 39°C foram classificados como excelente (29,41% para curta D_{BE-SC} e 23,07% para longa D_{BE-SC}), muito boa (58,82% para curta D_{BE-SC} e 69,24% para longa D_{BE-SC}) e boa qualidade (11,77% para curta D_{BE-SC} e 7,69% para longa D_{BE-SC}). Sob incubação à 37,5°C, a porcentagem de pintos com excelente qualidade foi 10% maior e a de muito boa qualidade 10% menor quando a D_{BI-SC} foi curta, enquanto que sob incubação à 39°C, essas porcentagens foram de 6,37% e 10,42%, respectivamente. Além disso, problemas de empenamento ocorreram apenas nos pintos de incubação à 39°C, sendo que a ocorrência de aves de curta e longa D_{BE-SC} foi de 8,34%. Problemas com a incorporação do saco de vitelo não ocorreram nos pintos com longa D_{BE-SC} oriundos de incubação à 37,5°C, e foram mais frequentes em pintos com curta D_{BE-SC} oriundos de incubação à 39°C (16,7%) do que nos pintos com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C (8,34%) e nos de longa D_{BE-SC} de incubação à 39°C (8,34%). Problemas com o fechamento da região umbilical ocorreram nas aves de todos os tratamentos. Sua ocorrência foi maior nas aves de longa D_{BE-SC} (37,5°C: 50% e 39°C: 66,7%) do que nas aves de curta D_{BE-SC} (37,5°C: 16,7% e 39°C: 25%) e maior nas aves de incubação à 39°C do que à 37,5°C. A persistência do cordão alantóico também foi registrada em todos os tratamentos, mas com maior frequência nos pintos com curta D_{BE-SC} se incubação dos ovos ocorreu à 39°C e nos pintos com longa D_{BE-SC} se ovos foram incubados à 39°C (37,5°C e curta D_{BE-SC} : 33,4%; 37,5°C e longa D_{BE-SC} : 25%; 39°C e curta D_{BE-SC} : 16,7% e 39°C e longa D_{BE-SC} : 50%). Problemas de perna e nos olhos não foram constatados em nenhum dos tratamentos.

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos para os pesos corporais (g e %) dos pintos fêmeas, com e sem o saco de vitelo, e para a temperatura retal. Os pesos corporais com o saco de vitelo não foram influenciados pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação e interação entre ambas ($P>0,05$). Contudo, os pesos corporais sem saco de vitelo foram afetados significativamente pela duração da D_{BE-SC} , e foram menores nos pintos de longa D_{BE-SC} do que nos pintos de curta D_{BE-SC} ($P\leq 0,05$). Não houve efeito significativo ($P>0,05$) da D_{BE-SC} , da temperatura de incubação e nem da interação entre ambas sobre a temperatura retal.

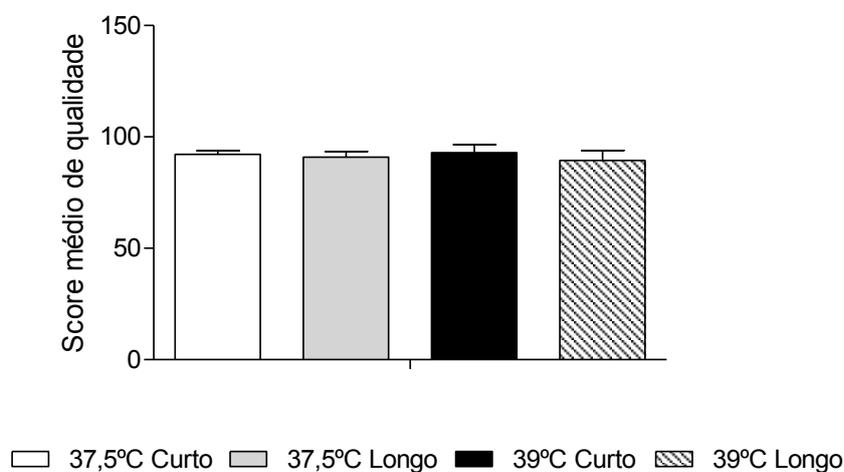


Figura 2- Pontuação média total de pintos fêmeas recém-eclodidos, de acordo com duração da fase entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e com a temperatura de incubação.

Tabela 4. Efeito da duração do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre o peso corporal (g, %) e a temperatura retal de pintos fêmeas recém-eclodidos

Tratamentos	PCCSV (g)	PCSSV (g)	PCCSV* (%)	PCSSV* (%)	Temperatura Retal (°C)
D_{BE-SC}					
Curto	50,63±1,85	42,30a±1,54	73,51±2,09	61,43a±2,21	39,05±0,60
Longo	50,58±1,76	41,27b±1,97	73,47±2,29	59,96b±2,73	39,17±0,96
TI					
37,5°C	50,89±2,01	41,98±1,86	73,74±2,52	60,84±2,67	39,29±0,97
39,0°C	50,32±1,63	41,59±1,52	73,29±1,83	60,54±2,04	38,93±0,62
Probabilidade					
D_{BE-SC}	0,9209	0,0404	0,9457	0,0407	0,6660
TI	0,2722	0,4194	0,4506	0,6705	0,1406
D_{BE-SC} X TI	0,1370	0,0997	0,4945	0,3891	0,6612
CV (%)	3,5682	4,0172	3,0390	3,9644	2,0906

PCCSV: peso corporal com saco de vitelo. PCSSV: peso corporal sem saco de vitelo. *: calculado em relação ao peso do ovo. CV: coeficiente de variação. TR: temperatura retal. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

3.1.3. Variáveis hematológicas

Os valores do eritrograma estão apresentados na Tabela 5. Os valores de HCT não foram influenciados pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação ou interação entre ambas ($P > 0,05$), todavia, houve uma tendência ($P < 0,07$) indicando aumento de HCT sob incubação à 39°C e redução com longa D_{BE-SC} . Ocorreu interação significativa ($P \leq 0,05$) entre a D_{BE-SC} e a temperatura de incubação para Hb, cujos valores foram maiores para os pintos de curta D_{BE-SC} provenientes de incubação à 39°C do que para os pintos dos demais tratamentos, que não diferiram entre si. Já os valores de RBC, HCM e VCM foram influenciados apenas pela temperatura de incubação. Pintos de ovos incubados à 39°C apresentaram maiores valores de RBC e menores valores de HCM e VCM quando comparados aos pintos de ovos incubados à 37,5°C

($P \leq 0,05$). Os valores de CHCM não foram afetados pela D_{BE-SC} , temperatura de incubação ou interação entre ambas ($P > 0,05$).

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para as concentrações de gases e variáveis bioquímicas do sangue. Os valores de BE_{ecf} , HCO_3^- e TCO_2 foram influenciados significativamente ($P \leq 0,05$) pela D_{BE-SC} . Os valores de BE_{ecf} foram maiores e os de HCO_3^- e TCO_2 menores nas aves de longa D_{BE-SC} . Além disso, ocorreu efeito marginal da temperatura de incubação ($P < 0,07$) sobre a TCO_2 , indicativo de maior TCO_2 nos pintos de incubação à 39°C. Para sO_2 , ocorreu interação significativa entre a D_{BE-SC} e a temperatura de incubação ($P \leq 0,05$), onde a sO_2 foi maior nos pintos com longa do que com curta D_{BE-SC} , ambos de incubação à 39°C. O pH, pCO_2 , pO_2 e concentrações de Na^+ e K^+ não apresentaram efeito significativo ($P > 0,05$) da D_{BE-SC} , temperatura de incubação ou interação entre ambas, porém, a pCO_2 foi maior e a concentração de Na^+ menor em pintos de incubação à 39°C do que à 37,5°C com $P < 0,06$ e $P < 0,08$. As concentrações de Cai e glicose foram influenciadas apenas pela D_{BE-SC} , e foram menores nos pintos de longa D_{BE-SC} .

Como mostrado na Tabela 7, não houve efeito significativo da D_{BE-SC} , temperatura de incubação ou interação entre ambas sobre as concentrações de colesterol e uréia no sangue. Entretanto, ocorreu interação significativa entre D_{BE-SC} e temperatura de incubação para ácido úrico e triglicérides ($p \leq 0,05$). Pintos com curta D_{BE-SC} provenientes de incubação à 39°C e pintos de longa D_{BE-SC} e incubação à 37,5°C apresentaram concentrações similares de ácido úrico e proteína total, porém maiores do que as observadas para os pintos com longa D_{BE-SC} provenientes de incubação à 39°C e com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C, que não diferiram entre si. A concentração de triglicérides foi maior nos pintos com longa D_{BE-SC} provenientes de incubação à 39°C do que nas aves dos demais tratamentos, que apresentaram valores similares para essa variável.

3.1.4. Hormônios T3 e T4

Houve efeito significativo da produção hormonal de T3 ($P \leq 0,05$) somente para temperatura de incubação, sendo que aves de temperatura de incubação

mais alta apresentaram menor produção de T3 (Tabela 8). A D_{BE-SC} e a temperatura de incubação não influenciaram a produção de T4 (Tab. 8).

Tabela 5. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre os parâmetros eritrocitários de pintainhos fêmeas pós-eclosão

Tratamentos	HCT (%PCV)	HGB (g/dL)	RBC (células/ $mm^3 \cdot 10^6$)	HCM (pg)	VCM (fL)	CHCM (%)
$D_{BE-SC} \times TI$						
Curto x 37,5°C	11,25±9,54	4,12±1,46b	0,99±7,98	156,21±15,67	55,59±43,56	36,98±4,43
Curto x 39,0°C	13,67±8,43	5,36±4,32a	1,54±9,55	105,99±23,54	43,56±65,43	40,97±9,45
Longo x 37,5°C	10,75±9,23	4,15±6,53b	0,97±11,23	144,26±30,23	53,76±25,45	38,93±3,21
Longo x 39,0°C	11,25±8,56	4,41±5,34b	1,57±8,65	75,06±27,65	29,37±76,01	38,89±4,86
D_{BE-SC}						
Curto	12,46±3,65	4,74±1,13	1,26±0,62	131,10±30,33	49,57±87,35	38,96±7,35
Longo	11,00±1,53	4,28±0,30	1,27±0,45	109,71±29,50	41,57±90,50	39,41±4,37
TI						
37,5°C	11,00±1,93	4,14±0,56	0,98±0,46b	150,29±34,65a	54,68±98,81 a	37,96±3,97
39,0°C	12,47±3,46	4,89±0,93	1,55±0,45a	90,53±21,21b	36,47±48,52 b	40,43±7,37
Probabilidade						
D_{BE-SC}	0,0699	0,0304	0,9467	0,3423	0,3895	0,8017
TI	0,0699	0,0007	0,0001	0,0344	0,0194	0,1616
$D_{BE-SC} \times TI$	0,2287	0,0288	0,8552	0,4630	0,7002	0,3863
CV (%)	23,1860	15,7262	37,1695	63,4052	71,8177	15,3141

CV: coeficiente de variação. HCT: valores de hematócrito; Hb: teores de hemoglobina; RBC: número total de hemácias; HCM: hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 6. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (DBE-SC) e da temperatura de incubação (TI) sobre gases, pH e íons sanguíneos de pintos fêmeas pós-eclosão

Tratamentos	BEecf (mmol/l)	HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	TCO ₂ (mmol/l)	sO ₂ (%)	pH	PCO ₂ (mmHg)	PO ₂ (mmHg)	Na ⁺	K ⁺ (mmol/l)	Cai	Glicose (mg/dL)
DBE-SCX TI											
Curto x 37,5°C	10,30±3,45	14,47±2,12	15,08±1,34	66,50±11,65ab	7,44±0,34	21,30±1,75	35,92±7,54	133,63±3,92	5,75±1,12	0,35±0,43	139,50±23,49
Curto x 39,0°C	9,00±1,54	15,95±3,45	16,75±2,38	62,42±13,45b	7,38±0,11	20,80±3,21	36,00±7,92	134,41±3,87	5,70±1,95	0,44±0,21	138,58±25,69
Longo x 37,5°C	12,50±2,11	12,15±2,33	12,75±3,50	60,75±12,54b	7,43±0,39	24,65±5,88	35,08±8,53	135,58±3,30	5,47±1,55	0,32±0,05	118,41±18,76
Longo x 39,0°C	10,60±3,45	13,51±2,34	14,16±4,22	72,08±6,09a	7,45±0,72	19,72±4,34	40,58±7,61	135,92±3,54	5,59±1,24	0,30±0,15	126,08±24,80
DBE-SC											
Curto	9,61±2,99	15,21a±2,88	15,91a±3,03	64,45±12,03	7,43±0,09	22,97±5,16	35,5±7,56	134,04±3,15	5,7±1,12	0,40a±0,11	139,04a±25,19
Longo	11,50±2,93	12,83b±2,990	13,46b±2,91	66,41±15,11	7,41±0,08	20,26±4,66	38,29±8,78	135,75±3,39	5,53±1,19	0,31b±0,09	122,25b±19,75
TI											
37,5°C	11,36±3,52	13,31±2,95	13,92±3,03	63,62±12,54	7,41±0,09	21,05±4,43	35,96±7,48	134,65±3,49	5,62±1,27	0,34±0,11	128,96±27,77
39,0°C	9,76±2,34	14,73±3,23	15,46±3,23	67,251±4,54	7,44±0,07	22,19±5,65	37,83±8,98	135,17±3,26	5,65±1,04	0,37±0,11	132,33±19,87
Probabilidade											
DBE-SC	0,0554	0,0069	0,0058	0,6111	0,5256	0,0598	0,2451	0,0841	0,5623	0,0052	0,0150
TI	0,1088	0,0992	0,0757	0,3483	0,2791	0,42222	0,4330	0,5708	0,9229	0,2527	0,6133
DBE-SC X TI	0,8466	0,9450	0,8834	0,0500	0,0908	0,1222	0,2592	0,8197	0,8029	0,0969	0,5209
CV (%)	27,7707	20,7808	19,9844	20,2435	1,1420	22,4960	22,2479	2,4746	21,0634	28,5982	17,5835

CV: coeficiente de variação. BEecf: excesso de base dióxido de carbono total; HCO₃⁻: bicarbonato; TCO₂:total de gás carbônico; ; sO₂ : saturação de oxigênio; PCO₂: pressão parcial de dióxido de carbono; PO₂:pressão parcial de oxigênio; Cai: cálcio ionizado. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P≤0,05).

