

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO NA DINÂMICA DE
NASCIMENTOS E CARACTERÍSTICAS INTESTINAIS DE
PINTOS DE CORTE**

Maurício Silva Rosa
Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO NA DINÂMICA DE
NASCIMENTOS E CARACTERÍSTICAS INTESTINAIS DE
PINTOS DE CORTE**

Maurício Silva Rosa

Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli

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

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

R788i	Rosa, Mauricio Silva Influência da fotoestimulação na dinâmica de nascimentos e características intestinais de pintos de corte / Mauricio Silva Rosa. -- Jaboticabal, 2022 113 p. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Isabel Cristina Boleli 1. Fotoperiodismo. 2. Janela de Eclosão. 3. Pintos de corte. 4. Período de nascimento. 5. Morfometria intestinal. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO NA DINÂMICA DE NASCIMENTOS E CARACTERÍSTICAS INTESTINAIS DE PINTOS DE CORTE

AUTOR: MAURÍCIO SILVA ROSA

ORIENTADORA: ISABEL CRISTINA BOLELI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ISABEL CRISTINA BOLELI (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra. MARIANA THIMOTHEO (Participação Virtual)
JBS Produtos alimentícios / Nuporanga/SP

Dra. VIVIANE DE SOUZA MORITA (Participação Virtual)
Bióloga Autônoma / São Paulo/SP

Prof. Dr. JOÃO BATISTA MATOS JUNIOR (Participação Virtual)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre - IFAC / Rio Branco/AC

Profa. Dra. SARAH SGAVIOLI (Participação Virtual)
Universidade Brasil / Câmpus de Descalvado-SP

Jaboticabal, 03 de dezembro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MAURÍCIO SILVA ROSA – nasceu em 20 de fevereiro de 1991, na cidade de Cuiabá (MT), filho de Adelina Conceição da Silva e Joice Ottano da Rosa. Em março de 2011, ingressou no curso de graduação em Zootecnia, da Faculdade de Medicina Veterinária, Agronomia e Zootecnia, UFMT, campus Cuiabá, graduando-se em fevereiro de 2016. Em março de 2016, ingressou no curso de Pós-graduação em Ciência Animal, nível de Mestrado, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UFMS, campus Campo Grande, sob orientação da Profa. Dra. Karina Márcia Ribeiro de Souza Nascimento, obtendo o título de mestre em fevereiro de 2018. Em março do mesmo ano, iniciou o curso de doutorado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp, campus Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli.

*“O plantio é livre, a colheita obrigatória”
(Autor desconhecido)*

*“Não existe crescimento sem a dor do aprendizado”
(Howard Fast)*

*Aos meus pais, Joice (in memoriam) e Conceição,
A minha irmã e melhor amiga, Mariana,
A minha companheira da vida, Ronyatta,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, coragem e determinação para enfrentar os momentos de angústia e medo, e por me ensinar a reconhecer os momentos de conquistas e alegrias, que sempre superam os momentos ruins.

A minha mãe Conceição pelo amor incondicional, pelo apoio em todas as escolhas e momentos, por sempre acreditar em mim e por sempre ter me incentivado a ser melhor.

A minha irmã e melhor amiga Mah, por ser a pessoa incrível que é, pelas brincadeiras, pelos papos diários, por sempre acreditar em mim e ficar feliz com as minhas conquistas.

Ao meu amor da vida Ronyatta, por dividir os últimos 7 anos comigo, por compartilhar minhas alegrias e tristezas, minhas conquistas, por ser minha amiga e companheira e sempre me fazendo uma pessoa melhor.

Aos amigos Geovany e Thais, pela amizade que nasceu nesse período e vai perdurar para a vida. Nossa etapa em Jaboticabal foi muito melhor por vocês estarem conosco, compartilhando os melhores momentos.

Aos meus sogros Jair e Ivanir, pelo apoio de sempre nos momentos de dificuldade, pelas visitas, que tornaram nossa estadia longe da família mais fácil.

Aos colegas do grupo de incubação, Mariana, Marina, Marcelo, Gabriel, Silvia e Luana, pela amizade e ajuda durante esse período. Ao Edmar, pela amizade e pelos papos durante o cafezinho.

A professora Isabel Boleli, por me acolher como seu orientado. Levarei seus conselhos e ensinamentos por onde eu for.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela oportunidade de cursar o doutorado em uma universidade tão renomada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. O que é fotoestimulação?	4
2.2. Luz e a percepção dela pelas aves	5
2.3. Fotoestimulação na incubação de ovos	7
2.4. Influência do fotoestimulação na dinâmica de nascimentos	8
2.5. Desenvolvimento intestinal de aves durante a incubação.....	10
3. REFERÊNCIAS	12
CAPITULO 2 – FOTOESTÍMULO LUMINOSO INTERMITENTE NO FINAL DA INCUBAÇÃO AUMENTA A ATIVIDADE DOS PINTOS E ENCURTA A JANELA DE ECLOSÃO	18
1. INTRODUÇÃO	20
2. MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1. Procedimentos Experimentais.....	22
2.2. Duração da incubação e eclodibilidade	26
2.3. Dinâmica de nascimentos	27
2.4. Peso e tamanho corporais dos pintos.....	27
2.5. Qualidade dos pintos	27
2.6. Tempo de Imobilidade Tônica (TIT)	28
2.7. Análises estatísticas.....	29
3. RESULTADOS.....	30
3.1. Duração da incubação e eclodibilidade.....	30
3.2. Janela de Eclosão e Dinâmica de Nascimentos	30
3.3. Qualidade dos pintos	32
3.4. Peso corporal e dimensões físicas dos pintos.....	35
3.5. Tempo de Imobilidade Tônica.....	36
4. DISCUSSÃO	38
5. CONCLUSÃO.....	41
6. AGRADECIMENTOS	41
7. REFERÊNCIAS	42
CAPITULO 3 – CICLO CLARO-ESCURO COM FOTOESTIMULAÇÃO INTERMITENTE NO FINAL DA INCUBAÇÃO NÃO INFLUENCIA A DINÂMICA DE ECLOSÃO E A QUALIDADE DIURNA E NOTURNA DOS PINTOS	47

1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1. Procedimentos Experimentais.....	50
2.2. Duração do desenvolvimento in ovo e janela de eclosão.....	54
2.3. Dinâmica de nascimentos.....	54
2.4. Peso e tamanho corporais dos pintos.....	55
2.5. Qualidade dos pintos	55
2.6. Análises estatísticas.....	56
3. RESULTADOS.....	56
3.1. Duração do desenvolvimento in ovo	56
3.2. Eclodibilidade	57
3.3. Dinâmica de nascimentos dentro da janela de eclosão.....	57
3.4. Qualidade dos pintos	60
3.5. Dimensões Corporais dos pintos.....	63
4. DISCUSSÃO	64
5. CONCLUSÃO.....	67
6. REFERÊNCIAS	68
CAPÍTULO 4 – FOTOESTIMULAÇÃO CONTÍNUA DIURNA OU NOTURNA	
INFLUENCIA O DESENVOLVIMENTO DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE	
CORTE	
1. INTRODUÇÃO.....	74
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1. Procedimentos Experimentais.....	75
2.2. Temperatura da superfície dos ovos.....	80
2.3. Duração da incubação e eclodibilidade	80
2.4. Dinâmica de nascimentos.....	81
2.5. Características físicas e qualidade dos pintos.....	81
2.6. Altura de vilo, profundidade de cripta, espessura de parede e contagem de células caliciformes.....	81
2.7. Análises estatísticas.....	82
3. RESULTADOS.....	83
3.1. Temperatura da casca dos ovos.....	83
3.2. Duração da incubação e eclodibilidade	84
3.3. Dinâmica de nascimentos ao longo da janela de eclosão.....	84

3.4. Qualidade dos pintos	86
3.5. Dimensões corporais dos pintos.....	86
3.6. Características intestinais dos pintos.....	87
4. DISCUSSÃO	89
5.CONCLUSÃO.....	93
6. REFERÊNCIAS	94

CEUA



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Efeito do fotoperíodo anual sobre a qualidade zootécnica, características fisiológicas e comportamentais de pintos de corte”**, protocolo nº 017647/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Isabel Cristina Boleli, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de dezembro de 2018.

Vigência do Projeto	10/03/2019 a 31/12/2020
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> / Cobb 500
Nº de animais	1000 ovos/ 800 pintos
Peso / Idade	1 a 3 dias
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Incubatório comercial (Globoaves)- Itirapina- SP

Jaboticabal, 06 de dezembro de 2018.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

INFLUÊNCIA DA FOTOESTIMULAÇÃO NA DINÂMICA DE NASCIMENTOS E CARACTERÍSTICAS INTESTINAIS DE PINTOS DE CORTE

RESUMO – O presente trabalho está organizado em 4 Capítulos. O Capítulo 1 apresenta a Introdução e as Considerações Gerais sobre o tema estudado. No Capítulo 2, foi analisado se fotoestimulação intermitente (1 min de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 h, das 6:30 às 18:30h, 1200 Lux fornecido por sistema em série de lâmpadas LED) no nascedouro, a partir do 18º dia de incubação, influencia a eclodibilidade, a frequência de nascimentos e a qualidade dos pintos de corte. Os resultados mostram que fotoestimulação intermitente a partir do 18º dia de incubação não alterou a duração média da incubação, eclodibilidade e a qualidade física dos pintos, mas reduziu a janela de eclosão em 8h. Além disso, pintos de ovos mantidos sob fotoestimulação intermitente apresentaram menor TIT que os pintos de ovos incubados sem fotoestimulação. Isso indicou que fotoestimulação intermitente no nascedouro aumenta o sincronismo na eclosão e torna os pintos mais ativos. No Capítulo 3, foram analisadas a dinâmica de nascimentos diurnas e noturnas e a qualidade dos pintos de ovos expostos ou não a fotoestimulação intermitente (1 min de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 h, das 6 às 18h, 1200 Lux fornecido por sistema em série de lâmpadas LED) a partir do 18º dia de incubação (no nascedouro). Não ocorreram diferenças na taxa de eclosão total, peso corporal, qualidade, peso corporal, comprimentos bico-cauda, bico-dedo médio e de perna, e envergadura de asas entre os pintos com nascimento diurno e noturno e nem entre tratamentos (com e sem fotoestimulação). Os resultados revelam, pela primeira vez na literatura, descontinuidade de eclosão, diferenças entre os padrões de eclosão diurna e noturna de pintos de corte e menor janela de eclosão com maior sincronismo de eclosão noturna do que diurna em pintos corte, evidenciando possibilidade futura de manejo prático de retirada diurna e noturna de pintos dos nascedouros. No Capítulo 4, por sua vez, foi analisado se fotoestimulação diurna ou noturna contínua (250 Lux ao nível da superfície dos ovos, durante 12 h, das 6 às 18h e das 18 às 6h) influencia o desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte. Os resultados evidenciam que o fornecimento de fotoestimulação durante a incubação reduz temperatura de

superfície dos ovos quando expostos a fotoestimulação durante a noite. Os pintos nascidos de ovos incubados sob fotoestimulação apresentaram vilosidades intestinais menores do que os pintos oriundos de ovos incubados sem fotoestimulação. Isso indica que fotoestimulação diurna ou noturna durante a incubação não favoreceu o desenvolvimento das vilosidades intestinais e que incubação sob ausência de luz parece mais adequado para que os pintos nasçam com vilosidade intestinal de maior tamanho.

Palavras-chave: desenvolvimento intestinal, eclodibilidade, fotoestímulo, janela de eclosão

INFLUENCE OF PHOTOSTIMULATION ON BIRTH DYNAMICS AND INTESTINAL CHARACTERISTICS OF BREAKER CHICKS

RESUMO – This work is organized into 4 Chapters. Chapter 1 presents the Introduction and General Considerations on the topic studied. In Chapter 2, we analyzed whether intermittent photostimulation (1 min of light followed by 4 minutes of dark, for 12 h, from 6:30 to 18:30 h, 1200 Lux provided by LED lamp series system) in the hatch, from the 18th day of incubation, influences hatchability, birth frequency and quality of broiler chicks. The results show that intermittent photostimulation from the 18th day of incubation did not change the mean duration of incubation, hatchability and physical quality of the chicks, but reduced the hatch window by 8h. Furthermore, chicks from eggs kept under intermittent photostimulation showed lower TIT than chicks from eggs incubated without photostimulation. This indicated that intermittent photostimulation at the hatcher increases hatch timing and makes the chicks more active. In Chapter 3, the dynamics of diurnal and nocturnal births and the quality of chicks from eggs exposed or not to intermittent photostimulation (1 min of light followed by 4 minutes of dark, for 12 h, from 6 am to 6 pm, 1200 Lux provided by a series system of LED lamps) from the 18th day of incubation (in the hatcher). There were no differences in total hatch rate, body weight, quality, body weight, beak-tail, beak-middle finger and leg lengths, and wing span between day and night chicks, nor between treatments (with and without photostimulation). The results reveal, for the first time in the literature, hatch discontinuity, differences between the diurnal and nocturnal hatching patterns of broiler chicks and a shorter hatch window with greater synchronism of nocturnal hatching than diurnal hatching in broiler chicks, evidencing the possibility of future management. practice of day and night withdrawal of chicks from hatchers. In Chapter 4, in turn, it was analyzed whether continuous diurnal or nocturnal photostimulation (250 Lux at the egg surface level, for 12 h, from 6 am to 6 pm and from 6 pm to 6 am) influences the development of the intestinal mucosa of broiler chicks. The results show that providing photostimulation during incubation reduces the surface temperature of eggs when exposed to photostimulation overnight. Chicks hatched from eggs hatched under

photostimulation had smaller intestinal villi than chicks hatched from eggs hatched without photostimulation. This indicates that diurnal or nocturnal photostimulation during incubation did not favor the development of intestinal villi and that incubation in the absence of light seems more suitable for chicks to be born with larger intestinal villi.