Tabela 7. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e da temperatura de incubação (TI) sobre o colesterol total, uréia, ácido úrico, triglicérides e proteína total de pintos fêmeas pós-eclosão

Tratamentos	Colesterol total (mg/dl)	Uréia	Ácido úrico	Triglicérides	Proteína total (g/dl)
$D_{BE-SC} \times TI$					
Curto x37,5°C	278,64±75,41	27,38±3,27	3,39±1,29b	116,87±54,03b	1,89±0,16
Curto x 39,0°C	332,91±93,05	29,10±4,08	4,90±1,03a	152,56±73,29b	2,20±0,36
Longo x37,5°C	281,96±89,32	29,63±5,79	4,13±1,72a	105,47±67,93b	2,07±0,77
Longo x39,0°C	278,2±70,21	27,27±3,46	3,51±1,25b	251,63±88,20a	1,82±0,45
D_{BE-SC}					
Curto	305,77±71,62	28,19±4,20	4,15±1,58	134,71±55,96	2,04±0,47
Longo	280,74±82,62	28,51±3,70	3,85±1,32	170,34±74,20	1,96±0,44
TI					
37,5°C	280,30±62,06	28,44±4,22	3,76±1,29	111,17±43,81	1,98±0,41
39,0°C	312,59±90,55	28,24±3,68	4,29±1,61	196,59±87,99	2,03±0,50
Probabilidade					
D_{BE-SC}	0,3349	0,8772	0,4676	0,0703	0,5160
TI	0,3333	0,8117	0,3248	0,0005	0,8475
$D_{BE-SC} \times TI$	0,2766	0,1327	0,0242	0,0244	0,0637
CV (%)	25,8130	13,9517	34,4093	47,4557	22,4832

CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 8. Efeito do período entre bicagem externa e saída da casca (DBE-SC) e da temperatura de incubação (TI) sobre as concentrações de T₃ e T₄ (ng/mL) e relação T₃:T₄ de pintos fêmeas recém-eclodidos

Tratamentos	T ₃ (ng/mL)	T ₄ (ng/mL)	T ₃ /T ₄ (ng/mL)
D _{BE-SC}			
Curto	5,05±1,23	5,57±1,95	1,04±0,55
Longo	4,52±1,42	4,75±1,95	0,71±0,43
TI			
37.5°C	5,23±1,27a	5,07±1,99	0,86±0,55
39.0°C	3,94±1,07b	5,22±2,00	0,88±0,46
Probabilidade			
D _{BE-SC}	0,1161	0,0840	0,0791
TI	0,0009	0,6560	0,9294
D _{BE-SC} X TI	0,1215	0,3578	0,0515
CV (%)	24,86	38,48	55,40

CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P≤0,05).

4. DISCUSSÃO

Foi avaliado se o tempo entre a bicagem externa da casca e a saída da casca e a temperatura de incubação na fase fetal influenciam as variáveis de incubação, o aproveitamento da casca e a qualidade e características físicas e os variáveis eritrocitárias, gases e variáveis bioquímicas do sangue de pintos fêmeas.

Os resultados mostram que, independentemente da D_{BE-SC} , fêmeas provenientes de incubação à 39°C tiveram período de incubação mais curto e maior TCO do que aves de incubação à 37,5°C. Embora nossos resultados indiquem maior velocidade de desenvolvimento embrionário + fetal, essa relação não foi observada no presente estudo, uma vez que não houve diferença na D_{1-SC} entre os tratamentos. Ao final da incubação, a casca dos ovos incubados à 39°C estava mais fina, comparada a dos ovos de incubação à 37,5°C, sugerindo que período mais curto de incubação sob 39°C poderia estar relacionado com fase de eclosão mais curta. Isso foi demonstrado pelo menor D_{BI-BE} e D_{BI-SC} , mas apenas nas fêmeas que apresentaram curta D_{BE-SC} . Na fase de eclosão, com a troca da respiração alantoideana para a respiração pulmonar, a disponibilidade de oxigênio vai diminuindo e a pressão CO_2 vai aumentando no interior da câmara de ar do ovo devido à limitação de trocas gasosas através da casca (WANGENSTEEN, 1972; KHANDOKER et al., 2003). Alta temperatura de incubação aumenta a taxa metabólica do embrião e do feto e, conseqüentemente, sua demanda por oxigênio (Lourens et al., 2007; Molenaar et al., 2010), o que deve provocar mais rapidamente o déficit de O_2 e aumento de CO_2 no interior da câmara de ar e induzir eclosão mais rápida, em função da hipóxia e hipercapnia estabelecidas. A casca dos ovos, além de barreira física de proteção aos choques externos, é fonte de cálcio para formação e calcificação dos ossos (ALLCROFT, 1964). É conhecido que, a partir do 13º dia de incubação, ocorre intensa absorção de cálcio da casca pelo embrião (JOHNSTON e COMAR, 1955), e que ela aumenta à medida que se aproxima da eclosão, tornando a casca mais frágil e mais susceptível à ruptura (VANDERSTOEP e RICHARDS, 1970). Dessa forma, no presente estudo, a eclosão mais rápida das fêmeas oriundas de ovos incubados à 39°C que apresentaram curta D_{BE-SC} deve ter sido induzida pela ocorrência mais rápida

hipóxia e hipercapnia no interior da câmara de ar, possibilitada pela menor espessura de casca do ovo. Fêmeas com curta D_{BE-SC} apresentaram período mais curto de incubação, igual D_{1-BI} e mais longa D_{BI-BE} do que as fêmeas com longa D_{BE-SC} . A ruptura inicial da casca do ovo e o rompimento da mesma envolvem movimentos rítmicos vigorosos que requerem força muscular e gasto de energia (Willemsen et al., 2011), os quais podem ter sido obtidos com maior intensidade pelas fêmeas com longa D_{BI-BE} , possibilitando que elas rompessem a casca mais rapidamente.

Variações na série eritrocitária podem ocorrer durante todo o desenvolvimento e crescimento embrionário a fim de potencializar o transporte de oxigênio, podendo perdurar durante o processo de incubação e tornar-se fixas (WANGENSTEEN et al., 1970, 1971; TAZAWA et al., 1974; TAWAZA et al., 2011, MORITA et al., 2010). Fêmeas de ovos incubados à 39°C apresentaram maior RBC e menor VCM e HCM, mas que isso promoveu aumento de Hb apenas nas fêmeas com curta D_{BE-SC} . O aumento no potencial de transporte de gases dessas fêmeas deve estar relacionado com aumento da demanda por oxigênio e necessidade de eliminação de CO_2 , uma vez que alta temperatura de incubação aumenta a taxa metabólica do embrião e do feto (LOURENS et al., 2007). Segundo Tona et al. (2003), a D_{BI-BE} é mais curta quando o aumento da PCO_2 e redução na PO_2 ocorre mais rapidamente. Dessa forma, o aumento no potencial de transporte de gases das fêmeas com curto D_{BE-SC} em resposta à alta temperatura de incubação se mostrou insuficiente para atender a maior demanda por trocas gasosas, uma vez que elas apresentaram menor D_{BI-BE} que as fêmeas com curta D_{BE-SC} oriundas de incubação à 37,5°C. A D_{BE-SC} influenciou apenas os valores de Hb, e estes foram maiores nas fêmeas com curta do que com longa D_{BE-SC} , mas somente sob incubação à 39°C. O aumento do potencial de transporte de gases promovido pelo aumento de Hb pode ter contribuído para a longa D_{BI-BE} apresentado pelas fêmeas com curta D_{BE-SC} sob incubação à 39°C.

As variáveis hematimétricas também são afetadas por mudanças na osmolaridade do sangue (OSM), PO_2 , PCO_2 e pH associadas à hipóxia e hipercapnia (COSSINS e GIBSON, 1997; HOFFMANN et al., 2009). A análise gasométrica do sangue mostrou aumento na sO_2 sob incubação à 39°C apenas nas fêmeas com longa D_{BE-SC} , o que pode estar relacionado com a

maior demanda tecidual por trocas gasosas, provocada pelo aumento na taxa metabólica induzida por temperatura alta de incubação (LOURENS et al., 2007). Desequilíbrio na troca de gases pode provocar alcalose ou acidose respiratória. Em condições de estresse por calor ocorre redução da PCO_2 , em função do aumento da taxa respiratória e do desequilíbrio ácido-básico (Furlan e Macari, 2002), que pode influenciar o nível de iCa no sangue (MACARI et al., 2002). A ausência de alterações nos valores de TCO_2 , PCO_2 , BE_{ecf} , HCO_3^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e pH do sangue indica que equilíbrio ácido-base foi mantido sob incubação à 39°C pelo aumento do potencial de transporte de gases, independentemente da D_{BE-SC} . A ausência de diferença na concentração de íons de Ca no sangue entre temperaturas de incubação, especificamente, indica que fêmeas de ovos incubados à 39°C mantiveram as concentrações de íons de Ca no sangue, apesar do maior aproveitamento de casca.

O presente estudo também revelou os efeitos da D_{BE-SC} sobre variáveis gasométricas e eletrólitos do sangue das fêmeas. Fêmeas com curta D_{BE-SC} apresentaram concentrações maiores de HCO_3^- , TCO_2 , Ca_i e glicose no sangue comparado às fêmeas com longa D_{BE-SC} , bem como tendência no aumento da PCO_2 ($p < 0,06$). É conhecido que valor normal de pH não indica necessariamente a ausência de um distúrbio ácido-básico, dependendo do grau de compensação. Assim, embora não tenha sido registrado alteração do pH sanguíneo, o aumento nos valores de PCO_2 e TCO_2 pode indicar quadro de desequilíbrio ácido-básico (acidose respiratória) nas fêmeas com curta D_{BE-SC} , que, apesar do aumento de Hb, pode ter sido resultante de déficit nas trocas gasosas frente a D_{BI-BE} mais longa apresentada por essas fêmeas.

Ao mesmo tempo, contudo, fêmeas com curta D_{BE-SC} também apresentaram concentração maior de HCO_3^- . Também é conhecido que alterações na concentração de bicarbonato no plasma podem desencadear desequilíbrios ácido-básicos por distúrbios metabólicos. Assim, a maior concentração de HCO_3^- nas fêmeas com curta D_{BE-SC} indica quadro de alcalose metabólica, e que, acompanhado de concentração marginalmente ($P < 0,056$) menor de BE_{ecf} parece indicar um quadro de compensação. Como as fêmeas com curta D_{BE-SC} não apresentaram alteração de pH, nos resultados indicam que elas apresentam um distúrbio ácido-básico misto (acidose respiratória + alcalose metabólica).

O processo de eclosão dos pintos envolve movimentos musculares rítmicos vigorosos (DECUYPERE e WILLEMSSEN, 2011). Segundo os mesmos autores, ao final da incubação ocorre uma grande mobilização de cálcio da casca para o embrião, aumentando os níveis plasmáticos de cálcio. Pois, ao final da incubação ocorre uma mobilização ativa de cálcio da casca para o embrião, que requer o transporte ativo de cálcio pelas células ectodérmicas da membrana corioalantóica embrionária (TEREPKA et al., 1969). Dessa forma, o aumento na concentração de iCa no sangue apresentado pelas fêmeas com curta D_{BE-SC} , pode estar envolvido com a realização de movimentos musculares mais vigorosos e por mais tempo, induzidos pelo quadro de desequilíbrio ácido-básico, levando tais fêmeas a eclodirem mais rápido e, portanto, apresentarem menor D_{BE-SC} .

Além disso, fêmeas com curta D_{BE-SC} apresentaram maior concentração glicose no sangue que as fêmeas com longa D_{BE-SC} . A relação do aumento da concentração de glicose no sangue com a demanda energética para perfurar e romper a casca dos ovos tem sido proposta por vários autores (FREEMAN, 1965; JOHN et al., 1987; CHRISTENSEN et al., 2001; LU et al., 2007,).

Como já mencionado nessa discussão, perfuração inicial e o rompimento da casca envolvem movimentos ativos que requerem força muscular e gasto de energia (WILLEMSSEN et al., 2011), ocasionando aumento de metabolismo. Assim, a concentração maior de glicose no sangue também pode ter propiciado o rompimento mais rápido da casca pelas fêmeas e, conseqüentemente, sua mais curta D_{BE-SC} . Fêmeas com curta D_{BE-SC} apresentaram concentração menor de ácido úrico no sangue que as fêmeas com longa D_{BE-SC} quando a incubação ocorreu à 37,5°C e concentração maior de ácido úrico e menor de triglicérides, quando a incubação ocorreu à 39°C. Tais dados indicam diferenças induzidas nas fontes de produção de energia, que devem estar relacionadas com gasto energético entre a bicagem interna e externa da casca, uma vez que a D_{BI-BE} nas fêmeas com curta D_{BE-SC} foi marcadamente mais longa do que a das fêmeas com longa D_{BE-SC} sob incubação à 37,5°C do que à 39°C (85% e 20% mais longa, respectivamente).

Fêmeas com curta D_{BE-SC} apresentaram PCSSV menores que as de longa D_{BE-SC} , indicando maior utilização de nutrientes do saco de vitelo e conversão em peso corporal nas primeiras do que nas últimas, e que deve ter

sido possibilitada pela maior D_{BI-BE} , uma vez que não ocorreu diferença na D_{1-BI} entre as fêmeas desses dois tratamentos.

A D_{BE-EC} não interferiu nas concentrações de T_3 e T_4 e na relação $T_3:T_4$, mas que a concentração de T_3 foi menor quando a incubação ocorreu à 39°C, concordando com os resultados obtidos anteriormente por Piestun et al. (2008), Willemsem et al. (2010, 2011) e Morita (2015). Os hormônios da tireóide são interpretados como indicadores do metabolismo (TODINI, 2007). Apesar da menor concentração de T_3 , entretanto, não houve alteração do peso corporal e dos órgãos, mostrando que a queda na concentração desse hormônio não provocou alteração no crescimento fetal. Segundo Morita (2015), que também observou menores concentrações de T_3 em aves provenientes de incubação à alta temperatura a partir do 13º dia, baixos níveis de T_3 pode ser uma estratégia termorreguladora utilizado pelas aves para reduzir o metabolismo e, conseqüentemente, a produção de calor.

No que se refere à qualidade das aves na eclosão, embora a ausência de diferença na pontuação média total de qualidade das aves tenha indicado muito boa qualidade para os pintos de todos os tratamentos, longa D_{BE-SC} e alta temperatura de incubação diminuíram a porcentagem de pintos com excelente qualidade (sem anormalidades físicas e ativos). Longa D_{BE-SC} aumentou a porcentagem de pintos com muito boa qualidade sob incubação à 37,5°C e também a porcentagem de pintos com boa qualidade sob incubação à 39°C. Ambas aumentaram a ocorrência de pintos com problemas umbilicais e retenção do cordão alantoideano e menos ativos. Além desses problemas, alta temperatura de incubação também aumentou a ocorrência de problemas com a incorporação do saco de vitelo e induziu problemas com qualidade da penugem, concordando com os resultados de Almeida (2013).