Keywords: hatchability, hatch window, intestinal development, photostimulation

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Os animais desenvolvem ritmo biológico circadiano e circanual em resposta e sincronia com os ciclos claro-escuro diário e sazonal terrestres, decorrentes dos movimentos de rotação e translação do planeta, respectivamente. Para que o papel da luz enquanto principal estímulo ambiental sincronizador dos ritmos biológicos em relação aos ciclos terrestres ocorra, o animal precisa apresentar capacidade de percepção da luz, ou seja, percepção de trocas do dia pela noite e vice-versa, e de mudanças na duração das fases claro e escuro. No caso das aves, a percepção da luz ocorre via ocular e glândula pineal, ou seja, via sistema melanopsina (Mason e Lincoln, 1976; Sand et al., 2011; Lucas, 2013) e sistema melatonina (Hamasaki, 1968; Solessio e Engbretson, 1999; Wiechmann e Sherry, 2013; Reiter et al, 2014), respectivamente, os quais exercem papel modulador sobre os eixos neuroendócrinos (HPG, HPA, HPT), regulando o ritmo de vários processos biológicos do animal de acordo com a fase claro ou escuro e com a estação do ano (Arendt, 1998, 2003; Revel et al., 2009).

No caso de aves de produção, a maioria dos estudos sobre fotoperiodismo analisam os efeitos do ciclo claro-escuro e de tipos diferentes de fontes e cores de luz na vida pós-eclosão, de forma a preconizar o acesso contínuo ao alimento e a maximização do seu potencial de ganho de peso (Downs et al., 2006; Brown, 2010) e a redução de ocorrência de doenças, problemas de empenamento e perna, estresse e mortalidade (Lott et al., 1996; Classen et al., 1991; Charles et al., 1992; Abreu e Abreu, 2011; Vercellino, 2012; Zhang et al., 2012; Huth e Archer, 2015). Contudo, fotoestimulação retinal ocorre ainda durante o desenvolvimento *in ovo*, tendo sido registrada inicialmente no 17º dia de incubação (Shafey e Al-Mohsen, 2002; Hill et al., 2004; Nagy, 2008) e, posteriormente, no início da vida fetal, no 8º dia de incubação (Lima et al., 2011).

Fotoestimulação no processo de chocagem natural ocorre quando a fêmea (ou o macho) interrompe momentaneamente o comportamento de chocagem para necessidades fisiológicas (Mench 2014b). Fotosensibilidade fetal *in ovo* tem levado vários autores a analisarem efeitos do fotoestimulação na incubação de ovos de

aves de produção, uma vez que no sistema de produção comercial de pintos a incubação dos ovos ocorre sob escuro contínuo, interrompido apenas em alguns momentos, como a ovoscopia e a transferência dos ovos das incubadoras para os nascedouros. Huth e Archer (2015), por exemplo, registraram aumento na taxa de eclosão e na qualidade dos pintos e redução do estresse nos frangos oriundos de ovos, de matrizes leves e pesadas, incubados sob fotoestimulação (12C:12E, 1º dia de incubação até a eclosão, luz LED branca). Archer (2014), por sua vez, observou que exposição dos ovos à luz LED branca durante a incubação melhora a eclodibilidade em frangos, mas não em poedeiras Leghorn brancas. Archer (2017) verificou que tanto a luz branca como a vermelha (12C:12E, 1º ao 18º dia de incubação) aumentam a eclodibilidade, diminuem o tempo de imobilidade tônica e aumentam defesa humoral de frango de corte. Archer et al. (2017), por sua vez, verificaram que fotoestimulação de 12h (12C:12E) até o 18º dia de incubação, usando luz branca + vermelha (simultaneamente), melhora a taxa de eclosão e qualidade de pintos de linhagem de corte e de postura (Cobb, White Leghorn), bem como de patos, mas diminui o peso corporal desses últimos. Adicionalmente, Mesquita (2017) verificou que luz verde exerce efeito negativo sobre a eclodibilidade e desempenho de frango de corte (Ross). Mais recentemente, Yameen et al. (2020), analisando o uso de fotoestimulação de 12h/dia (LED branca, 5000K, 250Lux) na incubação de ovos de 3 linhagens de frango de corte (Hubbard classic, Cobb-500, and Ross-308), verificaram que fotoestimulação melhorou a eclodibilidade apenas na linhagem Hubbard. Tais dados mostram que fotoestimulação não influencia de forma similar o desenvolvimento *in ovo* de diferentes linhagens, o que pode estar relacionado com diferenças nas características físicas dos ovos, na fotopercepção, nas características físicas da luz (como comprimento de onda, lux etc.).

Após a eclosão, os pintos são expostos a ambiente totalmente diferente do que havia no interior dos ovos. A fase neonatal exige dos mesmos um alto potencial de resposta adaptativa para garantir seu desenvolvimento e sobrevivência. Juntamente com seus comportamentos exploratórios, alimentação exógena e ingestão hídrica, os pintos precisam apresentar rápido desenvolvimento gastrointestinal, para aquisição dos nutrientes necessários para sua manutenção e crescimento. Diante disso, produção de pintos saudáveis, mais ativos e com maior peso

corporal e maior desenvolvimento gastrintestinal significa maior potencial de sobrevivência e desenvolvimento e, portanto, aumento da chance de maximização da produção.

Melatonina não é um produto exclusivo da glândula pineal. Ela também é produzida por células enteroendócrinas do trato gastrintestinal (esôfago, estômago, duodeno, jejuno e íleo), (Raikhlin e Kvetoy, 1976; Bubenik et al., 1996; Similarly, Messner et al., 2001; Lee e Pang, 1993). O aumento noturno de melatonina plasmática é produzido pelo aumento de síntese e secreção do hormônio pela glândula pineal, enquanto que os baixos níveis diurnos são mantidos pelo trato gastrintestinal. Por ser de natureza lipofílica, a melatonina alcança rapidamente todas as células do corpo, servindo como sinal temporizador circadiano sobre várias funções fisiológicas (Konturek et al., 2007). Como já mencionado, maior desenvolvimento de mucosa intestinal na eclosão dá aos pintos maior potencial de aquisição de nutrientes para manutenção e crescimento. Para analisar o efeito de melatonina exógena sobre a estrutura gastrintestinal, Li et al. (2017) injetaram melatonina *in ovo* a partir do 12º dia de incubação e nos pintos até o 6º dia pós-eclosão (0,1-10 µg/dia), o que resultou em aumento no número de células calciformes alcian blue positivas, na expressão de genes codificadores de mucina (MUC2), na proliferação e migração de células marcadas com deoxiuridina e aumento de atividade enzimática no duodeno (maltase e sacarase) e no jejuno (sacarase e lactase). Injeção de melatonina exógena *in ovo* ou na ave, contudo, é um procedimento difícil e dispendioso, o que dificulta sua incorporação no manejo da incubação ou dos pintos. Dessa forma, aumento de melatonina induzida por fotoestimulação durante a incubação dos ovos pode se tornar uma alternativa. No momento, contudo, faltam dados de literatura sobre os efeitos da inserção de ciclo claro-escuro na incubação no desenvolvimento do trato gastrintestinal dos pintos.

Quando se fala em produção de pintos com maior desenvolvimento gastrintestinal, não podemos esquecer dos possíveis efeitos da janela de eclosão sobre o mesmo. É importante considerarmos que janelas de eclosão longas impõem longo tempo de jejum hídrico e de ração aos primeiros pintos eclodidos, prejudicando o desenvolvimento de sua mucosa intestinal, sua sobrevivência e crescimento pós-eclosão (Pinchasov e Noy, 1993; Willemsen et al., 2011;

Lamot et al., 2014). Nesse contexto, o efeito do ciclo circadiano na incubação como agente sincronizador ou não da eclosão dos pintos também precisa ser investigado.

Acredita-se que ciclo claro-escuro será introduzido no manejo de incubação comercial de ovos nos próximos anos. Todavia, a introdução de ciclo claro-escuro como um dos fatores físicos determinantes do ambiente de incubação dos ovos depende de conhecimento científico prévio sobre a influência exercida pela fotoestimulação no desenvolvimento *in ovo*, nas características morfofisiológicas, na atividade, no crescimento e na sobrevivência dos pintos na eclosão e pós-eclosão.

Considerando que o efeito do estímulo luminoso depende da sua duração, quantidade de lux e composição espectral, bem como da capacidade foto-perceptiva do animal, muito ainda é preciso se estudar para se determinar tipo e duração da fotoestimulação e janelas de fotoestimulação durante o desenvolvimento *in ovo*. Isso torna o tema um campo de estudos vasto e promissor para pesquisadores e de grande relevância e expectativa para a produção avícola nas próximas décadas.

Nesse sentido, o objetivo do estudo foi verificar se (i) exposição de ovos à fotoestimulação usando sistema de lâmpadas LED, pode influenciar o desenvolvimento *in ovo* e provocar alterações na dinâmica de nascimento e na qualidade e atividade dos pintos e se (ii) as alterações contribuem para a melhoria ou maximização da produção de pintos, de modo a indicarem o potencial uso de fotoestimulação como manejo de incubação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O que é fotoestimulação?

O fotoperíodo é essencialmente uma alteração na intensidade luminosa. A rotação da Terra em torno de seu eixo resulta em alternância circadiana de fase clara (com luz, dia) e fase escura (sem luz, noite) em um período de 24 h. O período de exposição a luz é chamado de fotoestimulação. O ciclo claro-escuro diário influencia todo o ciclo de vida dos seres vivos através do desenvolvimento de relógios circadianos, cuja função é fornecer uma organização temporal interna para que, naturalmente, ocorra uma adaptação as mudanças ambientais naturais. (Zeman e Herichová, 2011).

A luz é uma onda eletromagnética que possui intensidade (medida em lux), e frequência (medida em nanômetros). A intensidade é identificada como o brilho emitido pela fonte de luz, já a frequência indica o espectro da cor, que simplificando, é a cor aparente da luz emitida. É importante ressaltar que dentro o espectro de luz conhecido, nem todas as cores são visíveis aos olhos humanos e dos animais, sendo a amplitude de luz visível modelada de acordo com as necessidades fisiológicas de cada organismo (Albers et al. 1981; Saper et al., 2005).

2.2. Luz e a percepção dela pelas aves

A luz é uma modalidade de energia radiante percebida pela sensação de claridade através de um estímulo sensorial visual pela da retina. A faixa de radiação das ondas eletromagnéticas detectadas pelo olho humano varia de 400 a 700 nanômetros (nm) (Niskier e Macintyre, 2000). Diferente dos humanos, as aves de produção possuem um tipo adicional de cone na retina (Hart et al., 1999), por isso, o espectro perceptível à visão das aves vai de 350 à 750 nanômetros (nm) (Prescott e Whates, 1999; Santos, 2010; Araujo et al., 2013;).

Aves domésticas possuem o sistema visual altamente desenvolvido e com maior capacidade de percepção de luz pelas retinas. Com 4 tipos de células cones, as aves apresentam visão tetracromática (comprimentos de onda curta, média, longa e ultravioleta), diferente dos humanos que possuem 3 tipos de células cone, tendo uma visão tricromática (comprimentos de onda curto, médio e longo) (Lewis e Morris, 2000).

A luz é percebida pelas aves graças a fotorreceptores que transformam a energia contida nos fótons em sinais biológicos. No olho, a energia dos fótons é transformada pelos pigmentos fotossensíveis contidos nos cones e bastonetes e transmitida pelos neurônios até o cérebro, onde o sinal é integrado em uma imagem (Jácome, 2009). Segundo Rocha (2008), a luz é percebida pelos fotorreceptores hipotalâmicos que convertem o sinal eletromagnético em uma mensagem hormonal através de seus efeitos nos neurônios hipotalâmicos que secretam o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). O GnRH atua na hipófise produzindo as gonadotrofinas: hormônio luteinizante (LH), e hormônio folículo estimulante (FSH).

Segundo Rocha (2008), ao contrário do que se observa em mamíferos, a percepção da informação luminosa nas aves ocorre preponderantemente pela via “transcraniana” do que pela via ocular. Em *Passer domesticus* (pardais), por exemplo, o escurecimento do crânio por tinta nanquim bloqueia a resposta sexual nos dias longos, enquanto que a privação de luz sobre o globo ocular não apresentou o mesmo efeito. Entretanto, é possível que os olhos não sejam indispensáveis ao estímulo luminoso e desempenhem um papel de sincronização nos ritmos circadianos – de dormir e acordar. A luz transmitida por via craniana é percebida graças a um pigmento fotossensor, provavelmente a rodopsina, sendo o estímulo luminoso transmitido ao hipotálamo diretamente via glândula pineal e, talvez, via glândula de Harder (Rocha et al., 2008)

Nas aves, além do sistema nervoso central, a glândula pineal e as retinas também são capazes de gerar oscilações fisiológicas circadianas sob condições constantes (Cassone et al., 2009). As aves, como outros vertebrados não mamíferos, possuem fotorreceptores extraoculares. Dessa forma, além da percepção de luz pela retina, as aves detectam luz através da glândula pineal, localizada na superfície dorsal do cérebro (Korf, 1994; Abreu e Abreu, 2011) e em diferentes estruturas circunventriculares (Bellinghan e Foster, 2002), o que lhes possibilita sincronização com os ciclos claro-escuro mesmo na ausência de fotorreceptores retinais (Okano e Fukada, 2003).

Fotoperíodo é um fator que afeta muitas funções fisiológicas, as quais mostram ritmos circadianos claro-escuro em organismos vivos. A informação fotoperiódica é transformada em sinais neuroendócrinos pela ação da melatonina, que é sintetizada principalmente pela glândula pineal e áreas extra pineais incluindo os olhos de pássaros durante o período escuro (Luvone et al., 2005; Lewis e Morris, 2006). A melatonina atua também no comportamento das aves e nos sistemas cardíaco, respiratório, reprodutivo, excretório, termoregulatório, imunológico e gastrintestinal (Pang et al., 1996). Melatonina também é produzida no trato gastrintestinal por células enteroendócrinas, que compõem o epitélio que reveste internamente o trato digestivo (Stringhini et al., 2015).

2.3. Fotoestimulação na incubação de ovos

Nos incubatórios comerciais, os ovos são normalmente incubados sob ausência total de luminosidade. No entanto, em condições naturais de chocagem, os ovos são expostos periodicamente a estímulos luminosos nos momentos em que a ave deixa o ninho para se alimentar ou outras funções, principalmente na última semana de chocagem (Rogers, 1996), momentos em que a luz pode exercer certa influência sobre o desenvolvimento *in ovo*. Todavia, o interesse pelo conhecimento dos efeitos do fotoestimulação no desenvolvimento *in ovo* de aves de produção vem de muitos anos.

Parte da luz incidente sobre a casca do ovo, passa através da mesma sendo transmitida para o interior do ovo, podendo influenciar o desenvolvimento *in ovo*, podendo ser captada pela retina e de forma intracraniana diretamente pela glândula pineal, estimulando a síntese de melatonina ainda durante a incubação (Archer e Mench, 2014). A luminosidade quando fornecida nos dois primeiros dias de incubação pode atuar estimulando o processo de mitose da crista neural, antecipando o fechamento do tubo neural (Hamburguer e Hamilton, 1951), e por consequência, o desenvolvimento de somitos (Cooper et al., 2011). Shafey (2004) verificou que a fotoestimulação durante a incubação proporcionou aumento no ganho de peso diário e, conseqüentemente, no peso final dos frangos de corte. O autor afirma que esse resultado pode ser resultante de uma maior utilização dos nutrientes da gema durante o desenvolvimento *in ovo*. Ainda, segundo Cooper et al. (2011), os efeitos do estímulo luminoso sobre o desenvolvimento *in ovo* está relacionado principalmente ao aumento do metabolismo fisiológico, que ocorre durante o desenvolvimento fetal (segundo e terceiro terços da incubação).

Como dito anteriormente, o estímulo luminoso afeta também o ciclo circadiano das aves, por meio, principalmente, da secreção da melatonina pela glândula pineal (Acuña-Castroviejo et al., 1997). O padrão rítmico de produção de melatonina nas glândulas pineais de pintinhos foi detectado 16º dia de incubação (Lamosová et al., 1995) e a amplitude do ritmo aumenta progressivamente até a eclosão (Binkley, 1979; Tanabe et al., 1993; Csernus et al., 1998; Lamosová et al., 1995). Todavia, é possível detectar melatonina nos tecidos embrionários a partir do 10 dia de incubação (Zeman et al., 1999).

Özkan et al. (2012) mostraram que ausência de luz durante a incubação não promove ritmo de secreção hormonal da melatonina; no entanto, é possível observar um ritmo de secreção de melatonina, quando fornecido um fotoestimulação de 16 horas de luz e oito horas de escuro (16C:8E) durante todo o período de incubação.

2.4. Influência do fotoestimulação na dinâmica de nascimentos

Dados de literatura dos efeitos do fornecimento de fotoestimulação na incubação de ovos de aves diferem, provavelmente devido a diferenças no tipo de fonte de luz, intensidade, luminância, frequência, duração e período de fornecimento. Os primeiros estudos para avaliar o efeito da fotoestimulação durante a incubação sobre a dinâmica de nascimentos dos pintos foram reportados na década de 60. Shutze et al. (1962), observaram que exposição dos ovos a luz branca antecipava a eclosão dos pintos em um dia em relação aos ovos incubados na ausência de luz, enquanto que exposição a luz de espectro colorido antecipava a eclosão dos pintos em até oito horas. Tais diferenças podem ser resultantes do fato de que os pintos incubados na presença de fotoestimulação apresentam maior quantidade de células satélite em sua composição muscular corporal, principalmente na fase final do desenvolvimento *in ovo*, que levou os autores a sugerirem a hipótese de que o estímulo luminoso acelera o desenvolvimento corporal e, portanto, antecipa a eclosão das aves (Halevy et al., 2006; Harvey e Marshal, 2000). Segundo alguns autores, a taxa de desenvolvimento *in ovo* é maior e mais acelerada quando fotoestimulação é fornecida desde o início da incubação, comparada à taxa de crescimento registrada quando o estímulo luminoso foi fornecido a partir do 2º terço da incubação; enquanto que fotoestimulação na fase final de incubação não gera efeitos aparentes sobre o desenvolvimento *in ovo* (Siegel et al., 1969; Cooper et al., 2011).

Redução de eclodibilidade, elevação nas taxas de mortalidade, má formação de pernas e olhos e redução do peso de neonatos resultantes do fornecimento de fotoestimulação durante a incubação também foram registrados (Tamine, 1967; Bowling et al., 1981; Zakaria, 1989). Contudo, há várias divergências entre dados obtidos pelos diferentes autores e entre diferentes tipos de aves, que podem ser resultantes de diferenças entre os tratamentos.

Em frangos, Zhang et al. (2012), analisando os efeitos de incubação sob escuro total, verde total e azul total com intensidade de 150 lux por 23 horas, observaram que a luz verde aumentou o peso corporal dos pintos ao nascimento, principalmente peso de peito. No entanto, a incubação sob fotoestimulação não influenciou as características gerais de qualidade de carne. Fornecendo fotoestimulação com 250 lux por 12 horas (12C:12E) durante a incubação de ovos de frangos de corte, Hutch e Archer (2015), observaram taxas maiores de eclosão e menor ocorrência de nascimentos de pintos com problemas físicos, bem como menor relação heterofilos/linfócitos, indicado que essas aves eram menos suscetíveis a estresse do que as aves incubadas sob ausência total de luz. Já Archer e Mench (2017), estudaram os efeitos de diferentes cores de luz (verde, vermelha e branca) na incubação de ovos de frangos de corte, usando fotoestimulação com 250 lux de luminosidade por 12 horas (12C:12E). Esses autores observaram que as luzes de LED vermelha e branca melhoraram a eclodibilidade, reduziram o estresse ao nascimento e o tempo em imobilidade tônica, e proporcionou aumento na defesa humoral dos pintos. Ainda os pintos incubados com LED (verde, vermelha e branca) apresentaram menos defeitos físicos ao nascimento. No entanto, o fornecimento de fotoestimulação durante a incubação não influenciou o peso corporal e a conversão alimentar das aves no período pós eclosão. Em perus, Fairchild e Christensen (2000) verificaram que fotoestimulação com lâmpadas LED na cor branca (com 120 LUX) de 12 horas de luz (12C:12E) durante a incubação reduziu o tempo de incubação sem afetar a eclodibilidade ou o pesos dos peruzinhos ao nascimento. Em patos, Archer et al. (2017), por sua vez, verificaram que fotoestimulação de ovos com 250 lux, 12 horas por dia (12C:12E) nas cores vermelha e branca simultaneamente, durante todo o período de incubação, aumenta a taxa de eclosão e diminui a mortalidades precoce e total, e a ocorrência de nascimentos de patos com problemas físicos.

Embora os resultados apresentados indiquem potencial uso de fotoestimulação durante o desenvolvimento *in ovo* como alternativa de manejo para obtenção de melhores resultados no processo de incubação de ovos férteis, sem afetar de forma significativa a sobrevivência e o desempenho zootécnico dos pintos,

ainda base de conhecimentos científicos mais sólida a respeito dos efeitos da fotoestimulação durante a incubação precisa ser construída.

2.5. Desenvolvimento intestinal de aves durante a incubação

O desenvolvimento do trato gastrintestinal em aves ocorre a partir de um tubo digestório endodérmico revestido externamente por mesodermes, cuja formação é iniciada nas primeiras 48h de incubação (Maiorka e Rocha, 2009). Ao final da fase embrionária (1º terço da incubação), o trato gastrintestinal já está dividido em anterior, médio e posterior (Moore e Persaud, 2008). A endoderme dá origem ao revestimento epitelial interno e às glândulas mucosas, já a mesoderme origina o tecido conjuntivo propriamente dito, o tecido muscular liso e toda a vascularização das túnica serosa, muscular e mucosa que formam a parede do trato gastrintestinal (Dibner e Richards, 2004; Dibner et al., 2007). A alça duodenal, o intestino delgado e os cecos já podem ser observados a partir do sexto dia de incubação (Freeman e Vence, 1974). No período de incubação, a taxa de crescimento do intestino delgado ou médio é maior que a taxa de crescimento dos demais órgãos (Uni et al., 2003), sendo que a morfologia do intestino delgado também muda rapidamente com o crescimento acelerado da camada muscular externa e das vilosidades. No 15º dia de incubação, os vilos apresentam uma forma mais rudimentar, mas no 17º de incubação, já são observadas vilosidades intestinais maiores e menores, tendo essas últimas aproximadamente 65 % do tamanho das vilosidades maiores) (Uni et al., 2003).

A morfologia do intestino delgado, mais especificamente, muda rapidamente nos estágios finais da incubação e, embora as criptas sejam rudimentares e pequenas no momento da eclosão dos pintos, o número e profundidade dessas aumentam rapidamente pós eclosão, estando totalmente definidas de 2 a 3 dias, tendo aumentado tanto em quantidade quanto em tamanho (Geyra et al., 2001a). Esse rápido desenvolvimento é crucial para a maturação intestinal, já que as criptas fornecem as células que compõem o epitélio de revestimento intestinal e, portanto, das vilosidades: enterócitos com função de digestão final e absorção, células enteroendócrinas com função secretora para regulação da atividade e maturação do próprio epitélio da cripta e vilosidades, células caliciformes com função de produzir

mucinas que formam camada sobre a superfície epitelial, protegendo-o da ação abrasiva da digesta, da ação de enzimas digestivas e pH, atuando como barreira seletiva de moléculas e como sítio de ligação para microbiota intestinal (Ozaydin e Celik, 2012; Boleli et al., 2017). As células do epitélio intestinal surgem a partir das divisões mitóticas das de células mães (stem cells) presentes na base das criptas. Células-filhas vão sendo empurradas da base das criptas para a base dos vilos, onde se diferenciam em enterócitos, células enteroendócrinas ou células caliciformes, e desta para a região mediana, onde exercem suas funções morfofisiológicas, e depois para a extremidade apical dos vilos, onde sofrem morte celular e extrusão (Boleli et al., 2002, 2013). O crescimento e maturação funcional fetal do trato gastrintestinal é essencial para o bom desenvolvimento dos pintos pós-eclosão, uma vez que ele deverá possibilitar a assimilação dos nutrientes ingeridos necessários para sua própria manutenção e crescimento, do qual depende a continuidade da manutenção e crescimento corporal das aves. Melatonina é uma das secreções produzidas pelas células enteroendócrinas do epitélio intestinal e atua regulando a dinâmica de funcionamento desse epitélio (Mesquita, 2017). Contudo, faltam dados referentes a efeitos do fotoestimulação durante a incubação sobre a mucosa intestinal dos pintos.

3. REFERÊNCIAS

- Abreu, VMN, Abreu, PG (2011) Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 011. v.40, n. 1, p.1-14.
- Acuña-Castroviejo D, Crespo E, Martin M (1997) Melatonin as a cell neuroprotector: experimental and clinical studies. **J Physiol Biochem**. 53(1):54.
- Albers HE, Gerall AA, Axelsson JF (1981) Circadian rhythm dissociation in the rat: effects of long-term constant illumination. **Neurosci Lett**. 7(1), 89–94.
- Araujo WAG, Albino LFT, Tavernari FC, Gody MJS (2011) Programa de luz na avicultura de postura. **Avicult Ind**. 52:5865.
- Archer GS (2017) Exposing broiler eggs to green, red and white light during incubation. **Animal**. v.11, n.7, p.1203–1209.
- Archer GS, Jeffrey D, Tucker Z (2017) Effect of the combination of white and red LED lighting during incubation on layer, broiler, and Pekin duck hatchability. **Poultry science**, v. 96, n. 8, p. 2670-2675.
- Archer GS, Mench JA (2014) Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. **Appl Anim Behav Sci**. 2014. 152:44-51.
- Archer GS, Mench JA (2003) Exposing avian embryos to light affects post-hatch anti-predator fear responses. *Applied Animal Behavior Science*. 2017. v. 186, p. 80-84.
- Arendt, J. Importance and relevance of melatonin to human biological rhythms. **J. Neuroendocrinal**. 15, 427–431.
- Arendt J (1998) Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. **Rev. Reprod**. 3, 13–22.
- Binkley SA (1979) Time-keeping enzyme in the pineal gland, **Science** **202** 1198–1201.
- Boleli IC, Maiorka A, Macari M (2002) Estrutura funcional do trato digestório. In: Macari, M, Furlan, R. L, Gonzales, E. (Ed.). **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p. 75-95.
- Bowling J A, Howarth B, Fletcher D L (1981) The effects of lighted incubation on eggs with pigmented and nonpigmented egg. **Poult Sci**. 60:2328-2332.
- Brown A (2010) **Photoperiod effects on broiler performance and behaviour**. Master of Science Thesis, The University of Georgia. United States of America.