Os dados deste revelaram pela primeira vez na literatura que a duração das subfases da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem interna e externa e entre bicagem externa e saída da casca) e a temperatura de incubação podem induzir ajustes eritrocitários, bioquímicos e hormonais, que influenciam a duração da incubação e a qualidade dos pintos fêmeas na eclosão, podendo determinar, bem como, sua eclosão.

REFERÊNCIAS

ALLCROFT, W.M. Incubation and hatchery practice. London: **Her Majesty's Stationary Office**; 1964.

ALMEIDA, V. R. **Efeito da temperatura de incubação e de criação sobre o tecido adiposo e desempenho de frangos de corte**. Dissertação de Mestrado, Jaboticabal/SP, Universidade Estadual Paulista, 2013. 112 p.

CHRISTENSEN, V. L., HAVENSTEIN, G. B, DAVIS, G. S. Egg characteristics, carbohydrate metabolism and hatchability of commercial turkey eggs. **Poultry Science**, v.73, n.2, p.236-244, 1994.

CHRISTENSEN, V. L., WINELAND, M. J., FASENKO, G. M., DONALDSON, W. E. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. **Poultry Science**, v. 80, p.1729–1735, 2001.

COLLIN, A.; BERRI, C.; TESSERAUD, S.; 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. Effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on thermotolerance and breast muscle characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 86, p. 795–800, 2007.

COSSINS, A.R., GIBSON, J.S. Volume-sensitive transport systems and volume homeostasis in vertebrate red blood cells. **Journal Experimental Biology**, v.200, p.343–352, 1997.

DECUYPERE, E., WILLEMSSEN, H. Physiological control mechanisms during late embryogenesis and during pipping and hatching. **Chick Program Online**, n.37, 2011. Disponível em: http://www.thepoultrysite.com/focus/contents/ceva/OnlineBulletins/ob_2011/Article-no37-July11.pdf. Acesso em: 28/04/2015.

FREEMAN, B. M. The relationship between oxygen consumption, body temperature and surface area in the hatching and young chick. **British Poultry Science**, v.6, p.67–72, 1965.

FURLAN, R. L.; MACARI, M. Termorregulação. In: **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. 2th rev. ed. Jaboticabal: Funep., 2002.

GLADYS, G. E.; HILL, D.; MEIJERHOF, R.; SALEH, T. M.; HULLET, R. M. Effect of embryo temperature and age of breeder flock on broiler post hatch performance. **Poultry Science**, v. 79, p. 123, 2000.

HOFFMANN, E.K., LAMBERT, I.H., PEDERSEN, S.F., Physiology of cell volume regulation in vertebrates. **Physiological Reviews**, v.89, p.193–277, 2009.

JOHN, T. M., GEORGE, J. C., MORAN JUNIOR, E. T. Pre- and posthatch ultrastructural and metabolic changes in the hatching muscle of turkey embryos from antibiotic and glucose treated eggs. **Cytobios**, v. 49, p.197–210, 1987.

JOHNSTON, P.M. e COMAR, C.L. Distribution and contribution of calcium from the albumen, yolk and shell to the developing chick embryo. **American Journal of Physiology**, v. 183, p. 365-370, 1955.

KHANDOKER, A. H., DZIALOWSKI, E. M., BURGGREN, W. W. e TAZAWA, H. Cardiac rhythms of late pre-pipped and pipped chick embryos exposed to altered oxygen environments. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 136^a, p. 289–299, 2003.

LANCASTER, F. M.; JONES, D. R. Cooling of broiler hatching eggs during incubation. **British Poultry Science**, v.29 p. 597-604, 1988.

LEANDRO,N.S.M., GONZALES,E., LODDI, M.M., TAKITA,T.S. Incubabilidade e qualidade de pintos de ovos de matrizes de frangos de corte submetidos estresse de temperatura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p.39-44, 1999.

LEKSRISOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, W.; BRANNAN, K. E.; BRAKE, J. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chick. **Poultry Science**, v. 86, p. 685–2691, 2007.

LOURENS A., VAN DEN BRAND H., HEETKAMP, M.J.W. et al. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. **Poultry Science**, v.86, p.2194-2199, 2007.

LU, J.W., MCMURTRY, J.P., COON, C.N. Developmental Changes of Plasma Insulin, Glucagon, Insulin-like Growth Factors, Thyroid Hormones, and Glucose Concentrations in Chick Embryos and Hatched Chicks. **Poultry Science**, v. 86,p.673–683, 2007.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.

MINNE, B., DECUYPERE, E. Effects of late prenatal temperatures on some thermoregulatory aspects in young chickens. **Archive fur Experimentelle Veterinary Medicine**, v.38 , p. 374–383, 1984.

MOLENAAR, R.; MEIJERHOF, R.; VAN DEN ANKER, I.; HEETKAMP, M. J. W.; VAN DEN BORNE, J. J. G. C.; KEMP,B.; VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration on survival rate and nutrient utilization in chicken embryos. **Poultry Science**, v. 89, p. 2010–2021, 2010a.

MOLENAAR, R., DE VRIES S., VAN DEN ANKER, I., MEIJERHOF, R., KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and a hole in the air

cell on the perinatal development and physiology of layer hatchlings. **Poultry Science**, v. 89, p.1716–1723, 2010b.

MOLENAAR, R.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R. et al. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period. **Poultry Science**, v.90, p.1257–1266, 2011.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; OLIVEIRA, J. A. Hematological and Incubation Parameters of Chicks from Young Breeders Eggs: Variation with Sex and Incubation Temperature. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 6, p. 606-612, 2010.

MORITA, V.S. **Programação térmica fetal: efeitos sobre a temperatura de preferência e características morfofisiológicas de frangos de corte**. Jaboticabal. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, 2015, 134p.

MORTOLA, J. P. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 153, p. 359–377, 2009.

NAKAGE, E. S.; J. P. CARDOZE; G. T. PEREIRA; S. A. QUEIROZ; I. C. BOLELI. Effect of temperature on incubation period, embryonic mortality, hatch rate, egg water loss and patridge chick weight (*Rhynchotus rufescens*). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, p.131–135, 2003.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v.31, p.735-738, 1952.

PIESTUN, Y., SHINDER, D, RUZAL, M. et al. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. **Poultry Science**, v.87, p.1516-1525, 2008.

PIESTUN, Y.; HAREL, M.; BARAK, M.; YAHAV, S.; HALEVY, O. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 233–240, 2009.

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

RAHN, H. CHRISTENSEN, V. L., EDENS, F.W. Changes in shell conductance, pore, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. **Poultry Science**, v.60, p.2536- 254, 1981.

ROMANOFF, A.L. The Extraembryonic Membranes in the Avian Embryo, Structural and Functional Development. **MacMillan Company**, New York, p.1041-1140, 1960.

SAS-Institute Inc. User's guide: statistics, version. 9.1 edition. Cary: SAS Institute, 2009.

SHINDER, D., RUSAL, M., GILOH, M., YAHAV, S. Effect of repetitive acute cold exposures during the last phase of broiler embryogenesis on cold resistance through the life span. **Poultry Science**, v.88, p.636–646, 2009.

TAZAWA, H., ANDREWARTHA, S. J., BURGGREN, W.W. Development of hematological respiratory variables in late chicken embryos: The relative importance of incubation time and embryo mass. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v.159, p. 225–233, 2011.

TAZAWA, H., ONO, T., MOCHIZUKI, M. Reaction velocity of carbon monoxide with blood cells in the chorioallantoic vascular plexus of chicken embryos. **Respiration Physiology**, v.20, p.161–170, 1974.

TEREPKA, A.R., STEWART, M.E., MERKEL, N. Transport functions of the chick chorio-allantoic membrane. II. Active calcium transport, in vitro. **Experimental Cell Research**, v.58, p. 107-117, 1969.

TODINI L. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. **Animal**, v.1, n.7, p.997-1008, 2007.

TONA, K.; BAMELIS, F.; DE KETELAERE, B.; BRUGGEMAN, V.; MORAES, V.M.B.; BUYSE, J.; ONAGBESAN, O.; DECUYPERE, E. Effects of egg storage time and spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. **Poultry Science**, v.82, n.5, p.736-741, 2003a.

TONA K.; MALLHEIROS, R.D.; BAMELES, F. Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. **Poultry Science**, v.82, p.840-845, 2003.

TZSCHENTKE, B., NICHELMANN, M. Influence of prenatal and postnatal acclimation on nervous and peripheral thermoregulation. **Annals New York Academy Sciences**, v.813, n.15 p.87-94, 1997.

TZSCHENTKE, B., HALLE, I. Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex ratio and later performance in male and female broiler chicks. **Poultry Science**, v.50, p.634–640, 2009.

VANDERSTOEP, J., RICHARDS, J.F. The changes in egg shell strength during incubation. **Poultry Science**, v. 49, p.276-285, 1970.

VAN DE VEN, L. J. F.; VAN WAGENBERG, A. V.; UITDEHAAG, K. A.; GROOT KOERKAMP, P. W. G.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Significance of chick quality score in broiler production. **Animal**, v.6 n.10, p.1677–1683, 2012.

VILLAMOR, E.; RUIJTENBEEK, K.; PULGAR, V.; DE MEY, JO G. R.; BLANCO, C. E. Vascular reactivity in intrapulmonary arteries of chicken embryos during transition to ex ovo life. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, v. 282, p. 917–927, 2002.

WANGENSTEEN, O.D., WILSON, O., RAHN, H. Diffusion of gases across the shell of the hen's egg. *Respiration Physiology*, v.11, p.16–30, 1970/71.

WANGENSTEEN, O.D.; RAHN, H. Respiratory gas exchange by the avian embryo. *Respiration Physiology*, v.11, p. 31–45, 1971.

WANGENSTEEN, O. D. Gas exchange by a bird's embryo. *Respiration Physiology*, v.14, p.64–74, 1972.

WILLEMSSEN, H.; EVERAERT, N.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; VERSCHUERE, F.; GARAIN, P.; BERCKMANS, D.; DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. Critical assessment of chick quality measurements as an indicator of post-hatch performance. *Poultry Science*, v.87, p. 2358–2366, 2008.

WILLEMSSEN, H.; KAMERS, B.; DHALKE, F. et al. High and low temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poultry Science*, v.89, p.2678-2690, 2010.

WILLEMSSEN, H.; WILLEMS, L.I.; FRANSSENS, Y.; WANG, E.; e DECUYPERE, E. Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. *Everaert Poultry Science*, v.90, p.1302-1312, 2011.

WILSON, H. R. Physiological requirements of the developing embryo: Temperature and turning. In: *Avian Incubation*. S. G. Tullet (ed.) Butterworth-Heinemann, London, 1991.

CAPÍTULO 4 - EFEITO DA PROGRAMAÇÃO TÉRMICA E DA DURAÇÃO DA ECLOSÃO SOBRE AS TEMPERATURAS DE PREFERÊNCIA E RESPOSTA AO CALOR DE FRANGOS DE CORTE FÊMEAS

RESUMO- Analisou-se o efeito da duração da fase de eclosão, associada ou não ao estresse por calor na fase fetal, sobre a preferência térmica, a temperatura corporal, e a resposta ao desafio térmico de frangos de corte fêmeas. Ovos férteis de matrizes pesadas (Cobb®) foram incubadas a 37,5°C até o 12º dia de incubação e no 13º quatro incubadoras tiveram sua temperatura elevada para 39°C e as outras quatro permaneceram a 37,5°C, ambas a 60% UR, com 112 ovos cada. Filhotes fêmeas com curto ou longo período entre bicagem externa e eclosão de ambas as temperaturas de incubação foram criados em uma câmara climática sob temperaturas recomendadas para a linhagem (4 repetições de 15 aves cada/tratamento), e receberam água e dieta ad libitum. As aves foram submetidas aos testes de preferência térmica no dia 1 e, em seguida, semanalmente até 35 dias de idade, e ao desafio térmico (exposição ao calor) após no dia seguinte aos teste de preferência, usando câmaras construídas especificamente para estes testes. Antes e ao final do teste foram aferidas as temperaturas do reto e da superfície da pele de diferentes regiões do corpo (preferência térmica), e a frequência dos movimentos respiratórios e temperatura retal (desafio térmico). Período mais longo de eclosão e alta temperatura de incubação diminuíram a temperatura preferida pelos pintos na eclosão, mas alta temperatura aumentou a partir do dia 7, principalmente em pintos com longo período de eclosão. Temperatura retal foi maior para as fêmeas de incubação à 39°C no dia 14º e 35º de idade. Período de eclosão e temperatura de incubação influenciaram a temperatura da superfície das regiões do corpo de forma intermitente ao longo da idade e distinta entre as regiões. No entanto, a temperatura da superfície da pele foi frequentemente maior nas fêmeas de incubação a 39°C. Independente do tratamento, as fêmeas responderam ao calor aumentando a frequência dos movimentos respiratórios, que retornou aos valores normais quando retornaram à temperatura preferida. A temperatura retal aumentou durante a exposição ao calor apenas no 1º dia de idade e em pintos com período de incubação longo de eclosão e incubação dos ovos sob a 37,5°C e naqueles com período curto ou longo de eclosão e incubação dos ovos à 39°C. Os resultados mostram que duração da fase de eclosão e a alta temperatura de incubação influenciam a preferência térmica de frangos de corte fêmeas até 35 dias de idade, mas não influenciam sua resposta ao desafio térmico.

Palavras-chave: desafio térmico, fêmeas, período de eclosão, preferência térmica, temperatura de incubação

CHAPTER 4 - EFFECT OF THERMAL PROGRAMMING AND HATCHING TIME ON PREFERRED TEMPERATURES AND RESPONSE TO HEAT OF FEMALE BROILERS

ABSTRACT -It was analyzed the effects of the duration of hatching phase associated or not with heat stress during fetal phase on thermal preference, body temperature, and response to thermal challenge of female hatchlings. Fertile broiler breeder eggs (Cobb®) were incubated at 37.5°C or 39°C and 60% RH from day 13 of incubation to hatching, using four incubators per incubation temperature with 112 eggs each. Females hatchlings with short or long period between external pipping and hatching from two incubation temperatures were reared in a climatic chamber maintained at recommended temperatures for the line (4 replicates of 15 birds each/treatment), and received water and diet *ad libitum*. The birds were subjected to thermal preference testing at day 1 and then weekly up to 35 days old and to thermal challenges (exposition to heat) after and before preferred temperature conditions at day after the thermal preference tests, using chambers built specifically to these tests. At the end of each period (preferred, high and preferred temperature) was evaluated the rectal and skin surface temperatures of different body regions, and the frequency of respiratory movements of the birds. All data were analyzed as to effects of hatching period and incubation temperature and interactions. using the SAS ® program, and, for significant interactions ($P < 0.05\%$), the Tukey test for comparison of means was used. Longer hatching period and high incubation temperature decreased preferred temperature of hatchlings, but high temperature increased it from day 7, mainly in chicks of long hatching period. Rectal temperature was higher to females from incubation at 39°C, but only at day 14 and 35 of age. Hatching period and incubation temperature influenced surface temperature of body regions, but the effects were not constant during age and nor similar among regions. However, skin surface temperature was frequently higher in females from incubation at 39°C. Independent of treatment, females responded to heat exposure increasing the frequency of respiratory movements, which returned to normal values under posterior exposure to preferred temperature. Rectal temperature increasing during heat exposure occurred only at day 1 of age in hatchlings with long hatching period under egg incubation at 37.5°C and in those with short or long hatching period at egg incubation at 39°C. The results showed hatching time and high incubation temperature influence the thermal preference of female broilers until 35 days of age, but had no effect on their response to thermal challenges.