Bubenik GA, Pang SF, Hacker RR, Smith PS (1996) Melatonin concentrations in serum and tissues of porcine gastrointestinal tract and their relationship to the intake and passage of food. **J Pineal Res.** 21: 251-256.

Cassone, VM, Paulose, JK, Whitfield-Rucker, MG, Peters, JL (2009) Time's arrow flies like a bird: two paradoxes for avian circadian biology, **Gen. Comp. Endocrinol.** 163: 109–116.

Charles, RG, Robinson, FE, Hardin, RT, Yu, MW, Feddes, J, Classen, HL (1992) Growth, body composition, and plasma androgen concentration of male broiler chickens subjected to different regimens of photoperiod and light intensity. **Poult. Sci.** 71:1595–1605.

Classen, HL, Riddell, C, Robinson, FE (1991) Effects of increasing photoperiod length on performance and health of broiler chickens. **Br. Poult. Sci.** 32:21–29.

Cooper CB, Voss MA, Ardia DR, Austin S.H, Robinson WD (2011) Light increases the rate of embryonic development: implications for latitudinal trends in incubation period. **Br Ecol Soc.** 25:269-776.

Décio, CCR (2008) Características comportamentais de fêmeas em cativeiro submetidas a diferentes fotoperíodos e diferentes relações macho:fêmea. In: BONI, I. J, PAES, A. O. S. **Programas de luz para matrizes: machos e fêmeas.** – Tese de Doutorado – Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Viçosa, MG.

Dibner, JJ, Knight, C, Yi, GF, Richards, JD (2007) Gut Development and Health in the Absence of Antibiotic Growth Promoters. **Asian-Australasian Journal of Animal Science.** v. 20, n. 6: 1007 – 1014.

Dibner, JJ, Richards, JD (2004) The Digestive System: Challenges and Opportunities. **Journal of Applied Poultry Research.** v.13, p.86–93.

Downs KM, Lien RJ, Hess JB, Bilgili SF, WADozier (2006) The effects of photoperiod length, light intensity, and feed energy on growth responses and meat yield of broilers. **J. Appl. Poult. Res.** 15:406–416.

Fairchild, BD, Christensen, VL (2000) Photostimulation of turkey eggs accelerates hatching times without affecting hatchability, liver or heart growth, or glycogen content. **Poultry science.** v. 79, n. 11, p. 1627-1631.

Freeman, BM., Vince, RL (1974) Development of the Avian Embryo. **Chapman and Hall**, London.

Geyra, A, Uni, Z, Sklan, D (2001) Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science.** v.80, p.776–782.

Halevy O, Piestun Y, Rozenboim I, Yablonka-Reuveni Z (2006) In ovo exposure to monochromatic green light promotes skeletal muscle cell proliferation and affects myofiber growth in posthatch chicks. **Am J Physiol.** 290:1062-1070.

Hamasaki, DI (1968) Properties of the parietal eye of the green iguana. **Vision Res.** 8, 591–599.

Hamburger V, Hamilton HL (1951) A series of normal stages in the development of the chick embryo. **J of Morph.** 88:49 -92.

Hart, NS, Partridge, J.C, Cuthill, IC (1999) Visual pigments, cone oil droplets, ocular media and predicted spectral sensitivity in the domestic turkey (*Meleagris gallopavo*). **Vision Research.** v.39, n.20, p.321-3328.

Harvey AL, Marshall IG (2000) Skeletal muscle. In: Scanes CG. Sturkie's **Avian Physiology**. Milwaukee: Department of Biological Sciences, University of Wisconsin. p.123-139.

Hill, WL. et al. (2004) Prehatch Entrainment of Circadian Rhythms in the Domestic Chick Using Different Light Regimes. **Developmental Psychobiology.** v.45, p.174-186.

Huth, JC, Archer, GS (2015) Comparison of Two LED Light Bulbs to a Dimmable COM-FEIL and their Effects on Broiler Chicken Growth, Stress, and Fear. **Poultry Science.** v.94, p.2027–2036.

Huth, JC, Archer, GS (2015) Effects of LED lighting during incubation on layer and broiler hatchability, chick quality, stress susceptibility and post-hatch growth. **Poultry Science.** v. 94, n. 12, p. 3052-3058.

Jácome, (2009) **Diferentes sistemas de iluminação artificial usados no alojamento de poedeiras leves** – Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola. Campinas, SP: [s.n], 2009.

Konturek SJ, Konturek P.C, Brzozowska I (2007) Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). **J Physiol. Pharmacol.** 58: 381-405.

Korf, HW (1994) The pineal organ as a component of the biological clock. Phylogenetic and ontogenetic considerations. **NY Acad. Sci.** 719, 13–42.

Lamosová, D, Zeman, M, Mackova, M, Gwinner, E (1995) Development of rhythmic melatonin synthesis in cultured pineal glands and pineal cells isolated from chick embryo, **Experientia** 51, 970–975.

Lamot, DMIB, Molenaar, R, Van der Pol, CW, Wijten, PJA, Kemp, B, Van den Brand, H (2014) Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science.** v. 93 n. 10, p. 2604-2614.

Lee PPN, Pang SF (1993) Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. **Biol Signals**. 2: 181-193.

Lewis PD, Morris TR (2000) Poultry and coloured light. **Worlds Poult Sci J**. 56:189 - 207.

Lewis P, Morris T (2006) **Physiology and mechanisms**. Pages 7–22 in Poultry Lighting: The Theory and Practice. Northcot, Hampshire, UK.

Li J, Li RX, Liu G, Lv CF, Mi YL, Zhang CQ (2017) Effect of melatonin on renewal of chicken small intestinal mucosa. **PoultSci**. 96:2942–2949.

Lima LHRG, Santos KP, Castrucci AML (2011) Clock genes, melanopsins, melatonin, and dopamine key enzymes and their modulation by light and glutamate in chicken embryonic retinal cells. **Chronobiology International**. 28(2): 89–100.

Lott BD, Branton, SL, May, JD (1996) The effect of photoperiod and nutrition on ascites incidence in broilers. **Avian Dis**. 40:788–791.

Lucas RJ (2013) Mammalian inner retinal photoreception. **Curr Biol**. 23:R125–R133.

Maiorka A, Rocha C (2009) Dietas iniciais, desenvolvimento do trato gastrointestinal e impacto sobre o desempenho de frango de corte. **V Intestinal Health Food Safety Seminar**.

Mason CA, Lincoln D.W (1976) Visualization of the retino-hypothalamic projection in the rat by cobalt precipitation. **Cell Tiss Res**. 168:117–131.

Mesquita, MA (2017) **Exposição de ovos de matrizes pesadas à luz monocromática durante a incubação artificial**. Tese (Doutorado em Zootecnia).

Moore, KL, Persaud, TVN Embriologia básica. Elsevier do Brasil, 365 páginas, 2008.

Nagy, AD (2008) Circadian expression of clock genes clock and Cry1 in the embryonic chicken pineal gland. **NY Academic Science**.

Niskier J, Macintyre AJ (2000) **Instalações Elétricas**. 4.ed., Rio de Janeiro: LTD, p.241-306.

Okano T, Fukad, Y (2003) Chicktacking pineal clock, **J. Biochem**. 134, 791–797.

Ozaydin T, Celik I (2012) Histological, histochemical and immunohistochemical investigations on the developing small intestines of broilers embryos. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. v. 11, n. 16, p. 2936-2944.

Özkan S, Yalçın S, Babacanoğlu E, Kozanoğlu H, Karadaş F, Uysal S (2012) Photoperiodic lighting (16 hours of light:8 hours of dark) programs during incubation:

1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. **Poult Sci.** 91:2912 -2921.

Pang SF, Pang CS, Poon AMS (1996) An overview of melatonin and melatonin receptors in birds. **Poult Avian Biol Rev.** 7(4):217-228.

Pinchasov Y, Noy Y (1993) Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **Br. Poult. Sci.** 34:11-120.

Prescott NB, Wathes CM (1999) Spectral sensitivity of the domestic fowl. *British Poultry Science.* v.40, p.332-339.

Raikhlin NT, Kvetnoy IM (1976) Melatonin and enterochromaffine cells. **Acta Histochem.** 55: 19-24.

Reiter RJ, Tan DX, Galano A (2014) Melatonin: exceeding expectations. **Physiology.**

Revel FG, Masson-Pevet M, Pevet P, Mikkelsen JD, Simonneaux V (2009) Melatonin controls seasonal breeding by a network of hypothalamic targets. **Neuroendocrinology.** 90:1–4.

Rogers LJ (1996) Environmental influences on development of the embryo. In: Rogers LJ. *The development of brain and behavior in the chicken.* Wallingford: **CAB Publishing.** p.52.

Sand A, Schmidt TM, Kofuji P (2011) Diverse types of ganglion cell photoreceptors in the mammalian retina. **Prog Retin Eye Res.** 51:17–43.

Saper, CB, Scammell, TE, Lu, J (2005) Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. **Nature.** 27 (7063), 1257–1263.

Shafey TM (2004) Effect of lighted incubation on embryonic growth and hatchability performance of two strains of layer breeder eggs. **Br Poult Sci.** 45(2):223-229.

Shafey TM, Al-Mohsen TH (2002) Embryonic Growth, Hatching Time and Hatchability Performance of Meat Breeder Eggs Incubated under Continuous Green Light. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v.15, n.12, p. 702-1707.

Shutze JV, Lauber J.K, Dato M, Wilson W (1962) Influence of incandescent light and coloured light on chick embryos during incubation. **Nature.** 96:594-595.

Siegel PB, Isakson ST, Coleman FN, Huffman BJ (1969) Photoacceleration of development in chick embryos. **Comp Biochem Physiol.** 28:753-758.

Solessio E, Engbretson GA (1999) Electroretinogram of the parietal eye of lizards: photoreceptor, glial, and lens cell contributions. **Vis. Neurosci.** 16, 895–907.

Stringhini et al. (2013). Desenvolvimento do sistema digestório em aves. In 28º Reunião Anual do CBNA: **Congresso Sobre Nutrição de Animais Jovens–Aves e Suínos**.

Tamimie HS (1967) Effect of continuous and intermittent light exposure on the embryonic development of chicken eggs. **Poult Sci.** 46:1327.

Uni Z, Smirnov ADS, klan (2003) Pre- and Posthatch Development of Goblet Cells in the Broiler Small Intestine: Effect of Delayed Access to Feed. **Poultry Science.** 82:320–327.

Vercellino, RA (2012) **Efeito de diferentes sistemas de vedação de aviários no comportamento e bem-estar de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Wiechmann AF, Sherry DM (2013) Role of Melatonin and Its Receptors in the Vertebrate Retina. **International Review of Cell and Molecular Biology**, Volume 300.

Willemsen HLI, Willems Y, Franssens E, Wang Y, Decuypere E (2011) Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. **Poultry Science**, v.90, p.1302-1312.

Yameen RMK, Hussain J, Mahmud A (2020) Effects of different light durations during incubation on hatching, subsequent growth, welfare, and meat quality traits among three broiler strains. **Trop Anim Health Prod.** 52:3639–3653.

Zakaria AH (1989) The effect of fluorescent light on hatchability of commercial broiler parent stock eggs and on body weight of chickens hatched under large-scale commercial conditions. **Poult Sci.** 68:1585-1587.

Zeman M, Gwinner E, Herichova I, Lamosova D, Kostal L (1999) Perinatal development of circadian melatonin production in domestic chicks. **J Pineal Res.** 26:28 –34.

Zeman M, Herichová I (2011) A produção de melatonina circadiana desenvolve-se mais rápido em aves do que em mamíferos. **Gen Comp Endocrinol.** 172(1):23-30.

Zhang L, Zhang HJ, Qiao X, Yue HY, Wu SG, Yao JH, Qi GH (2012) Effect of monochromatic light stimuli during embryogenesis on muscular growth, chemical composition, and meat quality of breast muscle in male broilers. **Poultry science.** 91(4), 1026-1031.

CAPITULO 2 – FOTOESTÍMULO LUMINOSO INTERMITENTE NO FINAL DA INCUBAÇÃO AUMENTA A ATIVIDADE DOS PINTOS E ENCURTA A JANELA DE ECLOSÃO

RESUMO - Esse trabalho analisou se fotoestimulação intermitente nos últimos dias de incubação influencia a janela de eclosão, a dinâmica de nascimentos e a qualidade e a atividade dos pintos recém-eclodidos, bem como sua qualidade e atividade ao longo da janela de eclosão (precoces, intermediários e tardios). Para isso foram usados 2 tratamentos: sem (Sem-FEI, controle, 0L:24E) e com fotoestímulo luminoso intermitente a partir do 18º de incubação (Com-FEI: 1100 Lux: 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h; 12Li:12E). O fotoestímulo luminoso reduziu a janela de eclosão em 8h e não alterou o período de pico de nascimentos e a eclodibilidade. O peso corporal, as dimensões físicas, a pontuação de Tona de qualidade e as frequências de problemas físicos dos pintos também não foram influenciados pela fotoestimulação. Entretanto, estímulo luminoso diminuiu o TIT médio dos pintos. Não ocorreu efeito do estímulo luminoso sobre a qualidade e atividade dos pintos precoces, intermediários e tardios. Os resultados mostram que fotoestimulação nos últimos dias de desenvolvimento in ovo diminuiu a janela de eclosão e tornou os pintos mais ativos sem alterar sua eclodibilidade e a qualidade e a frequência de problemas físicos. Os dados sugerem potencial uso de fotoestimulação no nascedouro para produção de pintos que explorem o ambiente e iniciem o comportamento de ingestão de ração e água mais cedo.