Key-words: incubation temperature, hatching time, thermal challenge, thermal preference

1. INTRODUÇÃO

A otimização da produção de frangos envolve produção de pintos com boa qualidade e que apresentem máximo desempenho e mínima taxa de mortalidade e de descarte. Nesse sentido, é de suma importância conhecer os fatores que influenciam a qualidade dos pintos recém-eclodidos.

Assincronismo na eclosão e temperatura de incubação são fatores que influenciam a qualidade dos pintos. O assincronismo na eclosão prejudica a qualidade e diminui a homogeneidade dos pintos de mesmo lote, devido à exposição dos primeiros eclodidos à períodos mais longos de jejum de água e ração que os últimos a eclodirem (GONZALES et al., 2008; RICCARDI et al., 2011). A temperatura de incubação interfere na velocidade do desenvolvimento *in ovo*, eclodibilidade e qualidade dos pintos na eclosão (ROMANOFF, 1960; LANCASTER; JONES, 1988; WILSON, 1991; LEANDRO et al., 1999; NAKAGE et al., 2003; MORITA et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013). Avaliando os fatores que determinam a eclosão mais cedo ou mais tarde dos pintos, resultados de nosso estudo anterior mostraram que a amplitude da janela de eclosão está relacionada com o sexo dos pintos (Cap. 2) e com a duração do período de eclosão propriamente dito, o qual, associado ou não com alta temperatura de incubação, interfere com a qualidade dos pintos (Cap. 3).

Alta qualidade de pintos apenas, não é garantia de sobrevivência e ótimo desempenho, pois vários fatores podem interferir sobre ela. O bom desempenho de pintos de alta qualidade é determinado inicialmente pela temperatura ambiente. Exposição à temperaturas inadequadas eleva a taxa de mortalidade precoce dos pintos (Erikstad, Andersen, 1983; Erikstad, 1985). Além disso, temperatura de incubação interfere na preferência térmica das aves de frangos de corte e patos (NICHELMANN, 2004; TZSCHENTKE, 2007; MORITA, 2015), podendo influenciar os efeitos da temperatura ambiente sobre a sobrevivência e crescimento inicial dos pintos, uma vez que estes adquirem maturidade termorregulatória em torno dos 10 dias de idade (MORAES et al., 2003; TZSCHENTK, 2007).

A bicagem externa da casca dos ovos é desencadeada pelo esgotamento de O₂ disponível e saturação de CO₂ dentro na câmara de ar (WANGENSTEEN e RAHN, 1970, 1971; TONA et al., 2003, MORTOLA, 2009).

Isso sugere que a disponibilidade de O_2 na câmara de ar deve estar relacionada com o assincronismo na eclosão, que foi reforçado pelos resultados dos estudos anteriores (Cap.2 e 3), no qual verificamos que fêmeas apresentam tendência de eclodirem mais cedo do que os machos, estando relacionado com maior espessura de casca e menor potencial de transporte de gases (Cap. 2), e que pintos com longo período entre bicagem externa e saída da casca e os de incubação á 39°C fazem a bicagem externa mais cedo (Cap. 3) devido ao menor potencial de transporte de gases frente à alta demanda dos pintos por O_2 e baixa disponibilidade de O_2 na câmara de ar na eclosão.

Não se conhece os efeitos da duração do período de eclosão sobre a preferência térmica e resposta ao desafio por calor quer seja na fase inicial ou de crescimento dos frangos. No presente estudo, foi analisado se a duração do período de eclosão, associada ou não à alta temperatura de incubação, influencia a preferência térmica e a resposta ao calor dos frangos durante a fase de criação. A obtenção de tais dados é de suma importância, pois podem contribuir para um estabelecimento de manejo na incubação que propicie melhora no bem-estar das aves e, conseqüentemente, na produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Delineamento Experimental

Foram incubados 1132 (65-70g) ovos férteis de matrizes de frangos de corte (Cobb®-500) com 56 semanas de idade, provenientes de incubatório comercial (Globo Aves, Itirapina-SP) em 10 incubadoras horizontais (Premium Ecológica) (N=113 ovos/incubadora), com controle automático de temperatura e giro à cada 2 horas. Do 1° ao 12° dia de incubação, as incubadoras foram mantidas à $37,5^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 60%. A partir do 13° dia de incubação, cinco incubadoras tiveram sua temperatura elevada para 39°C , e as outras cinco incubadoras foram mantidas à $37,5^\circ\text{C}$, todas com UR à 60%. A viragem dos ovos foi desligada a partir do 18° dia de incubação até a finalização do período de incubação (504 horas). A alteração da temperatura de incubação a

partir do 13° dia baseou-se nos dados de McNabb e Olson (1996), em que o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide já se encontra estabelecido nessa idade.

A duração da incubação foi determinada a partir do primeiro dia de incubação até a bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e duração total da incubação (D_{1-SC}), todas expressas em horas. Para determinação do momento da bicagem externa, os ovos foram observados visualmente à cada 30 minutos a partir do 19° dia de incubação. Após a eclosão, 72 pintos fêmeas de cada tratamento foram alojados em 32 boxes (2,50 x 1,50m, N=9) em duas câmaras climáticas (UNESP-JABOTICABAL/Laboratório de Ciências Avícolas-Lavinesp) mantidas à temperatura termoneutra recomendada para a linhagem Cobb®.

A temperatura e a umidade relativa no interior das câmaras climáticas foram registradas três vezes ao dia durante todo o período experimental. Para isso, utilizaram-se dois termo-higrômetros digitais (Incoterm®) localizados em pontos equidistantes do galpão. Da primeira à sexta semana de experimento, os valores semanais médios de temperatura e de UR, obtidos pela média entre o valor mínimo e máximo, foram 33,4°C, 29,5°C, 27,2°C, 25,3°C, 23,0°C, 21,0°C e de 67%, 76%, 68%, 64%, 65%, 60%, respectivamente. O controle da temperatura das câmaras climáticas foi feito através de monoblocos, ventiladores e lâmpadas de aquecimento para que as temperaturas nas câmaras estivessem dentro dos intervalos preconizados para a linhagem Cobb®. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

As rações utilizadas foram à base de milho e farelo de soja, formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011), para as fases inicial (1 a 21 dias de idade) e de crescimento (22 a 42 dias de idade), (Tab.1). Da 1ª a 6ª semana, as aves foram testadas semanalmente quanto à sua preferência térmica e resposta à desafio térmico.

O delineamento experimental consistiu em um fatorial 2x2, sendo duas temperaturas de incubação (37,5°C e 39°C) e duas durações do período de eclosão dos pintos (curto: 6-10 horas, longo: 20-26 horas).

2.1.1. Temperatura superficial e retal

Nove aves/tratamento foram utilizadas para mensuração da temperatura retal com um auxílio de um termômetro digital (Mede QCO, precisão de 0,1°C).

Para a análise da temperatura superfície corporal da cabeça, pescoço (região torácica-dorsal), peito (região torácica ventral), pé e olho foram obtidas imagens termográficas utilizando-se uma câmera termográfica com precisão de 0.7°C e faixa espectral de 7,5-13µm (FLIR E40, Stockholm, Sweden), posicionada a um metro de distancia das aves e posicionada formando um ângulo de 90° com a superfície do mesmo, conforme protocolo de utilização do equipamento.

2.1.4. Preferência térmica

A análise de preferência térmica das aves foi baseada nos métodos de Myhre et al. (1975) e Walstra et al. (2010) e adaptado de Morita (2015). Para isso, foram construídas duas câmaras de formato retangular (comprimento x altura x largura: 160x50x60 cm), com paredes menores de alumínio e paredes maiores de placa de MDF na cor branca, teto de acrílico transparente e piso de grade de alumínio sobre bandeja de alumínio. Cada câmara possui duas resistências térmicas (1000 W) fixadas no piso da caixa, em lados opostos e paralelamente ao comprimento das câmaras, próximo à uma de suas extremidades. Na extremidade oposta, no centro da placa de alumínio, as câmaras possuem uma entrada tubular para o ar, à qual se acopla externamente um ar condicionado portátil. Isso possibilita o estabelecimento de um gradiente térmico de 19 à 40°C ao longo da extensão das câmaras. O gradiente de temperatura no interior das câmaras é registrado por 12 sensores térmicos distribuídos de maneira equidistantes ao longo de seu comprimento. O posicionamento e o deslocamento das aves no interior das câmaras são registrados por 12 sensores infravermelhos, distribuídos ao longo do comprimento das câmaras no lado oposto ao dos sensores térmicos. Os dados de temperatura e posição das aves são registrados e armazenados por minuto, por meio de um software desenvolvido para monitoramento do gradiente de temperatura, o qual se encontra acoplado a um computador.

Para a determinação da temperatura de preferência das aves, foram utilizadas duas aves por teste, num total de nove aves por tratamento. Estudos preliminares mostraram que quando as aves foram colocadas individualmente

nas câmaras de preferência, elas permaneceram imóveis, portanto, não exploravam o gradiente térmico disponível. O mesmo não ocorreu quando as aves foram colocadas em duplas, as quais passaram a caminhar por todo o gradiente, ou ao menos, grande parte deste. Os testes de preferência térmica foram executados simultaneamente nas duas câmaras no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dia pós-eclosão, pois a partir dos 35 dias de idade as aves não apresentaram mobilidade significativa na escolha do gradiente térmico.

Nos 40 minutos iniciais do teste, as aves foram colocadas na região central da câmara e estimuladas a explorar o gradiente térmico, para reconhecimento e adaptação ao ambiente. Nos 60 minutos subsequentes, as aves foram reposicionadas no centro das câmaras, a partir do que se iniciou o registro dos dados de posicionamento, deslocamento e temperatura. Após o término dos testes, a partir dos registros do software, foram determinadas as temperaturas ambientes preferidas. A determinação da preferência térmica levou em consideração a temperatura ambiente na qual a ave passou maior tempo. No caso de mais de uma temperatura ter sido a preferida, foi calculada a média entre elas. Posteriormente, as aves foram identificadas e alojadas novamente nas câmaras climáticas, para então serem submetidas aos testes de desafio térmico no dia seguinte.

A temperatura retal das aves foi mensurada nos dias de teste de preferência, sendo obtida anteriormente ao teste, nas câmaras climáticas.

2.1.3. Desafio térmico

As aves foram submetidas aos testes de desafio térmico baseados na metodologia de Walstra et al. (2010), conforme Morita (2015), nos quais utilizou-se duas câmaras climáticas. As câmaras foram construídas de plástico crílico (lado x lado x altura: 80x80x80cm), equipadas com termostatos, ventiladores e umidificadores controlados automaticamente, o que possibilita variar a temperatura ambiente de 15°C à 40°C e a umidade relativa do ar. Os testes de desafio foram executados nas câmaras no 2º, 8º, 15º, 22º, 28º e 36º dia pós-eclosão, utilizando-se as aves dos testes de preferência térmica do dia anterior. Foram utilizadas três aves/tratamento por teste, totalizando nove aves/tratamento. Esse procedimento foi adotado para possibilitar o desafio

térmico de todas as aves utilizadas nos testes de preferência realizados anteriormente.

O teste de desafio consistiu de três intervalos consecutivos de 45 minutos cada, totalizando 135 minutos. No primeiro intervalo, a temperatura da câmara foi ajustada para a temperatura ambiente de preferência das aves, obtida no dia anterior. No intervalo seguinte, a temperatura foi aumentada em 5°C, sendo este considerado o período de desafio térmico das aves. E por fim, no último intervalo, a temperatura da câmara foi reduzida em 5 graus, voltando à temperatura de preferência. Durante todo o teste de desafio térmico a umidade relativa do ar foi mantida em 60%. O tempo médio que o termostato da câmara leva para aumentar ou reduzir sua temperatura em 5°C (aproximadamente quatro minutos), não entrando na contabilização dos 45 minutos de cada intervalo. Ao final de cada intervalo, foram registradas a temperatura retal das aves e a frequência respiratória das mesmas, obtida por meio da observação de movimentos respiratórios (mov.min^{-1}). A determinação da frequência de movimentos respiratórios se deu a partir da contagem do número de movimentos abdominais realizados pela ave durante 15s, cujo valor foi multiplicado por quatro para obtenção do número de movimentos realizados por minuto. A temperatura retal das aves foi mensurada após a determinação da frequência dos movimentos respiratórios, utilizando termômetro digital de uso veterinário (Incoterm®, modelo 5198, escala entre 34 e 44°C e limite de erro de 0,1°C), introduzido, via cloaca, à 3 cm de profundidade no reto das aves. Após a finalização dos testes, as aves utilizadas foram identificadas para não serem reutilizadas nos testes de preferência das idades seguintes. Tal exclusão foi necessária para evitar a adaptação das aves às câmaras, além do condicionamento térmico à altas temperaturas durante a fase de transição térmica das aves (TAZAWA et al., 1988).

2.2. Estatística

Os efeitos da duração da fase de eclosão [intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca ($D_{\text{BE-SC}}$)], da temperatura de incubação (TI) e da interação ($D_{\text{BE-SC}} \times \text{TI}$) foram analisados sobre todas as variáveis estudadas,

usando o modelo $Y_{ijk} = \mu + D_{BE-SCi} + Tl_j + (D_{BE-SC} \times Tl)_{ij} + e_{ijk}$. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa SAS ® (SAS Institute, 2009). Em caso de interação significativa, foi realizada comparação de médias pelo Teste de Tukey, com 5% de significância.

3. RESULTADOS

3.1.1. Preferência térmica

A Figura 1 e 2 apresentam a preferência térmica e a Figura 3A, a temperatura retal dos frangos fêmeas ao longo da idade. A preferência térmica no 1º dia de idade foi influenciada pela D_{BE-SC} , pela temperatura de incubação e interação entre ambas. Pintos com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C preferiram temperatura mais elevada do que os pintos dos demais tratamentos, pintos com curta D_{BE-SC} de incubação à 39°C preferiram temperatura maior do que os pintos com longa D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C e 39°C, os quais não diferiram entre si. Não foram observados efeitos significativos da D_{BE-SC} , da temperatura de incubação e da interação entre ambas sobre a preferência térmica dos pintos com 7 dias de idade. A preferência térmica no 14º dia foi influenciada significativamente pela D_{BE-SC} e pela interação entre esta e a temperatura de incubação, de acordo com a qual pintos com longa D_{BE-SC} de incubação à 39°C preferiram temperatura maior que os pintos dos demais tratamentos, pintos com longa D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C e com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C apresentaram preferiram temperaturas similares, mas mais altas do que os pintos com longa D_{BE-SC} de incubação à 39°C. Aos 21 dias de idade, a preferência térmica das fêmeas foi influenciada pela D_{BE-SC} , e foi maior para os pintos com longa do que com curta D_{BE-SC} ($P \leq 0,05$). Todavia, ocorreu uma tendência da temperatura de incubação e da interação ($P < 0,07$) da temperatura de preferência maior para pintos com longa D_{BE-SC} apenas quando a temperatura de incubação 39°C. No 28º dia de idade, a preferência térmica foi influenciada pela D_{BE-SC} e pela temperatura de incubação, e foi mais alta para pintos com longa D_{BE-SC} e para pintos de incubação à 39°C ($P < 0,05$).

A preferência aos 35 dias de idade foi influenciada apenas pela temperatura de incubação, e foi mais alta para os pintos de incubação à 39°C. As Figuras 1 e 2 mostram que a preferência térmica diminuiu ao longo da idade.

3.1.1. Temperaturas retal e da superficial da pele

As Figuras 3, 4, 5 e 6 apresentam os efeitos da D_{BE-SC} e da temperatura de incubação sobre as temperaturas retal e da superfície das diferentes regiões do corpo dos frangos fêmeas ao longo da idade. No que se refere à temperatura retal, ocorreu efeito significativo ($P \leq 0,05$) da temperatura de incubação no 14° e 35° dia de idade, nos quais ela foi pouco mais alta para pintos de incubação à 39°C do que à 37,5°C (Figura 3 A). A temperatura superficial do pé foi influenciada pela D_{BE-SC} no 7° dia e pela temperatura de incubação no 14° dia, nos quais foi maior nos pintos com longa D_{BE-SC} e nos pintos de incubação à 39°C ($P < 0,05$) (Figura 3 B). A temperatura superficial do olho foi influenciada pela temperatura de incubação no 7° e no 14° dia e foi mais alta nos pintos de incubação à 37,5°C e à 39°C, respectivamente (Figura 4 A). A temperatura superficial do pescoço foi influenciada apenas pela temperatura de incubação e no 7°, 14° e 21° dia, nos quais foi maior nos pintos de incubação à 39°C (Figura 4 B). A temperatura superficial da cabeça foi influenciada pela D_{BE-SC} no 1° dia e pela temperatura de incubação no 14° e 21° dia, e foi maior nos pintos de longa D_{BE-SC} e nos pintos de incubação à 39°C, respectivamente (Figura 5 A). A temperatura superficial do dorso foi influenciada pela D_{BE-SC} no 21° dia e foi maior nos pintos de longa D_{BE-SC} , bem como pela temperatura de incubação no 1° e 14° dia, quando foi mais alta nos frangos de incubação à 39°C (Figura 5 B). Por sua vez, a temperatura superficial da asa foi influenciada pela D_{BE-SC} no 21° dia e pela temperatura de incubação no 14° dia, quando foi maior nos pintos de incubação à 39°C e nos pintos de longa D_{BE-SC} , respectivamente (Figura 6).

3.1.2. Desafio térmico

As frequências dos movimentos respiratórios (FMR) e as temperaturas retais dos frangos aferidas ao final dos períodos de exposição à temperatura preferida, estresse por calor (5°C acima da temperatura de preferência) e novamente da temperatura preferida são mostradas na Figura 7 e 8. Nos frangos com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C, em todas as idades houve aumento significativo ($P \leq 0,05$) da FMR com a exposição ao calor e diminuição da mesma quando as aves voltaram a serem expostas à temperatura preferida, cujos valores voltaram aos observados antes do estresse calórico, exceção feita ao 1º dia de idade no qual a FMR não diminuiu. Nos frangos com longa D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C e nos com curta D_{BE-SC} de incubação à 39°C, não houve aumento da FMR com a exposição ao calor no 1º dia ($P > 0,05$), mas, a partir do 7º dia, as FMR aumentaram com o calor e diminuíram com o retorno dos frangos à temperatura preferida, sendo seus valores similares aos apresentados pelas aves antes do estresse por calor ($P < 0,05$). Os frangos com longa D_{BE-SC} de incubação à 39°C também não apresentaram alteração da FMR com a exposição ao calor no 1º e 7º dia de vida, mas no 7º dia apresentaram diminuição da FMR ao retornarem à temperatura de preferência atingindo valores similares aos observados antes do estresse calórico. Nas demais idades ocorreram aumento da FMR com o calor e redução da mesma com o retorno à temperatura de preferência, atingindo valores similares aos registrados antes do estresse.

A Tabela 3 apresenta os efeitos da D_{BE-SC} e da temperatura de incubação sobre o aumento ($FMR_C - FMR_{PAC}$: diferença entre a FMR sob calor e a FMR sob temperatura de preferência antes da exposição ao calor) e diminuição ($FMR_C - FMR_{PDC}$: diferença entre a FMR sob calor e a FMR sob temperatura de preferência depois da exposição ao calor) da FMR, cujos dados mostram ausência de efeitos da D_{BE-SC} , da temperatura de incubação e da interação entre ambas.

As temperaturas retais ao final dos três períodos dos testes de desafio térmico são mostradas na Figura 8. Nos frangos com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C não houve alteração da temperatura retal com a exposição ao calor em nenhuma das idades analisadas ($P \leq 0,05$). Já nos frangos com curta D_{BE-SC} de incubação à 37,5°C e nos frangos com curta e longa D_{BE-SC} de incubação à 39°C, apenas no 1º dia de vida, a FMR aumentou significativamente com a

exposição ao calor e diminuiu com o retorno à temperatura de preferência, atingindo valores similares aos observados antes da exposição ($P \leq 0,05$).

Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de inicial (1-21 dias de idade) e crescimento (21-42 dias de idade)

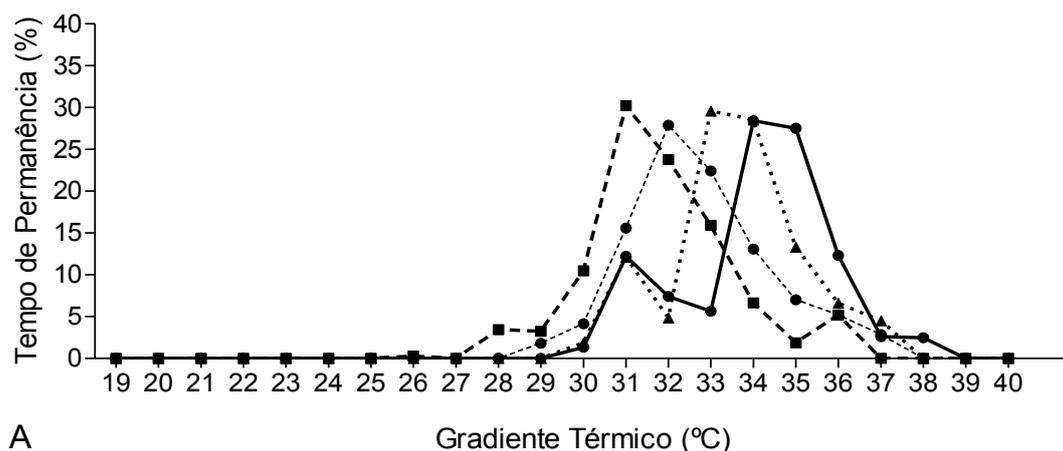
Ingredientes (%)	Inicial	Crescimento
Milho	60,81	63,74
Farelo de soja 45%	35,15	29,79
Óleo soja	-	3,12
Fosfato bicálcico	1,63	1,16
Calcário	0,84	0,76
Sal	0,42	0,44
L-Lisina HCL (78%)	0,25	0,21
DL-Metionina (99%)	0,29	0,23
L-Treonina	0,08	0,04
BHT	0,01	0,01
Suplemento vitamínico e mineral*	0,50	0,50
TOTAL	100,00	100,00
Composição nutricional calculada		
Proteína bruta (%)	21,27	18,86
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.883	3.121
Ca (%)	0,85	0,69
Na (%)	0,19	0,20
Fósforo disponível (%)	0,42	0,32
Metionina + cistina dig. (%)	0,88	0,77
Metionina dig. (%)	0,56	0,49
Lisina dig. (%)	1,22	1,05
Treonina dig. (%)	0,79	0,68
Triptofanodig. (%)	0,24	0,21
Arginina dig. (%)	1,32	1,16

* Nutrientes por quilograma de ração: fase de 1 a 21 dias de idade - Vit. A 7.000 U.I., Vit. D3 3.000 U.I., Vit.E 25 U.I., Vit. K 0,98 mg, Vit. B1 1,78 mg, Vit. B2 9,6 mg, Vit. B6 3,5 mg, Vit. B12 10 µg, Ácido Fólico 0,57 mg, Biotina 0,16 mg, Niacina 34,5 mg, Pantotenato de Cálcio 9,8 mg, Cobre 0,12 g, Cobalto 0,02 mg, Iodo 1,3 mg, Ferro 0,05 g, Manganês 0,07 g, Zinco 0,09 mg, Zinco Orgânico 6,75 mg, Selênio 0,27 mg, Colina 0,4 g, Promotor de crescimento (bacitracina de zinco) 30 mg, (narasina+nicarbazina) 0,1g, Metionina 1,68g; Fase de 21 a 42 dias de idade - Vit. A 7.000 U.I., Vit. D3 3.000 U.I., Vit.E 25 U.I., Vit. K 0,98 mg, Vit. B1 1,78 mg, Vit. B2 9,6 mg, Vit. B6 3,5 mg, Vit. B12 10 µg, Ácido Fólico 0,57 mg, Biotina 0,16 mg, Niacina 34,5 mg, Pantotenato de Cálcio 9,8 mg, Cobre 0,12 g, Cobalto 0,02 mg, Iodo 1,3 mg, Ferro 0,05 g, Manganês 0,07 g, Zinco 0,09 mg, Zinco Orgânico 6,75 mg, Selênio 0,27 mg, Colina 0,6 g, Promotor de crescimento (avilamicina) 7,5 mg, (monensina sódica) 0,1g, Metionina 1,4g.

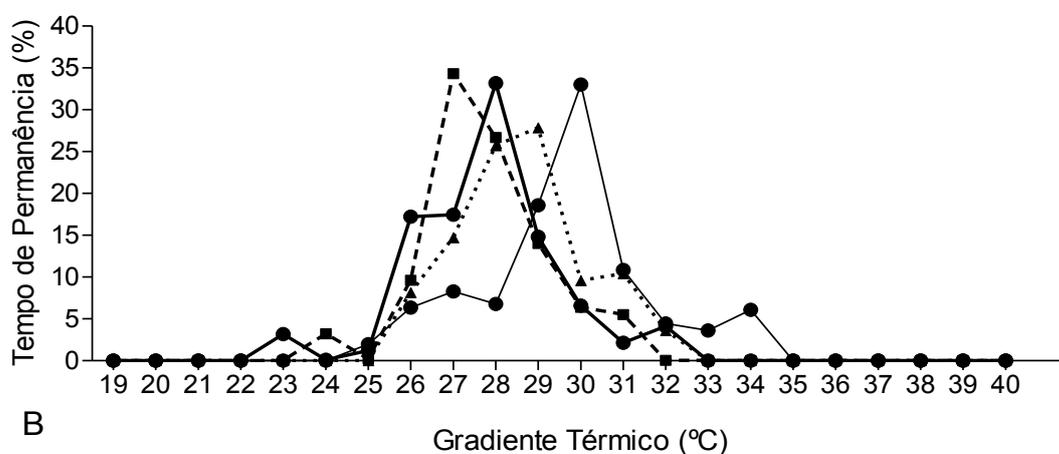
Tabela 2. Temperaturas de preferência de frangos de corte fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com a duração entre a bicagem externa e saída da casca (D_{BE-SC}) e com a temperatura de incubação (TI)

Efeitos	Idade (dias)					
	1	7	14	21	28	35
$D_{BE-SC} \times TI$						
Curto x 37,5°C	34.75a	27.62	27.00b	26.50	23.00	21.00
Curto x 39,0°C	33.62b	27.50	26.14c	26.50	24.00	22.25
Longo x 37,5°C	31.12c	27.62	27.86b	26.62	24.00	20.25
Longo x 39,0°C	32c	28.87	28.5a	28.00	25.00	22.25
D_{BE-SC}						
Curto	34.19	27.56	26.6	26.5b	23.5b	21.62
Longo	31.56	28.25	28.2	27.3a	24.5a	21.25
TI						
37.5°C	32.94	27.62	27.4	26.56	23.5b	20.62b
39.0°C	32.81	28.19	27.4	27.25	24.5a	22.25a
Probabilidade						
D_{BE-SC}	<.0001	0.1752	<.0001	0.0343	0.006	0.3021
TI	0.7363	0.1002	0.7257	0.0702	0.006	<.0001
$D_{BE-SC} \times TI$	0.0111	0.1002	0.0198	0.0702	1.000	0.3021
CV (%)	3.1616	4.0983	3.0124	3.8390	4.0151	4.7061

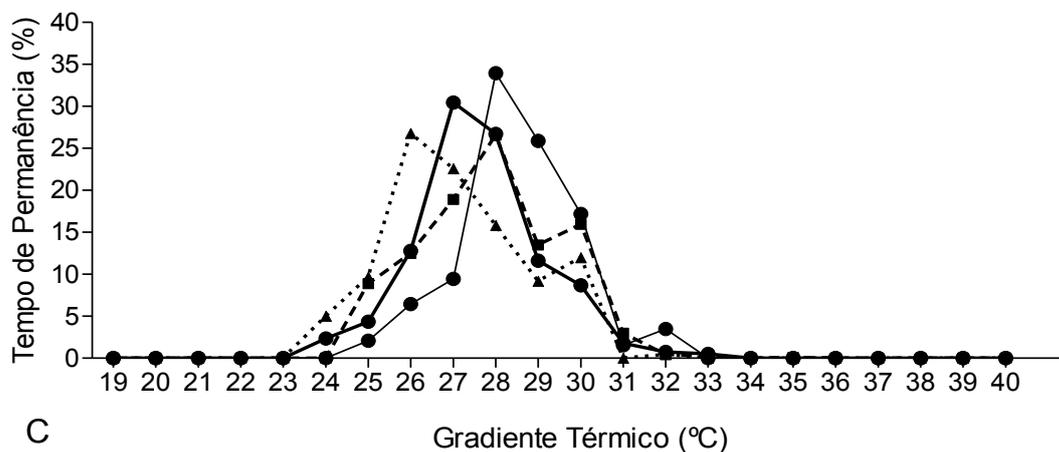
CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ($P \leq 0,05$).