Palavras-Chaves: fotoestímulo, frangos de corte, imobilidade tônica, janela de eclosão, nascedouro

CHAPTER 2 – INTERMITTENT LIGHT PHOTOSTIMULA AT THE END OF THE INCUBATION INCREASES THE CHICKS ACTIVITY AND SHORTS THE HATCHING WINDOW

ABSTRACT - This work analyzed whether intermittent photostimulation in the last days of incubation influences the hatch window, hatch dynamics and the quality and activity of newly hatched chicks, as well as their quality and activity throughout the hatching window (early, intermediate and late). For this, 2 treatments were used: without (Without-FEI, control, 0L:24D) and with intermittent light photostimulation from 18^o of incubation (With-FEI: 1100 Lux: 1 minute of light followed by 4 minutes of dark, during 12 noon, from 6:30 am to 6:30 pm; 12Li:12D). Light photostimulation reduced the hatch window by 8h and did not change the peak birth period and hatchability. Body weight, physical dimensions, quality Tona score and chick physical problem frequencies were also not influenced by photostimulation. However, light stimulation decreased the average TIT of the chicks. There was no effect of light stimulation on the quality and activity of early, intermediate and late chicks. The results show that photostimulation in the last days of in ovo development shortened the hatch window and made the chicks more active without altering their hatch ability and the quality and frequency of physical problems. The data suggest potential use of photostimulation in the hatcher to produce chicks that explore the environment and initiate feed and water intake behavior earlier.

Keywords: broilers, hatch window, hatcher, photostimulus, tonic immobility.

1. INTRODUÇÃO

Na produção avícola comercial, devido à eclosão assíncrona, os primeiros pintinhos nascidos são expostos a um período mais longo sem acesso a ração e água antes de seu alojamento na granja do que os pintinhos que eclodem no final do período de incubação dos ovos. Longo jejum pós-eclosão causa redução no peso corporal e no peso muscular (Noy e Sklan, 1999; Halevy et al., 2000, 2003; Bigot et al., 2003; Kornasio et al., 2011; Lamot et al., 2014), no desenvolvimento do intestino médio, no peso dos órgãos (Fairchild e Christensen, 2000; van de Ven et al., 2011, 2013) e desidratação (Riccardi et al., 2011). Esses efeitos prejudicam o crescimento inicial do pintinho e colocam em risco sua saúde e sobrevivência, causando diferenças na taxa de sobrevivência e de crescimento entre pintinhos nascidos mais cedo e mais tarde, e, conseqüentemente, alta heterogeneidade e menor desempenho e rendimento no lote de frangos de corte. Embora os pintinhos possam obter nutrientes do saco vitelino residual durante os primeiros dias de vida após a eclosão (Rogers, 1996; Noy et al., 1996; Noy e Sklan, 1998, 2001), isso não é suficiente para evitar os efeitos negativos do jejum pós-eclosão prolongado. Para um bom desempenho e sobrevivência, é crucial que os pintinhos comecem seu comportamento de ingestão de comida e água o mais cedo possível. Os pintinhos recém-eclodidos passam por um período de adaptação ao ambiente externo aos ovos. Eles eclodem molhados, cansados e com as pernas bambas, e alternam sono com tentativas de locomoção. Mesmo após secagem e sustentação do corpo sobre as pernas, mais especificamente durante o primeiro dia pós-eclosão, eles se mostram pouco ativos e muito sonolentos, permanecendo a maior parte do tempo dormindo, comendo pouco. Assim, além de uma eclosão mais síncrona, a produção de pintos recém-nascidos mais ativos é desejável para o setor produtivo.

O tempo de incubação e o ritmo de atividade diurna/noturna dos filhotes durante os primeiros dias de vida após a eclosão são determinados pelo ritmo circadiano estabelecido no início do desenvolvimento *in ovo* (Zeman e Gwinner, 1993; Zeman et al., 1999; Archer et al., 2009), como consequência da produção precoce de melatonina. O desenvolvimento da glândula pineal começa por volta de 60 horas de incubação, mas pinealócitos são distinguíveis apenas no 7º dia de

incubação (Ohshima e Matsuo, 1988). Embora a produção de melatonina em galinhas seja relatada a partir do 10º dia de incubação do ovo (Möller e Möller, 1990), ritmo regular é detectado entre os dias 16 e 18 (Csernus et al., 2007), cuja amplitude aumenta consideravelmente durante a bicagem interna e externa, período em que a respiração pulmonar é iniciada ainda no interior do ovo (Starck e Ricklefs, 1998). Para que o ritmo circadiano seja estabelecido durante o desenvolvimento *in ovo*, no entanto, estímulos externos claro-escuro (ou dia-noite) precisam ser fornecidos (Csernus et al., 2007) para mediar os altos níveis de melatonina à noite e baixos níveis durante o dia (Schultz e Kay, 2003).

A influência de estímulos luminosos distintos sobre o desenvolvimento *in ovo* de frangos de corte tem sido o foco de vários estudos ao longo dos anos. Incubação precoce, maior eclodibilidade, peso e comprimento corporal, e peso hepático, e diminuição do peso do saco de vitelo residual são resultados positivos encontrados com a exposição dos ovos a estímulos luminosos (Fairchild e Christensen, 2000; Shafey e Al-mohsen, 2002; Tong et al., 2018). Embora a falta de ciclos circadianos claro-escuro possa ter efeitos no tempo de incubação e na qualidade dos pintinhos recém-eclodidos, ainda hoje, nas práticas comerciais de incubação, os ovos são mantidos sob escuro contínuo. Isso visando conter gastos de energia elétrica e evitar potenciais efeitos negativos na eclodibilidade devido ao calor que poderia emanar da fonte de luz (Archer, 2014). Diferentemente de outras fontes de luz, lâmpadas de diodo emissor de luz (LED) são de baixa potência e mais econômicas, o que vêm incentivando as investigações dos efeitos da luz emitida por lâmpadas LED sobre o desenvolvimento *in ovo* em aves de produção, incluindo frangos de corte.

Diferentes regimes de foto estimulação usando lâmpadas LEDs durante a incubação têm sido investigados (Archer et al., 2009; Archer e Mench, 2013, 2014, Archer 2015, 2017, Hannah et al., 2020, Özkan et al., 2012a, 2012b; Rozenboim et al., 2004, 2013). Entretanto, o potencial uso de um fotoestimulação intermitente com lâmpada LED durante os últimos dias de incubação para aumentar a sincronia na eclosão e a atividade de pintinhos recém-eclodidos ainda não foi explorado.

Maior sincronia na eclosão e produção de pintos ativos mais cedo podem proporcionar maior uniformidade e crescimento para os lotes de frangos de corte, respectivamente, e a fotoestimulação intermitente por lâmpada LED pode ser uma fonte de luz econômica alternativa. Assim, O presente estudo analisou se fotoestimulação intermitente com lâmpada LED a partir do dia 18 de incubação induz eclosão mais precoce e sincronizada, bem como o nascimento de pintinhos mais ativos, sem causar alterações na eclodibilidade e na qualidade do pintinho. Esse estudo é de grande interesse, pois pode contribuir para o melhor entendimento atual dos efeitos da fotoestimulação durante a incubação dos ovos sobre a qualidade dos pintos e para o potencial uso de fotoestimulação por lâmpada LED como novo manejo da incubação para melhorar a produção de pintos pelos incubatórios.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Procedimentos Experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo n° 017647/18), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal.

Foram utilizados 150 ovos férteis com um dia de estocagem, provenientes de matrizes com 38 semanas de idade (Cobb 500®), obtidos de incubatório comercial (Globoaves, Itirapina – SP). Os ovos foram identificados, pesados individualmente, e distribuídos homogeneamente pelo peso ($67,11\text{g} \pm 2,61$) em um delineamento inteiramente casualizado entre dois tratamentos no nascedouro a partir do 18º dia de incubação, onde cada ovo correspondeu a uma repetição, sendo 75 repetições por tratamento. Os tratamentos foram: sem fotoestimulação intermitente (Sem-FEI) (0L:24E) ou com fotoestimulação intermitente (Com-FEI) (1100 Lux na superfície dos ovos: 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E), a partir do 18º dia de incubação. O período de exposição à luz foi determinado com base no conhecimento de que em condições naturais as galinhas saem periodicamente do ninho para se alimentar e beber durante a última semana de incubação (Mrosovsky e Sherry, 1980; Rogers, 1996; Archer e Mench, 2014). Considerando que a intensidade de luz ideal a ser aplicada

durante a incubação ainda não foi estabelecida, a iluminância utilizada no presente estudo correspondeu à mensurada previamente na sombra ao meio dia (utilizando luxímetro digital Akrom KR8332, 0-400k lux, China). Os ovos foram incubados em incubadoras horizontais (Premium Ecológica IP 120, BH, MG, Brasil), com controle automático de temperatura ($37,6^{\circ}\text{C} \pm 0,09$), e giro (a cada hora até o 17º dia de incubação). A umidade relativa do ar da incubadora foi mantida a 60% durante toda a incubação. A UR foi mantida constante para evitar efeitos sobre o desenvolvimento *in ovo* e eclosão.

Para fotoestimulação dos ovos, dois circuitos em série de lâmpadas LED (Light Emitting Diode) foram instalados no interior de cada incubadora. Cada circuito de lâmpadas LED foi constituído por uma série de 33 módulos LED (7,5x1,5x0,3cm; contendo 3 lâmpadas LED brancas com 3x3mm cada) (Módulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China), acoplada a um dimmer específico para lâmpadas LED (DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720), o qual foi conectado a uma fonte (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China). As duas fontes de energia foram conectadas ao mesmo timer automático (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil). O timer foi programado para ligar a luz às 06:30h e desligar às 18:30h, resultando em fotoestimulação durante 12h. Esses sistemas possibilitaram controle da iluminância e da duração do período de exposição à luz. Os circuitos em série de lâmpadas LED foram fixados na face interna da placa de suporte do ventilador (40 x 35 cm) da tampa da incubadora, à 3,5cm da superfície dos ovos. Como mostrado na Figura 1, os circuitos foram fixados em fileiras de 6 módulos LED cada, com 2,4cm entre fileiras, paralelamente aos roletes de suporte dos ovos e na posição entre roletes. O uso de dois sistemas por incubadora e o posicionamento das séries de módulos LED na tampa da incubadora de forma paralela e entre os roletes de suporte de ovos possibilitou uniformidade na exposição dos ovos à luz no interior das incubadoras.

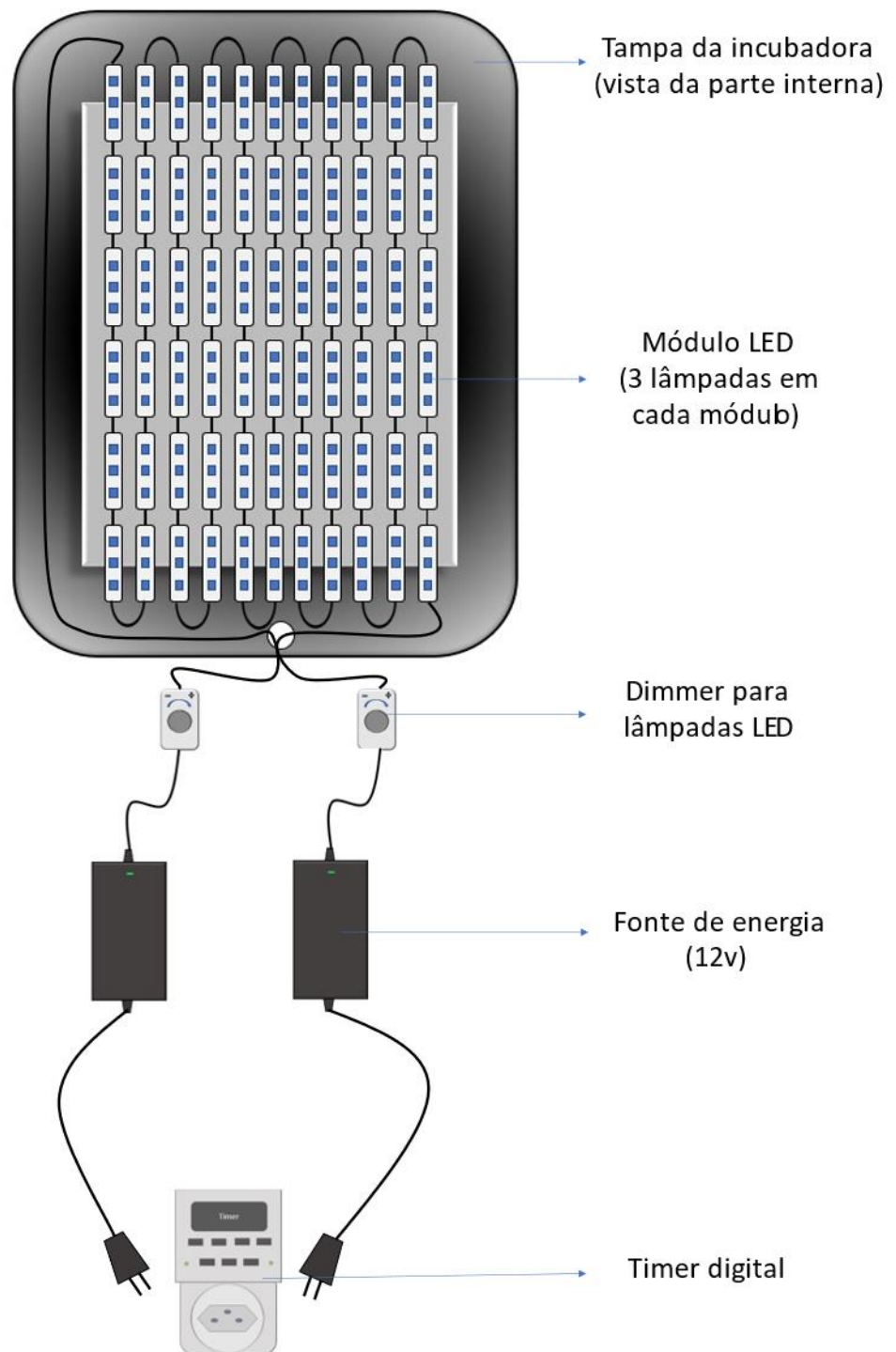


Figura 1. Representação esquemática do sistema LED utilizado para fotoestimulação dos ovos: dois circuitos em série de lâmpadas LED fixados na face interna da tampa das incubadoras. Cada circuito tem 33 módulos LED em série, organizados em 5½ fileiras com distanciamento de 2,4cm entre fileiras, cada fileira contendo 6 módulos LED com 3 lâmpadas de cor branca em cada módulo (Modulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China). Cada circuito foi ligado a um dimmer (específico para

LED, DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720) e este ligado a uma fonte de energia 12V (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China). As duas fontes de energia foram conectadas ao mesmo timer digital (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil). Esse sistema proporcionou controle automático do ciclo claro-escuro e uniformidade de fotoestimulação no interior da incubadora.