A



B



C

● 37,5 curto ■ 37,5 longo ▲ 39 curto ● 39 longo

Figura 1. Tempo médio de permanência dos pintos fêmeas ao longo do gradiente térmico das câmaras climáticas durante os testes de preferência realizados no 1º, 7º e 14º dia de vida (A, B e C, respectivamente), de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação.

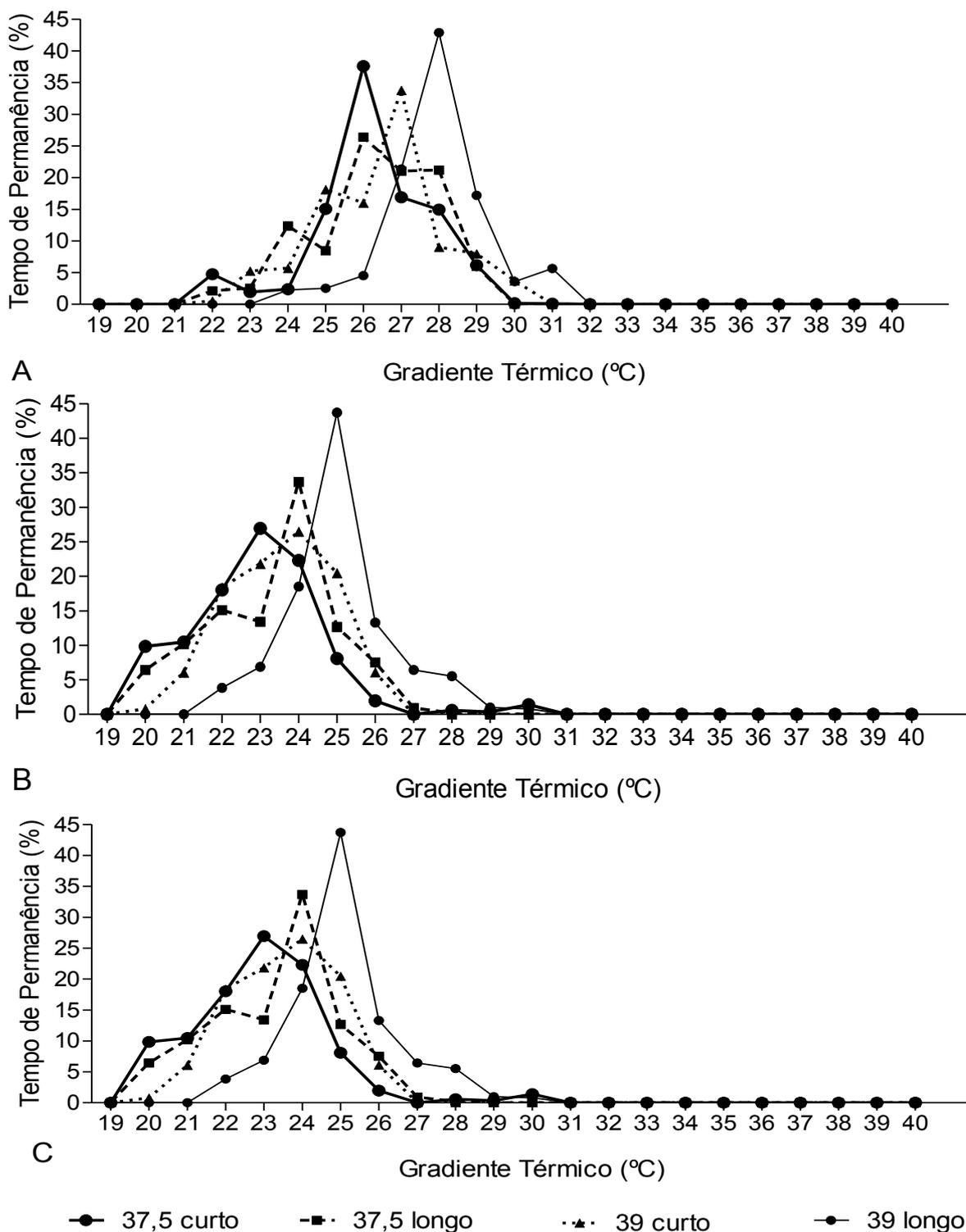


Figura 2. Tempo médio de permanência dos pintos fêmeas ao longo do gradiente térmico das câmaras climáticas durante os testes de preferência realizados no 21º, 28º e 35º dia de vida (A, B e C, respectivamente), de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação.

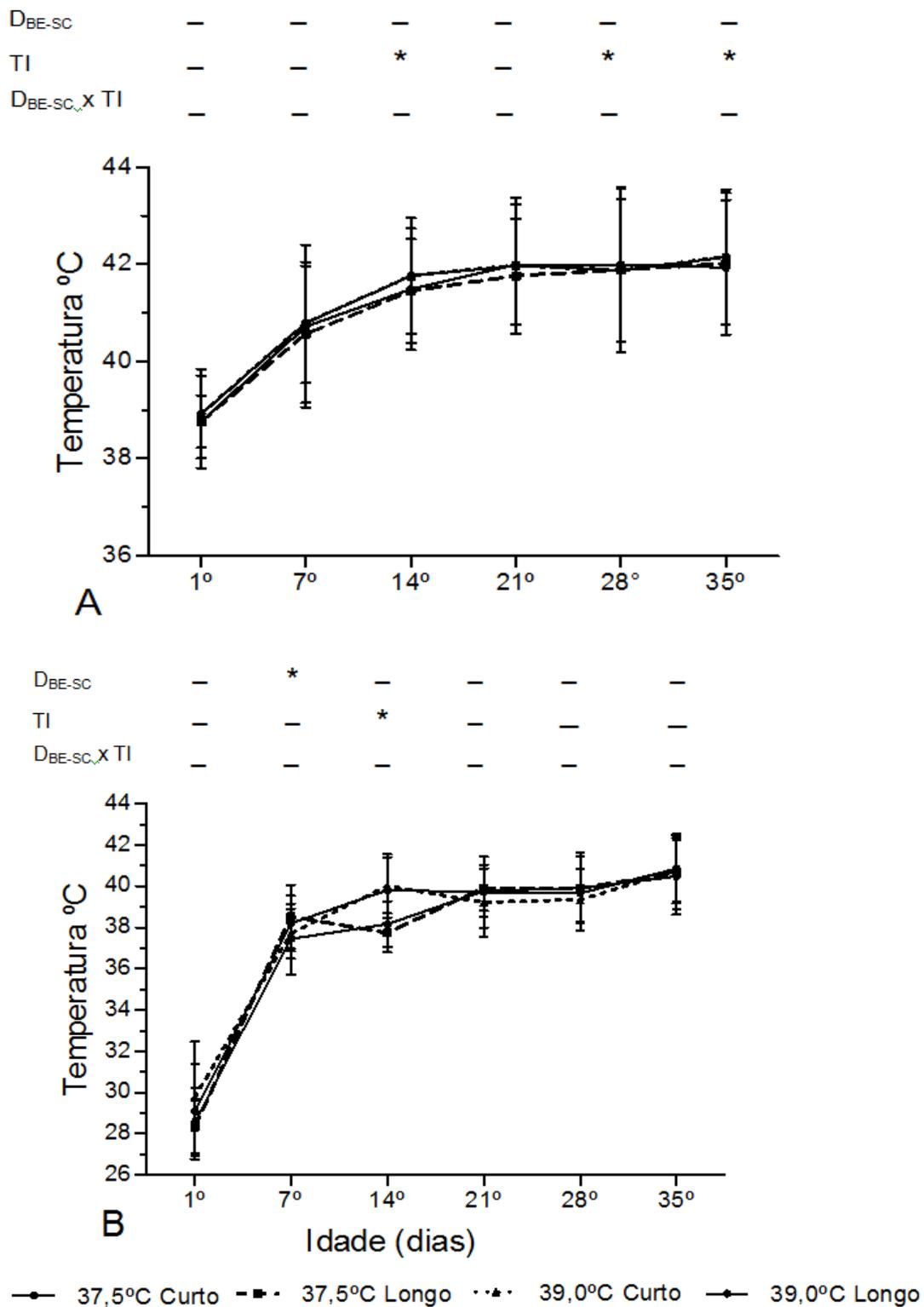
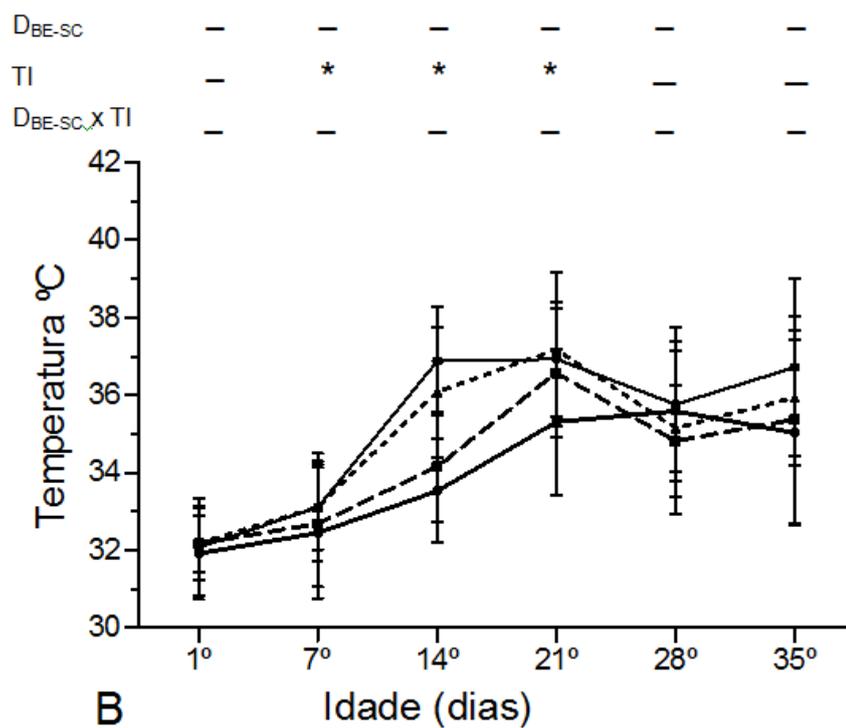
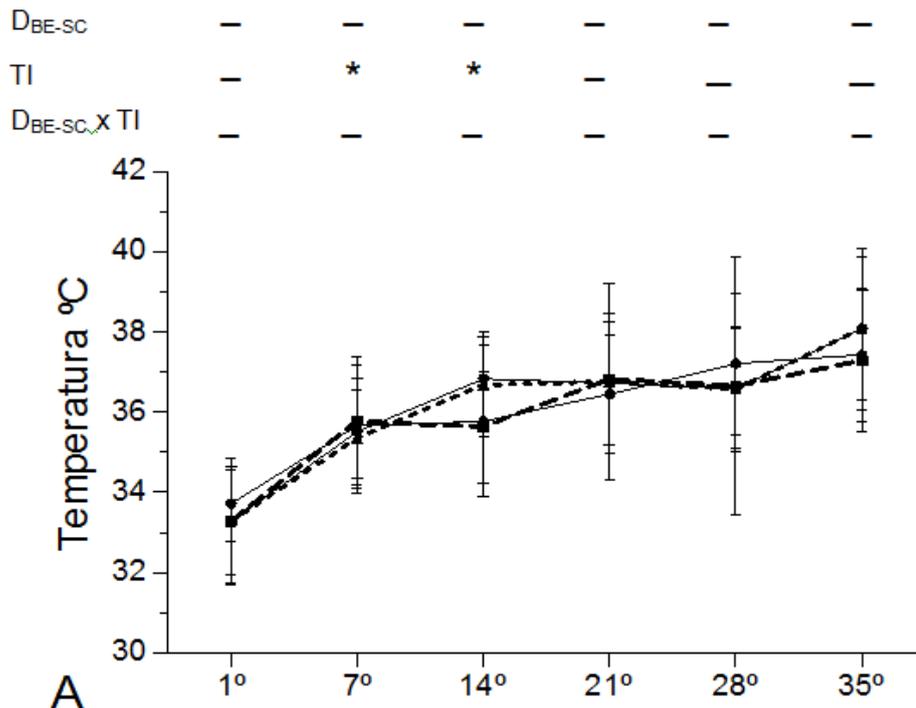


Figura 3. Temperatura retal (A) e superficial do pé (B) de frangos fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C).



—●— 37,5°C Curto -■- 37,5°C Longo ···▲··· 39,0°C Curto -◆- 39,0°C Longo

Figura 4. Temperatura superficial do olho e do pescoço de frangos fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C).

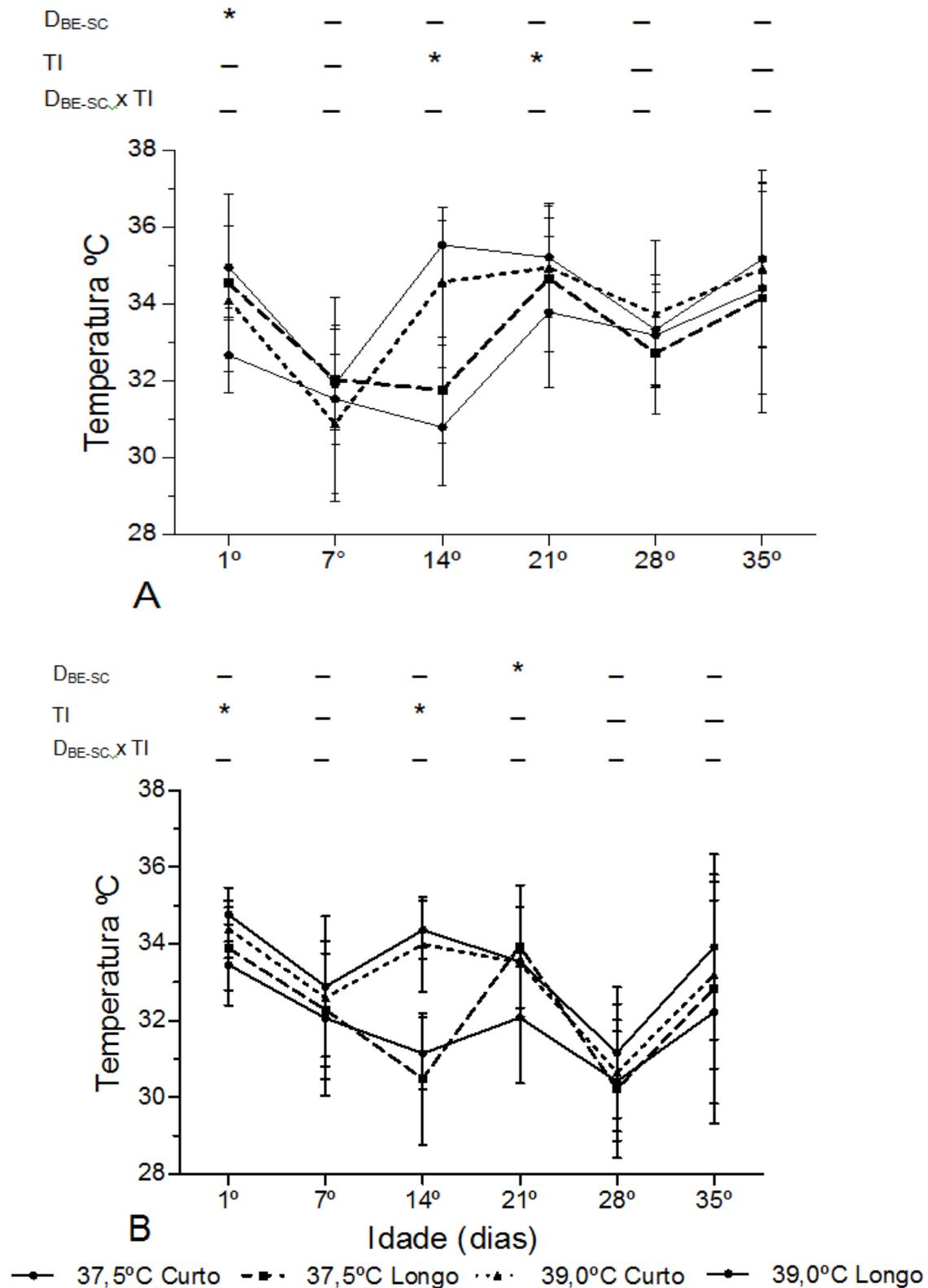


Figura 5. Temperatura superficial da cabeça e do dorso de frangos fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C).

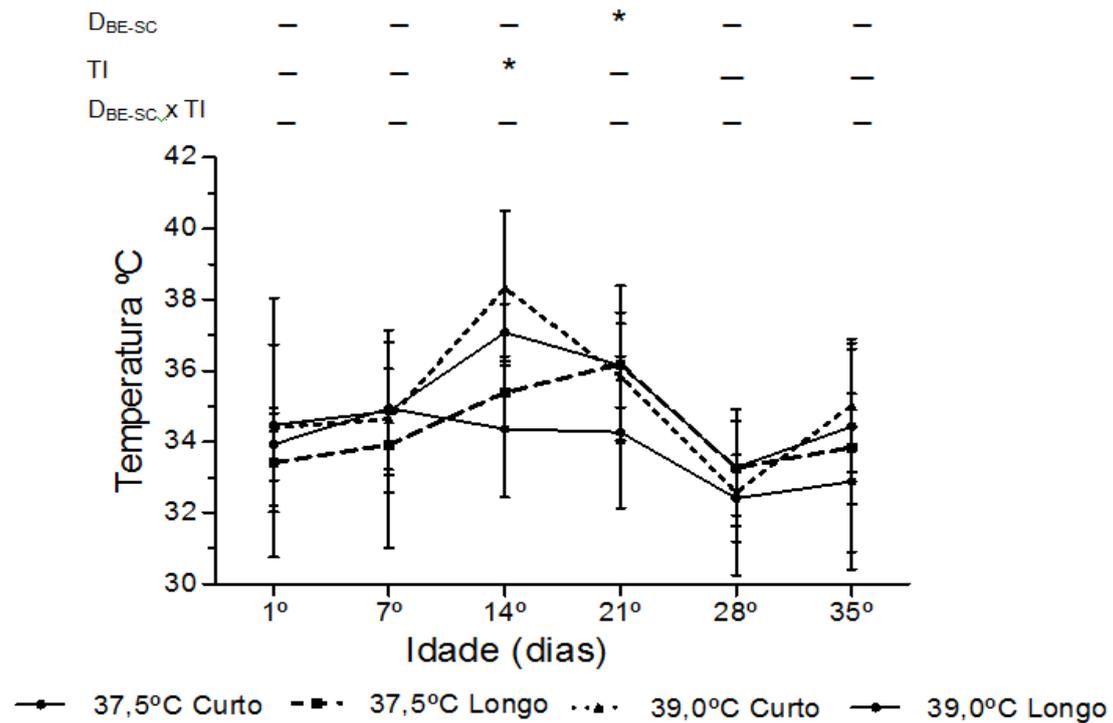


Figura 6. Temperatura superficial da asa de frangos fêmeas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, de acordo com duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: curto e longo) e a temperatura de incubação (37,5°C e 39°C).

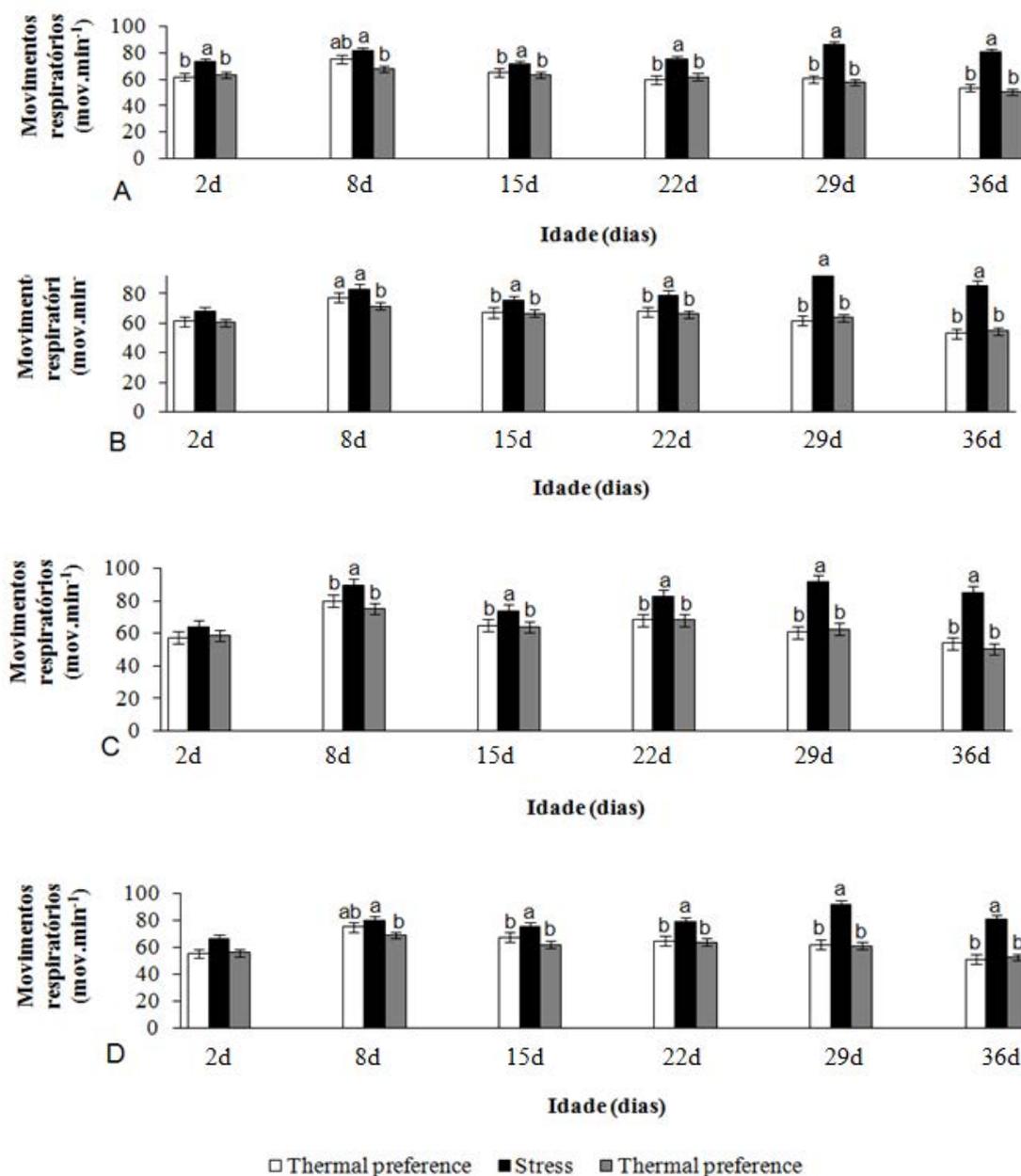


Figura 7. Frequências de movimentos respiratórios de frangos de corte fêmeas, obtidas ao final da exposição sucessiva à temperatura de preferência térmica, ao estresse térmico (5°C acima da temperatura de preferência térmica) e à preferência térmica (45 minutos cada), de acordo tratamento e semana de criação. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Curto período de eclosão (A). Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Longo período de eclosão (B). Fêmeas de incubação à 39°C e com Curto período de eclosão (C). Fêmeas de incubação à 39°C e com Longo período de eclosão (D). a-c: médias seguidas por letras distintas em cada idade diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

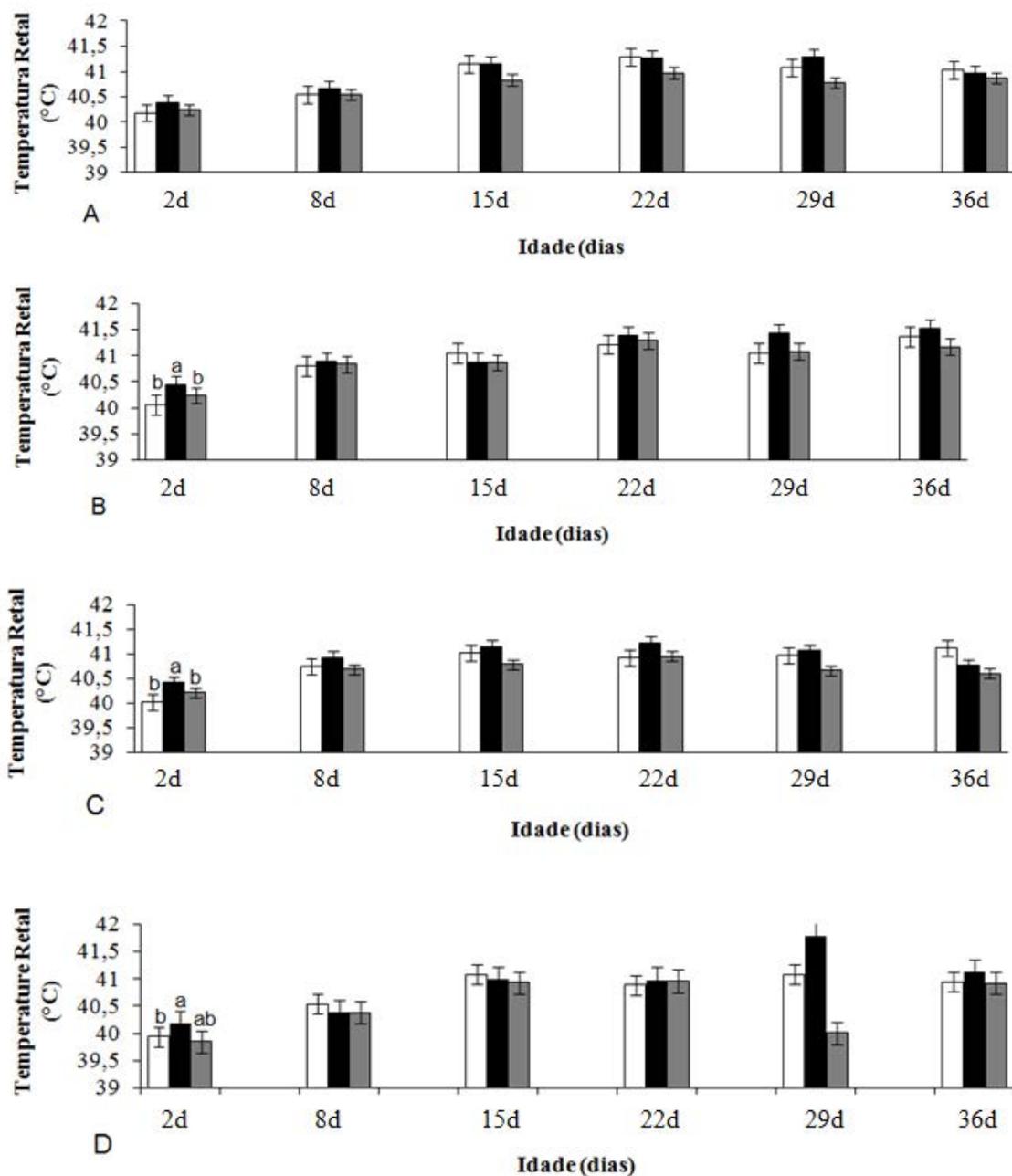


Figura 8. Temperatura retal de frangos de corte fêmeas, obtidas ao final da exposição sucessiva à temperatura de preferência térmica, ao estresse térmico (5°C acima da temperatura de preferência térmica) e à preferência térmica (45 minutos cada), de acordo tratamento e semana de criação. Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Curto período de eclosão (A). Fêmeas de incubação à 37,5°C e com Longo período de eclosão (B). Fêmeas de incubação à 39°C e com Curto período de eclosão (C). Fêmeas de incubação à 39°C e com Longo período de eclosão (D). a-c: médias seguidas por letras distintas em cada idade diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Tabela 3- Diferença entre a frequência de movimentos respiratórios (FMR) sob calor e sob temperatura de preferência antes da exposição ao calor (FMRC – FMRPAC) e entre a FMR sob calor e sob temperatura de preferência depois da exposição ao calor (FMRC – FMRPDC) de acordo com a duração da eclosão (intervalo de tempo entre a bicagem externa e saída da casca (DBE-SC) e a temperatura de incubação (TI)

Tratamentos	Idade (dias)											
	2		8		15		22		29		36	
	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}	FMR _C - FMR _{PAC}	FMR _C - FMR _{DPAC}
D _{BE-SC}												
Curto	9.55	9.77	6.44	12.22	7.33	8.44	14.22	13.11	28.22	28.44	30.00	30.44
Longo	9.33	8.00	6.88	11.55	8.22	11.33	14.44	15.55	30.22	29.55	29.33	30.44
TI												
37,5°C	9.77	8.00	7.33	12.66	7.55	8.88	15.11	14.66	28.66	28.66	27.77b	30.88
39,0°C	9.11	9.77	6.00	11.11	8.00	10.88	13.55	14.00	29.77	29.33	31.55a	30.00
Probabilidade												
D _{BE-SC}	0.9215	0.4552	0.7290	0.7587	0.5687	0.0920	0.9190	0.2801	0.1782	0.4590	0.7169	1.0000
TI	0.7675	0.4552	0.3023	0.4750	0.7753	0.2379	0.4784	0.7664	0.4500	0.6559	0.0463	0.6577
D _{BE-SC} x TI	0.0681	0.1404	0.1718	0.9184	0.5687	0.2379	0.6119	0.9211	0.0594	0.6559	0.5464	0.5071
CV (%)	71.02	79.37	57.22	54.29	59.53	50.44	45.39	46.56	14.91	15.33	18.42	19.58

CV: coeficiente de variação. a-b: médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (P≤0,05).