Os comprimentos de onda emitidos pelas LED utilizadas no presente estudo foram determinados por espectrometria (Prof. Luciano Bachmann, Laboratório de Fotobiofísica, do Departamento de Física, da FFCLRP, USP). Para isso, foi utilizado espectrômetro (USB2000 +, Ocean Optics, Dunedin, EUA) calibrado para medir a emissão espectral na faixa de 290-700 nm equipado com fibras ópticas e sondas de irradiância com correção de cosseno (CC-3-UV, Ocean Optics, Dunedin, EUA). A calibração do espectrômetro foi realizada em comprimento de onda e foi medido com uma fonte de calibração de mercúrio e argônio (HG-1, Ocean optics, linhas 253 e 922 nm). A Figura 2 mostra a distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs.

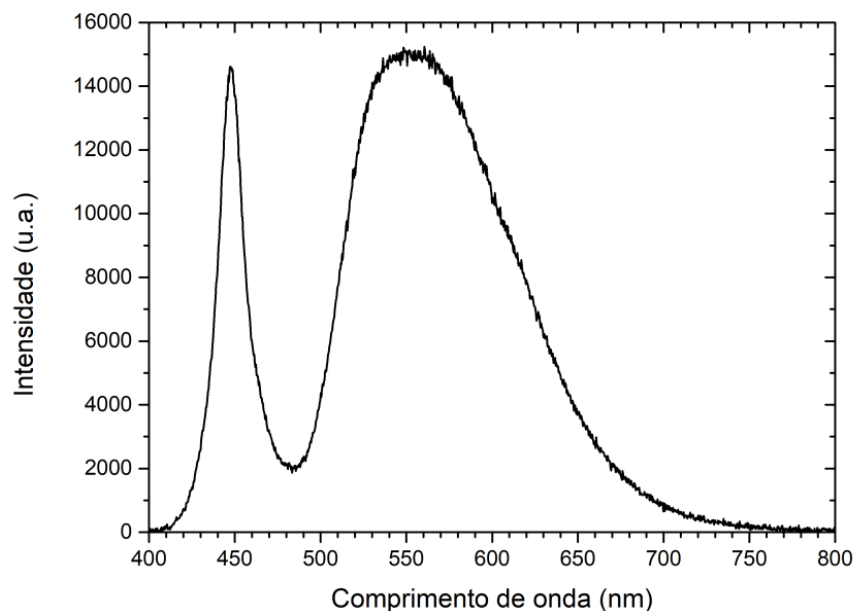


Figura 2. Distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs (Módulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China).

Os ovos utilizados nos tratamentos sem e com fotoestimulação intermitente apresentaram peso inicial de $67,11 \pm 2,61$ g, volume de $71,15 \pm 2,97$ cm³, área de superfície de $81,51 \pm 2,50$ cm² e índice forma de $76,64 \pm 2,74$. A área superficial e o volume dos ovos foram calculados utilizando as equações $A=(3,155-0,0136D+0,0155d)*Dd$ e $V=(0,6057-0,0018d)*Dd^2$, com A= área superficial (cm²); V= volume (cm³); D e d: diâmetro maior e diâmetro menor, do ovo (cm), respectivamente (Narushin, 2005). Os diâmetros foram aferidos com auxílio de paquímetro digital antes da incubação. O índice forma foi calculado pela equação $IF=(D/d)*100$, sendo que valor mais próximo de 100 indica formato mais arredondado (Umigi et al., 2007). A perda de massa até o 17º dia de incubação (em gramas e em porcentagem em relação ao peso inicial do ovo) foi similar entre os tratamentos sem e com fotoestimulação intermitente ($5,66 \pm 1,01$ g e $5,93 \pm 1,14$ g, P: 1,1129; $8,44 \pm 1,43\%$ e $8,81 \pm 1,71\%$, P: 0,1212; respectivamente). Tais dados físicos dos ovos foram calculados como controle da área de exposição à fotoestimulação e da perda de massa dos ovos até o início do fotoestímulo.

2.2. Duração da incubação e eclodibilidade

A duração da incubação (h) foi determinada individualmente para cada ovo. Para isso, a partir do 19º dia de incubação, os ovos foram monitorados continuamente a cada 30 minutos, por observação visual através da tampa da incubadora (de acrílico transparente) para determinação do dia e do horário da saída dos pintos da casca. Para evitar efeitos da luz sobre o nascimento dos pintos, o acompanhamento visual da eclosão foi realizado utilizando lanterna, cuja fonte de luz foi coberta com celofane vermelho (cor de baixa sensibilidade espectral para aves, segundo Prescott e Wathes, 1999). A eclodibilidade total e a eclodibilidade por período de nascimento (precoce, intermediário e tardio: pintos eclodidos antes de 487h ($<\mu-\sigma$), de 487h à 513h ($\mu-\sigma \leq X \leq \mu+\sigma$) e após 513h ($>\mu+\sigma$). respectivamente) foram calculadas e expressas em porcentagem em relação ao número total de ovos férteis incubados.

2.3. Dinâmica de nascimentos

A duração da janela de eclosão (h), a curva de nascimentos (%) ao longo da janela de eclosão (a cada 3 horas) (Willemsen et al., 2010; Wang et al., 2014) e a frequência cumulativa de nascimento (%) dentro da janela de eclosão (baseado em Zhong et al., 2018) foram determinadas para cada tratamento, considerando um período de incubação de 527 horas (momento do último nascimento).

2.4. Peso e tamanho corporais dos pintos

O peso corporal (g) dos pintos foi mensurado após secagem da penugem (2-3h após saída da casca), utilizando balança digital de precisão (Marte, precisão: 0,001). O comprimento corporal entre as extremidades do bico e da cauda (B-C) e entre as extremidades do bico e do dedo médio (B-Dm), a envergadura de asa (EA) e o comprimento da perna entre a base do tarso e a extremidade do dedo médio foram mensurados mantendo o animal em decúbito ventral, utilizando régua milimetrada, e expressos em centímetros. Todos os pintos eclodidos tiveram seus pesos e dimensões corporais mensurados.

2.5. Qualidade dos pintos

A determinação da qualidade dos pintos eclodidos foi realizada segundo metodologia de Tona et al. (2003), de acordo com a qual cada pinto recebeu uma pontuação individual para cada característica física (atividade, olhos, penugem, pernas, umbigo, cordão alantóico e saco de vitelo) (Tabela 1), sendo a pontuação mínima e máxima total possível de 12 e 100 pontos, respectivamente, e a máxima correspondente a ausência total de problemas físicos. No presente estudo, baseada na pontuação total obtida, os pintos foram individualmente classificados como apresentando qualidade excelente (100 pontos), muito boa (81-100 pontos), boa (61-80 pontos), regular (41-60 pontos), ruim (21-40 pontos) e muito ruim (12-20 pontos). As porcentagens de pintos em cada classe de qualidade e apresentando cada tipo de problema físico foram calculadas para cada tratamento.

Tabela 1. Pontuação de qualidade de pintos, de acordo com características físicas

Parâmetros	Avaliação	Características	Scores
Atividade	Tempo em decúbito dorsal: < 30 segundos: alta atividade. > 30 segundos: baixa atividade	- Alta	6
		- Baixa	0
Empenamento	Presença ou não de sujeira e de umidade na penugem	- Limpa e seca	10
		- Limpa e úmida	8
		- Suja e molhada	0
Olhos	Brilho e abertura das pálpebras.	- Aberto e brilhante	20
		- Aberto e não brilhante	10
		- Olhos fechados	0
Pernas	Presença de sinais de inflamação e/ou vermelhidão nas articulações dos joelhos.	- Normais	20
		- Uma perna inflamada	10
		- Duas pernas inflamadas	0
Região umbilical	Fechamento do umbigo, presença de sujeira e coloração.	- Fechado e limpo	12
		- Fechado parcialmente e esbranquiçado	6
		- Aberto e esbranquiçado	0
Cordão alantoideano	Persistência ou não do cordão alantóico, e seu comprimento.	- Ausente	12
		- Pequeno ($\leq 1\text{cm}$)	8
		- Grande ($> 1\text{cm}$)	4
Saco de vitelo	Incorporação do saco de vitelo na cavidade abdominal.	- Total	20
		- Parcial	14
		- Ausente	8

TONA et al. (2003).

2.6. Tempo de Imobilidade Tônica (TIT)

Todos os pintos eclodidos foram utilizados na determinação do TIT, cuja metodologia foi adaptada de Rocha et al. (2017). Os pintos foram colocados em decúbito dorsal sobre mesa de madeira forrada com papel pardo e imobilizados pressionando levemente a mão sobre seu tórax e patas. Imediatamente após a

indução da imobilidade, o contato físico foi removido e o cronômetro foi acionado para determinação do tempo de imobilidade. O cronômetro foi parado quando a ave ficou sobre seus pés. Para cada ave, 3 mensurações foram realizadas, e mensurada as médias, utilizando-se intervalo de 5 minutos entre elas. O papel foi trocado para cada ave, para evitar efeito do cheiro da ave anterior. A determinação dos tempos de imobilidade foi realizada por dois observadores, os quais foram previamente treinados para padronização da metodologia. Os tempos de imobilidade foram expressos em segundos e aqueles com duração acima de 6 minutos foram descartados.

2.7. Análises estatísticas

A duração da incubação e a pontuação geral de qualidade dos pintos (segundo Tona et al., 2003) foram analisadas quanto aos efeitos da fotoestimulação intermitente no nascedouro (FEI, sem e com), de acordo com modelo experimental $Y_{ij} = \mu + F_i + e_{ij}$, sendo Y as variáveis, μ a média geral e “e” o erro residual, considerando cada ovo ou pinto uma unidade experimental. Características físicas foram analisadas quanto aos efeitos da FEI no nascedouro (sem e com) e do período de nascimento dentro da janela de eclosão (PN: precoce, intermediário e tardio), seguindo fatorial 2x3, de acordo com modelo $Y_{ijk} = \mu + F_i + P_j + (F_i \times P_j)_{ij} + e_{ijk}$, sendo Y as variáveis, μ a média geral e “e” o erro residual, considerando cada pinto uma unidade experimental. Os períodos de nascimento de pintos dentro da janela de eclosão foram estabelecidos com base na duração média da incubação e seu desvio padrão (μ e $\mu \pm \sigma$). Para ambos os tratamentos, pintos precoces, intermediários e tardios corresponderam aos eclodidos antes de 487h ($< \mu - \sigma$), de 487h à 513h ($\mu - \sigma \leq X \leq \mu + \sigma$) e após 513h ($> \mu + \sigma$), respectivamente. Após verificação da presença de outliers e atendimento às pressuposições de normalidade dos erros studentizados e de uniformidade de variâncias, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa R (R Core Team 2019). Se necessário, diferenças entre médias foram analisadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Taxa de nascimentos, frequência de problemas físicos e frequência de pintos qualidade excelente e muito boa foram analisados pelo teste Qui-quadrado (X^2) de Pearson (Pearson, 1900) para duas amostras, usando o Programa R (R Core Team

2019). Diferenças significativas foram analisadas pelo procedimento Pair Wising, considerando $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Duração da incubação e eclodibilidade

Não ocorreu diferença na duração média da incubação dos ovos Sem-FEI e Com-FEI ($500\text{h}9\text{min} \pm 13\text{h}18\text{min}$ e $499\text{h}57\text{min} \pm 12\text{h}25\text{min}$, $P:0,9303$, respectivamente). Ausência de efeitos da FEI também ocorreu para eclodibilidade (Sem-FEI: 79,07% e Com-FEI: 77,38%, $X^2: 0,06$, $P:0,7948$).