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou se a duração da eclosão (intervalo de tempo entre bicagem externa e saída da casca: D_{BE-SC}) e alta temperatura de incubação durante a fase fetal altera a preferência térmica das fêmeas de corte ao longo da criação, bem como sua temperatura retal e superficial da pele e resposta ao desafio por calor.

No conjunto, os resultados obtidos nesse ensaio revelam pela primeira vez na literatura que a temperatura de preferência térmica das fêmeas de corte é influenciada pela D_{BE-SC} e que há interação entre D_{BE-SC} e a temperatura de incubação sobre a temperatura preferida pelas fêmeas até os 14 dias de idade. Na eclosão, fêmeas com curta D_{BE-SC} tenderam a preferir temperatura ambiente mais quente do que as fêmeas com longa D_{BE-SC} , e a preferir temperatura mais quente quando oriundas de incubação à 39°C do que à 37,5°C. No 14º dia de idade, fêmeas com curta D_{BE-SC} de incubação á 39°C continuaram a preferir temperatura ambiente mais quente do que as fêmeas de incubação à 37,5°C. A partir do 14º dia, houve tendência das fêmeas com longa D_{BE-SC} a preferirem temperatura ambiente mais alta que as fêmeas com curta D_{BE-SC} e das fêmeas de incubação à 39°C a preferirem temperatura ambiente mais baixas que as de incubação à 37,5°C. Preferência de pintos de incubação à 39°C por temperaturas mais elevadas durante a fase de criação foi observado para pintos machos anteriormente por Morita (2015), que registrou efeito significativo de preferência apenas até os 14 dias de idade. Nossos dados concordam com os obtidos por Tzschentke (2008) para peru, de acordo com os quais tais aves preferem temperatura ambiente mais alta quando oriundos de incubação á 38,5°C. Nichelmann (2004) mostrou que ovos de patos e perus incubados a 34,5°C e 38,5°C durante a última semana de incubação diminuiu e aumentou, respectivamente, a temperatura preferida ambiente até os 10 dias de idade. Já Tzschentke (2007) verificou que a exposição contínua a alta temperatura (38,5°C) durante a incubação também aumentou a temperatura de patos até 10 dias de idade. Além dos resultados obtidos acima, o presente estudo adicionalmente revela pela primeira vez na literatura que temperatura de incubação age de forma distinta sobre a preferência térmica de pintos machos e fêmeas, e que os efeitos da temperatura de incubação sobre a preferência

das últimas se prolonga pelo período de criação. De acordo com (Piestun et al., 2008) a alteração da temperatura de preferência pós-eclosão dos frangos por manipulação térmica na incubação (exposição contínua à alta temperatura a partir do 13º dia, no presente estudo) pode estar associada à alteração na termossensibilidade neuronal pós-natal (Piestun et al. de 2008) e conseqüentemente pode ter ocorrido de uma alteração no limiar termorregulador (YAHAV, 2009).

A temperatura retal e superficial da pele foi aferida para refletir trocas de calor entre o animal e o meio ambiente, uma vez que diferença entre a temperatura da superfície e a temperatura ambiente é a necessidade básica para a troca de calor sensível (YAHAV et al., 2005). Morita (2015) observou que aves incubadas à alta temperatura constantemente a partir do 13º dia, apresentaram pele mais fina e mais vascularizada, em comparação com aves incubadas a 37,5°C, que segundo a autora, representa uma resposta adaptativa embrionária que iria conduzir à uma maior perda de calor. No presente estudo, todavia, não foi observado efeito da D_{BE-SC} sobre a temperatura retal. Entretanto, a temperatura retal foi influenciada pela temperatura de incubação a partir do 14º dia de idade, e foi maior para fêmeas de incubação à 39°C do que à 37,5°C. Por sua vez, a temperatura superficial do corpo das fêmeas foi influenciada esporadicamente pela D_{BE-SC} , mas, na maioria das regiões analisadas (pé, olho, pescoço, cabeça e dorso), ela foi afetada pela temperatura de incubação entre o 7º e 21º dia de idade, sendo maior nas aves de incubação à 39°C que à 37,5°C. É conhecido que perda de calor por condução ocorre do ambiente ou corpo mais quente para o mais frio (LA SCALA JR, 2013). Assim, a preferência das fêmeas de incubação à 39°C por temperatura ambiente mais elevada pode estar relacionada com manutenção de conforto térmico, ou seja, em ambiente pouco mais quente elas perderiam menos calor.

A manipulação das condições térmicas de incubação tem sido estudada a algum tempo na tentativa de possibilitar que os frangos ou outras aves domésticas sejam mais adaptados (ou menos responsivas) ao estresse por calor no período de criação. Walstra et al. (2010) verificaram que pintainhos incubados à 40°C do 14º ao 18º dia (4h/dia) responderam ao desafio térmico na criação (exposição à 40°C por 4h no 2º e 8º dia de idade, 35°C por 4h no

34º dia de idade) com aumento da temperatura corporal acima da observada para pintos não submetidos à manipulação térmica na incubação nos dois primeiros dias analisados. No presente estudo, as fêmeas com curta D_{BE-SC} responderam ao desafio térmico (estresse por calor) com aumento na frequência de movimentos respiratórios e apresentaram redução na FMR ao retornarem à temperatura de preferência a partir do 7º dia. Enquanto que nas fêmeas com longa D_{BE-SC} isso ocorreu a partir do 14º dia de idade. Contudo, não houve diferença entre as fêmeas de curta e longa D_{BE-SC} e entre as fêmeas de incubação á 37,5°C e 39°C na amplitude de resposta ao desafio térmico, ou seja, o aumento da FMR com a exposição ao calor e a queda na FMR com o retorno à temperatura de preferência foi a mesma em todos os tratamentos. Concomitantemente, não houve alteração do desafio térmico da temperatura retal dessas aves.

Esses dados indicam inicialmente que as fêmeas podem ter usado perda de calor por evaporação para manter sua temperatura corporal. Adicionalmente, foi observado que o aumento na FMR dos frangos se tornou maior a partir dos 28 dias de idade. Esse maior efeito do estresse nas duas últimas semanas de criação pode estar relacionado com a maior taxa metabólica decorrente do maior peso corporal dos frangos mencionado por Macari e Furlan (2002). Os valores normais de FMR e de TR, todavia, foram restabelecidos quando os frangos foram expostos novamente à temperatura de preferência após estresse por calor. Estudos envolvendo manipulação térmica ainda são discordantes e não há um consenso sobre o assunto. Piestun et al. (2008) observou termotolerância de frangos de corte, quando os ovos foram incubados com temperatura intermitente por 12h aos 39,5°C a partir do dia 7º até 16º, quando Loyau et al. (2013) realizou experimento semelhante, esse não obteve o resultado esperado aumento da tolerância térmica em que os frangos foram desafiados. Adicionalmente, em alguns estudos com programação térmica intermitente durante a incubação de ovos de frangos de corte também não mostraram benefícios ou melhora na sua tolerância térmica em resposta ao desafio térmico (YAHAV et al., 2004a; COLLIN et al., 2007). Estas discrepâncias provavelmente refletem as condições experimentais específicas utilizadas para testar termotolerância por esses estudos, evidenciando de que há necessidade de muito estudo e pesquisa sobre essa temática.

CONCLUSÃO

Duração da eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de incubação na fase fetal interferem na preferência térmica das fêmeas de corte na fase de criação. Fêmeas com longa D_{BE-SC} e as de incubação à 39°C preferem temperatura ambiente mais alta que as fêmeas com curta D_{BE-SC} e as de incubação à 37,5°C, respectivamente. Do ponto de vista zootécnico, esses resultados indicam que pintos com curto e longa D_{BE-SC} deveriam ser criados separadamente. Contudo, na prática, esse manejo se torna difícil quando se utiliza galpões.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V.R. **Efeito da temperatura de incubação e de criação sobre o tecido adiposo e desempenho de frangos de corte**. Dissertação de Mestrado, Jaboticabal/SP, Universidade Estadual Paulista, 2013.112 p.
- COLLIN, A.; BERRI, C.; TESSERAUD, S.; 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. Effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on thermotolerance and breast muscle characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 86, p. 795–800, 2007.
- ERIKSTAD, K.E., ANDERSEN, R. The effect of weather on survival, growth rate and feeding time in different sized willow grouse broods. **Ornis Scandinavica**, v.14, p. 294-252, 1983.
- ERIKSTAD, K.E. Growth and survival of willow grouse chicks in relation to home range size, brood movements and habitat selection. **Ornis Scandinavica**, v. 16, p.181-190, 1985.
- GONZALES, E.; STRINGHINI, J. H.; DAHLKE, F.; CUNHA, W. C. P.; XAVIER, S. A. G. Productive consequences of fasting neonatal chicks of different genetic constitutions for growing. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 10, n. 4, p. 253-256, 2008.
- LA SCALA JR, N. Aspectos físicos da incubação. In: Macari M, Gonzales E, editors. In: **Manejo da Incubação**. Campinas: Facta; p. 97-124, 2013.

LANCASTER, F. M.; JONES, D. R. Cooling of broiler hatching eggs during incubation. **British Poultry Science**, v. 29, p. 597-604, 1988.

LEANDRO, N.S.M., GONZALES, E., LODDI, M.M., TAKITA, T.S. Incubabilidade e qualidade de pintos de ovos de matrizes de frangos de corte submetidos estresse de temperatura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, p.39-44, 1999.

LOYAU, T., BERRI, C., BEDRANI, L., et al. Embryo thermal manipulations modifies the physiology and body compositions of broiler chickens reared in floor pens without altering breast meat processing quality. **Journal of Animal Science**, v.91, n.8, p.3674-3685, 2013.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375p.

MCNABB, F.M.A., OLSON, J.M. Development of thermoregulation and its hormonal control in precocial and altricial birds. **Poultry & Avian Biology Reviews**, v.7, p. 111-125, 1996.

MYHRE, K., CABANAC, M., MYHRE, G. Thermoregulatory behavior and body temperature in chicks of willow grouse (*Lagopus lagopus lagopus*). **Poultry Science**, v.54, p.1174–1179, 1975.

MORAES, V. M. B.; MALHEIROS, R. D.; BRUGGEMAN, V. COLLIN, A.; TONA, K.; VAN AS, P.; ONAGBESAN, O. M.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E.; MACARI, M. Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. **Journal of Thermal Biology**, v. 28.133–140, 2003.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; OLIVEIRA, J. A. Hematological and Incubation Parameters of Chicks from Young Breeders Eggs: Variation with Sex and Incubation Temperature. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 6, p.606-612, 2010.

MORITA, V.S. **Programação térmica fetal: efeitos sobre a temperatura de preferência e características morfofisiológicas de frangos de corte**. Jaboticabal. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, 2015, 134p.

MORTOLA, J. P. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 153, p. 359–377, 2009.

NICHELMANN, M. Perinatal epigenetic temperature adaptation in avian species: Comparison of turkey and Muscovy duck, v.29, p.613–619, 2004.

NAKAGE, E. S.; J. P. CARDOZE; G. T. PEREIRA; S. A. QUEIROZ; I. C. BOLELI. Effect of temperature on incubation period, embryonic mortality, hatch rate, egg water loss and patridge chick weight (*Rhynchotus rufescens*). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, p.131–135, 2003.

PIESTUN, Y.; HAREL, M.; BARAK, M.; YAHAV, S.; HALEVY, O. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, p. 233–240, 2008.

RICCARDI, R. R.; MALHEIROS, E. B.; BOLELI, I. C. Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to posthatch fasting. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 23-29, 2011.

ROMANOFF, A.L. The Extraembryonic Membranes in the Avian Embryo, Structural and Functional Development. **MacMillan Company**, New York, p.1041-1140, 1960.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. –Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011, 252p.

SAS-Institute Inc. User's guide: statistics, version. 9.1 edition. Cary: SAS Institute, 2009.

TAZAWA, H., WAKAYAMA, H., TURNER, J.S., PAGANELLI, C.V. Metabolic compensation for gradual cooling in developing chick embryos. **Comparative Biochemical and Physiology**, v.89A, p.125–129, 1988.

TONA K., MALHEIROS, R.D., BAMELES, F.; et al. Effects of estrangement time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. **Poultry Science**, v.82, p.840-845, 2003.

TZSCHENTKE, B. Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. **Poultry Science**, v. 86 p.1025–1036, 2007.

TZSCHENTKE, B. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.64 p.61-71, 2008.

WALSTRA, I.; TEN NAPEL, J.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Temperature manipulation during layer chick embryogenesis. **Poultry Science**, v. 89, p. 1502–1508, 2010.

WANGENSTEEN, O. D., RAHN, H. Respiratory gas exchange by the avian embryo. **Respiration Physiology**, v.11, p. 3145, 1970/71.

WILSON, H. R. Physiological requirements of the developing embryo: Temperature and turning. In: **Avian Incubation**. S. G. Tullet (ed.) Butterworth-Heinemann, London, 1991.

YAHAV, S., COLLIN, A., SHINDER, D., PICARD, M. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: Effects of timing and temperature. **Poultry Science**, v. 83, p.1959-1963, 2004.

YAHAV, S., SHINDER, D., TANNY, J., COHEN, S. Sensible heat loss: the broiler's paradox. **World's Poultry Science Journal**, v.61, p.419-434, 2005.

YAHAV, S. Alleviating heat stress in domestic fowl- Different strategies. **Journal of World Poultry Science**, v.65, p.719-732, 2009.