3.2. Janela de Eclosão e Dinâmica de Nascimento

Houve grande similaridade entre as dinâmicas de nascimentos de pintos de ovos expostos e de ovos não expostos a FEI no nascedouro (Figura 3). Entretanto, os nascimentos dos pintos do tratamento Sem-FEI ocorreram de 467h45min à 527h15min de incubação, enquanto que os nascimentos dos pintos do tratamento Com-FEI ocorreram de 475h45min à 527h15min de incubação. Ou seja, os pintos do tratamento Sem-FEI começaram a nascer 8 horas antes dos pintos do tratamento Com-FEI, resultando em janelas de eclosão com 59,5h e 51,5h de duração, respectivamente (Figura 3 A). Sem ou com FEI no nascedouro, as curvas de nascimentos seguiram uma distribuição simétrica, com maior frequência de nascimentos de pintos intermediários do que de nascimentos de pintos precoces e tardios em ambos os tratamentos (Figura 3 A e B). Não ocorrendo diferenças nas frequências de nascimentos de pintos precoces (Sem-FEI:14,71% e Com-FEI:18,46%, $X^2:0,18$, $P:0,6698$), intermediários (Sem-FEI:69,12% e Com-FEI:67,69%, $X^2:0,09$, $P:0,7532$) e tardios (Sem-FEI:16,18% e Com-FEI:13,85%, $X^2:0,20$, $P:0,6547$) entre os tratamentos ($P > 0,05$). A curva cumulativa de nascimentos foi muito similar para ambos os tratamentos, ocorrendo momentos alternados de pequenas altas ou baixas frequências de nascimentos entre os mesmos (Figura 3C). Nos dois tratamentos, a maioria dos nascimentos ocorreu entre 485h e 512h de incubação (Sem-FEI:72% e Com-FEI:77%), 50% de nascimentos foi

atingido com cerca de 500h de incubação e 75% de nascimentos foi obtido 9h depois com 509h de incubação.

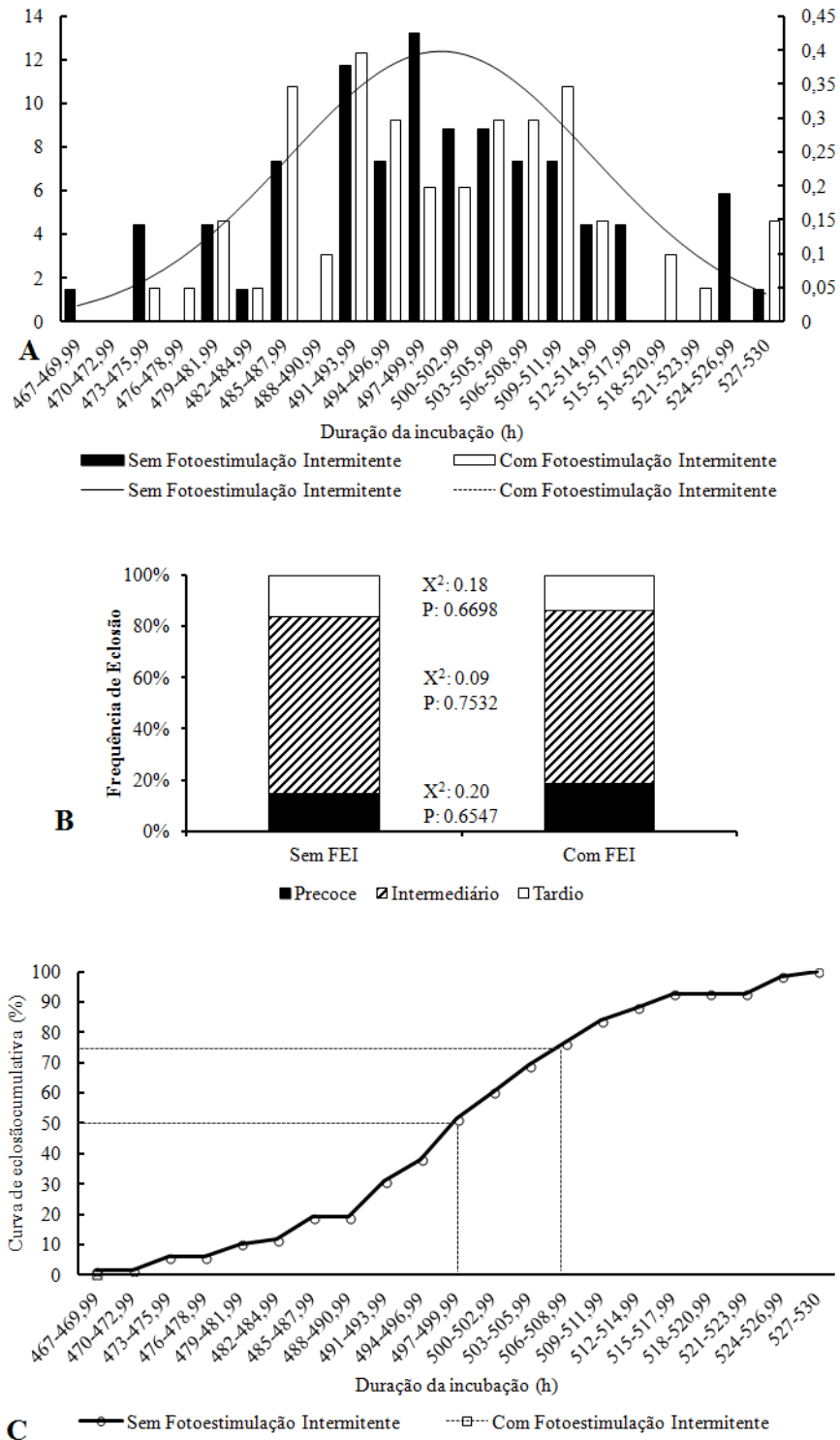


Figura 3 - Histograma e curva de Gauss da frequência de nascimentos à cada 3 horas (A), frequência de nascimentos precoces, intermediários e tardios [eclodidos antes de 487h ($<\mu-\sigma$), de 487h à 513h ($\mu-\sigma \leq X \leq \mu+\sigma$) e após 513h ($>\mu+\sigma$),

respectivamente] e frequência relativa acumulada de nascimentos à cada 3 horas (B), ao longo da janela de eclosão de pintos de ovos incubados sem fotoestimulação intermitente (0L:24E) e com fotoestimulação intermitente (1min de luz seguido de 4min de escuro: 1100 Lux, das 06:30h às 18:30h, 12Li:12D) a partir do 18º dia (no nascedouro).

3.3. Qualidade dos pintos

Não ocorreram diferenças na pontuação média de qualidade recebida pelos pintos pela metodologia de Tona (Tona et al, 2003) entre os tratamentos Sem-FEI e Com-FEI e entre os períodos de nascimento, nem houve interação entre tratamentos e períodos de nascimento para essa variável ($P>0,05$) (Tabela 2). A pontuação de qualidade dos pintos dos tratamentos Sem-FEI e Com-FEI no nascedouro variou de 92 à 94 pontos, o que os classificou como pintos de muito boa qualidade.

Tabela 2. Pontuação de qualidade física dos pintos de corte, de acordo com os tratamentos no nascedouro e com o período de nascimento.

Tratamentos		Pontuação de qualidade ⁶
Fotoestimulação Intermitente (FEI)	Sem-FEI ¹	93,55 ± 4,83
	Com-FEI ²	93,14 ± 5,92
Período de nascimento (PN)	Precoce ³	92,47 ± 5,60
	Intermediário ⁴	93,63 ± 5,51
	Tardio ⁵	92,52 ± 3,87
Probabilidades		
FEI		0,8581
PN		0,6756
FEI x PN		0,0809
CV (%)		5,85

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h; 12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ^{3,4,5} Pintos eclodidos antes de 487h, de 487h à 513h ($\mu-\sigma \leq X \leq \mu+\sigma$) e após 513h ($>\mu+\sigma$). ⁶ Pontuação de qualidade física obtida de acordo com Tona et al. (2003).

Como mostrado na Tabela 3, não ocorreram diferenças nas frequências totais de nascimentos e nas frequências de nascimentos de pintos precoces, intermediários e tardios com muito boa e/ou excelente qualidade entre os tratamentos Sem-FEI e Com-FEI ($P>0,05$). Com ou sem FEI do nascedouro, a maioria dos pintos apresentaram muito boa qualidade.

Tabela 3. Frequência (%) total de nascimentos e frequência de nascimentos de pintos precoces, intermediários e tardios com excelente e/ou muito boa qualidade, sem e com fotoestimulação no nascedouro.

Tratamentos	Qualidade dos Pintos ⁶		
	Excelente	Muito boa	Muito boa +Excelente
Total			
Sem-FEI ¹	23,53	76,47	100,00
Com-FEI ²	28,57	71,43	100,00
X ²	0,15	0,21	0,04
Probabilidades	0,6949	0,6419	0,8415
Precoce ³			
Sem-FEI ¹	2,04	10,20	12,24
Com-FEI ²	4,17	10,42	14,58
X ²	0,33	0,00	0,07
Probabilidades	0,5737	1,0000	0,7815
Intermediário ⁴			
Sem-FEI ¹	20,41	53,06	73,47
Com-FEI ²	22,92	54,17	77,08
X ²	0,04	0,00	0,01
Probabilidades	0,8273	1,0000	0,9068
Tardio ⁵			
Sem-FEI ¹	2,04	12,24	14,29
Com-FEI ²	2,08	6,25	8,33
X ²	0,00	1,00	0,81
Probabilidades	1,0000	0,3173	0,3657

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação ($P \leq 0,05$). ^{3,4,5} Pintos eclodidos antes de 487h, de 487h à 513h ($\mu - \sigma \leq X \leq \mu + \sigma$) e após 513h ($> \mu + \sigma$). ⁶ Determinada em relação à pontuação de qualidade física, obtida de acordo com Tona et al. (2003).

As frequências totais de problemas físicos e as frequências de ocorrência de cada tipo de problema físico (empenamento, olhos, umbigo, cordão alantóico e saco de vitelo) também não diferiram entre os tratamentos Sem-FEI e Com-FEI ($P > 0,05$) (Tabela 4). Com ou sem FEI no nascedouro, problemas no fechamento da região umbilical e persistência do cordão umbilical foram registrados com maior frequência.

Problemas de olhos e pernas não foram registrados em nenhum dos dois tratamentos.

Tabela 4. Frequências (%) totais de pintos com problemas físicos e frequências de pintos com cada problema físico, sem e com fotoestimulação no nascedouro.

Tratamentos	Total	Empenamento	Umbigo	Alantoide	Saco de vitelo
Sem-FEI ¹	69,23	5,77	40,38	57,69	3,85
Com-FEI ²	66,00	6,00	40,00	56,00	6,00
X ²	0,13	0,00	0,02	0,06	0,20
Probabilidades	0,7180	1,0000	0,8759	0,7928	0,6547

¹Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ²Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação ($P \leq 0,05$).

Não ocorreram diferenças nas frequências dos diferentes problemas físicos registradas em pintos precoces, intermediários e tardios entre os tratamentos Sem-FEI e Com-FEI ($P > 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Frequências (%) de problemas físicos em pintos precoces, intermediários e tardios nos tratamentos com e sem fotoestimulação no nascedouro.

Tratamentos	Total	Empenamento	Umbigo	Alantoide	Saco de vitelo
Precoce ³					
Sem-FEI ¹	10,20	0,00	10,20	8,16	0,00
Com-FEI ²	8,33	0,00	6,25	6,25	0,00
X ²	0,11	0,00	0,50	0,14	0,00
Probabilidades	0,7389	-	0,4795	0,7055	
Intermediário ⁴					
Sem-FEI ¹	46,94	6,12	24,49	40,82	0,00
Com-FEI ²	54,17	6,25	31,25	50,00	6,25
X ²	0,18	0,00	0,33	0,36	3,00
Probabilidades	0,6682	1,0000	0,5637	0,5065	0,0832
Tardio ⁵					
Sem-FEI ¹	10,20	0,00	6,12	6,12	4,08
Com-FEI ²	2,08	0,00	2,08	0,00	0,00
X ²	2,66	0,00	1,00	3,00	2,00
Probabilidades	0,1025	-	0,3173	0,0832	0,1573

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação ^{3,4,5} Pintos eclodidos antes de 487h, de 487h à 513h ($\mu - \sigma \leq X \leq \mu + \sigma$) e após 513h ($> \mu + \sigma$). ($P \leq 0,05$).

3.4. Peso corporal e dimensões físicas dos pintos

Não foram observados efeitos da fotoestimulação intermitente e dos períodos de nascimento e nem interação significativa entre esses 2 fatores sobre o peso corporal, a envergadura de asa e o comprimento de pernas dos pintos. Todavia, ocorrem efeitos do período de nascimento sobre os comprimentos bico-cauda e bico-dedo médio, os quais foram maiores em pintos precoces do que em pintos intermediários e tardios, os quais não diferiram ($P \leq 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6. Peso corporal e dimensões físicas dos pintos, de acordo com os tratamentos no nascedouro e os períodos de nascimento.

Tratamentos	PC (g)	CBi-Ca (cm)	CBi-DM (cm)	EA (cm)	CP (cm)
Fotoestimulação Intermitente (FPI)					
Sem-FEI ¹	50,0±2,4	11,9±0,4	18,3±0,5	11,6±0,5	5,0±0,3
Com-FEI ²	50,3±2,3	12,0±0,5	18,3±0,6	11,5±0,6	5,0±0,3
Períodos de Eclosão (PE)					
Precoce ³	50,5 ± 2,4	12,3±0,4a	18,8± 0,4a	11,8±0,4	5,2±0,2
Intermediário ⁴	50,2 ± 2,6	11,9±0,5b	18,3±0,5b	11,5±0,6	5,0±0,3
Tardio ⁵	48,0 ± 1,8	11,6 0,6b	18,3± 0,9b	11,4±0,3	5,1± 0,2
Probabilidades					
FEI	0,5613	0,6934	0,9786	0,9510	0,4901
PE	0,1197	0,0065	0,0008	0,2627	0,0751
FEI x PE	0,8096	0,2901	0,0832	0,7179	0,2155
CV (%)	4,33	4,01	2,86	4,74	5,41

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ^{3,4,5} Pintos eclodidos antes de 487h, de 487h à 513h ($\mu - \sigma \leq X \leq \mu + \sigma$) e após 513h ($> \mu + \sigma$). CBi-Ca: comprimentos bico-cauda. CBi-DM: comprimento bico-

dedo médio. CP: comprimento de perna. EA: envergadura de asas. PC: peso corporal. ($P \leq 0,05$).

3.5. Tempo de Imobilidade Tônica

A maioria das aves do tratamento Sem-FEI apresentaram TIT com duração entre 11-15s, enquanto que a maioria das aves do tratamento Com-FEI mostrou TIT entre 6-15s (32% e 68%, respectivamente) (Figura 3 A). O TIT médio foi menor no tratamento Com-FEI do que no Sem-FEI ($12,53 \pm 5,38s$ e $15,46 \pm 7,64s$, respectivamente) (Figura 3B). Entretanto, não houve efeito da fotoestimulação sobre o TIT de pintos precoces, intermediários ou tardios (Figura 3C).

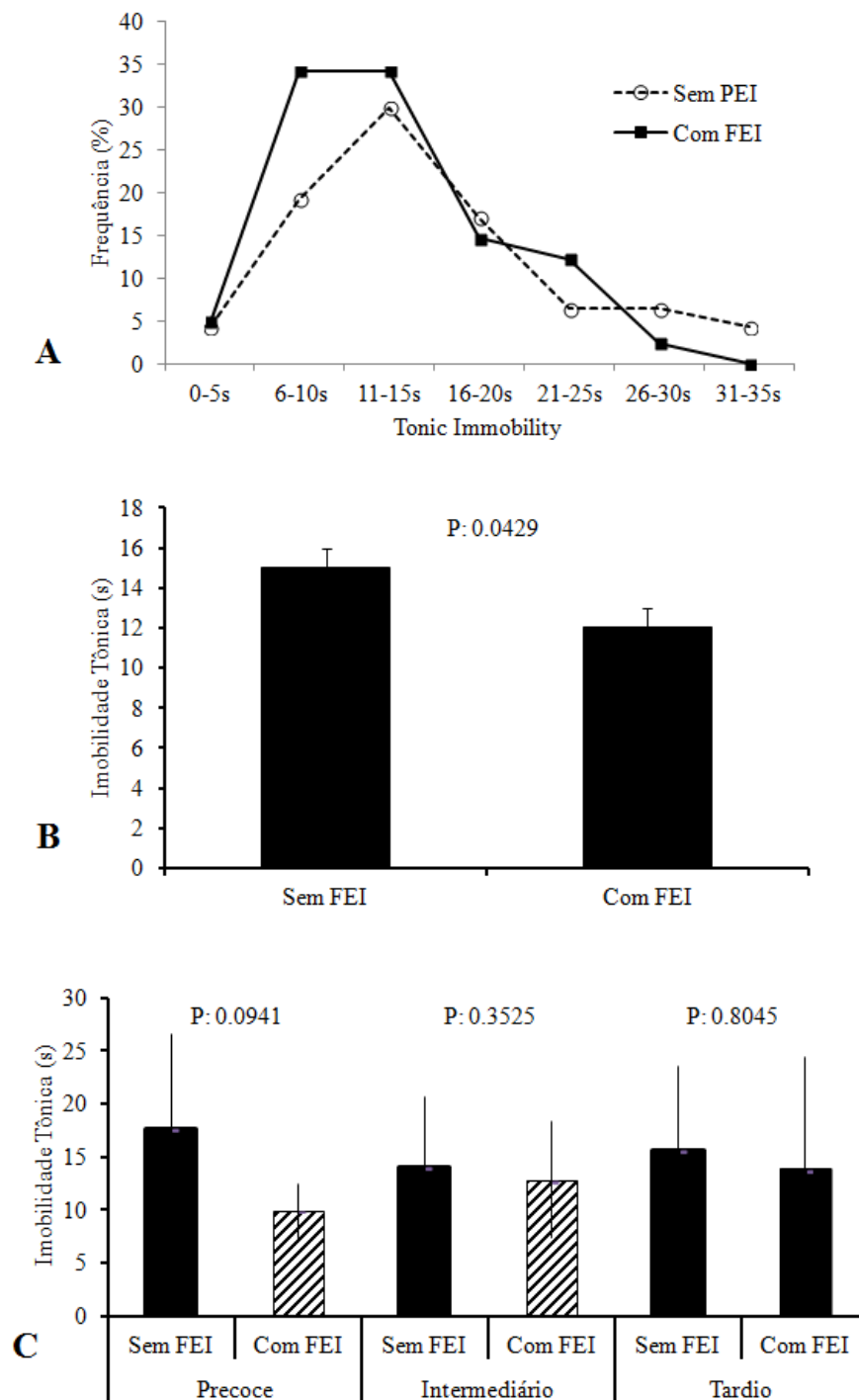


Figura 4 – Distribuição de frequência do tempo de imobilidade tônica (TIT) (A), TIT médio (B) e TIT de pintos precoces, intermediários e tardios (C), sem (0L:24E) e com fotoestimulação intermitente (FEI) no nascedouro (1min de luz seguido de 4min de escuro: 1100 Lux, das 06:30h às 18:30h, 12Li:12D) a partir do 18º dia de incubação ($P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou o potencial uso de fotoestimulação intermitente no nascedouro (a partir do 18º dia de incubação) para sincronizar a eclosão e tornar os pintos recém-eclodidos mais ativos, sem alterar a eclodibilidade e a qualidade dos pintos.

A maior ou menor atividade dos pintos foi determinada pelo tempo em decúbito dorsal, também utilizado como indicativo de resposta de estresse e medo em aves (Gallup et al., 1971; Jones, 1986; Newberry and Blair, 1993; Archer, 2018; Archer e Mench, 2014), sendo que quanto maior o tempo de imobilidade maior o medo. Por consequência, alto TI na eclosão pode resultar em baixa atividade, o que pode retardar o comportamento de ingestão de ração e água dos pintos e prejudicar sua performance inicial. No presente trabalho, pintos de ovos expostos à fotoestimulação nos últimos dias de incubação apresentaram menor TIT comparado aos pintos de ovos incubados sob total escuridão. Com base neste resultado, pintinhos nascidos de ovos expostos à fotoestimulação intermitente no nascedouro apresentam comportamento com maior atividade em comparação com pintinhos de ovo mantidos sob ausência de fotoestímulo. Isso é particularmente importante para linhagens de frangos de corte selecionadas para um crescimento maior e mais rápido, porque o início precoce do comportamento exploratório e alimentação e ingestão de água podem contribuir para a otimização do crescimento (Bigot et al., 2003; Nielsen et al., 2020).

Além disso, a criação de aves mais calmas pode resultar em redução do estresse, mortalidade e lesões dos frangos, que podem ocorrer durante o manuseio e transporte, e menos carcaças danificadas durante o processamento (Zhang et al. 2009; Cockram e Dulal, 2018; Zheng et al., 2020). Uma redução duradoura no tempo de imobilidade tônica foi observada em frangos de corte fornecendo luz contínua durante a incubação dos ovos (12h L: 12h D). Infelizmente, os efeitos do TIT mais curto resultante da exposição do ovo à fotoestimulação intermitente no nascedouro sobre o comportamento e crescimento dos pintinhos recém-nascidos e sobre a mortalidade e lesão dos frangos durante o manuseio e transporte não foram analisados no presente estudo e continuam a ser confirme.

A incubação assíncrona leva à variação na idade biológica e tempo de privação de alimento e água entre os pintinhos até que sejam alojados, o que leva à mortalidade precoce e desempenho heterogêneo e prejudicado após a eclosão (Halevy et al., 2000; Gonzales et al., 2003). Embora o acesso imediato a ração e água após eclosão possa reduzir a perda de peso do pintinho e aumentar o ganho de peso corporal em aves machos e fêmeas (Lamot et al., 2014; Powell et al., 2016), ele não diminui o crescimento heterogêneo dos pintos, resultante da diferença biológica de idade entre eles. No presente estudo, as curvas de nascimento de pintinhos a partir de ovos expostos ou não à fotoestimulação intermitente no nascedouro foram muito semelhantes. A eclodibilidade, a duração média da incubação e o tempo para atingir 50% e 70% de eclosão não foram alterados pela exposição do ovo à fotoestimulação intermitente. Esta ausência de efeitos na eclosão e na curva de nascimento mostrada por nossos resultados indica que a exposição dos ovos à fotoestimulação no nascedouro não afetou o potencial de incubação e a dinâmica dos ovos. No entanto, o fotoestímulo intermitente fez com que os pintinhos começassem a eclodir 8 horas depois, em comparação com os pintinhos de ovos incubados sem ele, resultando em uma janela de incubação oito horas mais curta. Esses resultados mostram que os pintos de corte apresentam uma eclosão mais sincronizada ao proporcionar uma fotoestimulação intermitente no nascedouro, podendo trazer benefícios à qualidade e saúde geral, além de maior uniformidade dos pintos no lote. Em cepas de galinhas poedeiras, no entanto, nenhuma mudança nos nascimentos gerais de pintinhos também foi observada, fornecendo luz a partir do dia 17 de incubação, usando um fotoestimulação contínuo de 12h de luz: 12h de escuro (Hannah et al., 2020). Nesse caso, no entanto, os autores descobriram que, quando uma fotoestimulação foi fornecida, os pintinhos Lohmann chegaram a 50% da eclosão ao mesmo tempo que os pintinhos eclodiram no escuro, enquanto os pintos Barred Plymouth demoraram 2,8h para chegar a 50% em comparação com os pintinhos nascidos sem luz.

A qualidade do pintinho é muito importante para melhorar a produção avícola e os indicadores de qualidade do manejo da incubação. Além disso, a relação entre a qualidade do pintinho de um dia e o desempenho do frango pós-nascimento torna a análise da qualidade do pintinho um fator chave para a previsão do desempenho

do frango pós-nascimento (Tona et al., 2003). Neste estudo, a qualidade do pintinho foi avaliada com base no método de pontuação de Tona, peso do pintinho de um dia, comprimento do pintinho, envergadura, comprimento da perna entre a base do tarso e a ponta do dedo médio e frequência de problemas físicos. De acordo com nossos resultados, nenhuma das variáveis de qualidade do pintinho analisadas foi influenciada pela fotoestimulação do ovo. Este resultado é importante, pois a ausência de efeitos indica que a fotoestimulação no nascedouro não afetou o potencial de incubação dos ovos ou o desenvolvimento do pintinho na incubação tardia.

A incubação assíncrona tem um impacto importante na qualidade do pintinho, contribuindo para a heterogeneidade dentro do lote de pintos de corte. Pintinhos nascidos precocemente têm maior peso corporal (Lamot et al., 2014) e são mais ativos e alertas, e menos propensos a problemas de fechamento do umbigo em comparação com aqueles nascidos no meio ou no final da janela de nascimento (Bergoug et al., 2015). No entanto, os pintinhos nascidos mais cedo podem perder sua qualidade mais alta devido ao maior tempo que permanecem sem acesso a comida e água (Careghi et al., 2005; Riccardi et al., 2011; Bergoug et al., 2013). Quanto maior a amplitude da janela de nascimento, maior o tempo de jejum ao qual os primeiros pintinhos nascidos são expostos antes de terem acesso a água e ração no alojamento, o que leva à desidratação e menos desenvolvimento intestinal (Gonzales et al., 2003; Riccardi et al., 2011; Lamot et al., 2014), tornando os pintinhos mais frágeis, o que pode levar a menos apetite e ganho de peso ou mesmo a uma maior taxa de mortalidade nas primeiras semanas (van de Ven et al., 2013; Wang et al., 2014). Como já mencionado, nossos resultados mostraram que a implementação de uma fotoestimulação intermitente no final da incubação (fase de incubação) fez com que os pintinhos comessem a eclodir mais tarde, resultando em uma janela de nascimento 8 horas mais curta. No entanto, nenhuma diferença no peso corporal, envergadura das asas e comprimento das pernas dos pintinhos ao longo da janela de nascimento foi observada entre os pintinhos ao longo da janela de nascimento com ou sem exposição do ovo à fotoestimulação. Além disso, os escores de qualidade dos pintinhos, as frequências de pintinhos com qualidade excelente e muito boa e a ocorrência de problemas físicos distintos ao longo da

janela de nascimento também não foram influenciados pela fotoestimulação. Independentemente da exposição do ovo ou não ao fotoestímulo, pintinhos nascidos mais cedo tiveram maior comprimento corporal do que os nascidos no meio ou mais tarde na janela de nascimento, sendo esta a única variável que apontou maior qualidade do primeiro em relação ao último.

5.CONCLUSÃO

Este estudo mostra que a implementação da exposição do ovo à fotoestimulação intermitente no final da incubação aumentou a atividade do pintinho e o sincronismo de incubação, sem afetar a eclodibilidade e a qualidade do pintinho. A fotoestimulação intermitente, entretanto, não alterou as características do pintinho ao longo da janela de nascimento. Os resultados apontam para o uso potencial da fotoestimulação com lâmpada LED no nascedouro como estratégia de manejo da incubação para comportamento alimentar rápido e minimizar os efeitos da eclosão assíncrona na saúde e bem-estar do pintinho.

6. AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luciano Bachmann (laboratório de Fotofísica, do Departamento de Física, FFCLRP, USP), pela análise espectroscópica das lâmpadas LED.

7. REFERÊNCIAS

Archer GS, Shivaprasad HL, Mench JA (2009) Effect of providing light during incubation on the health, productivity, and behavior of broiler chickens. **Poultry Science**, 88(1): 29-37.

Archer GS; Mench JA (2013) The effects of light stimulation during incubation on indicators of stress susceptibility in broilers. **Poultry Science**, 92(12):3103–3108.

Archer GS; Mench JA (2014) Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. **Applied Animal Behavior Science**. 152:44–51.

Archer, GS (2015) Timing of Light Exposure During Incubation to Improve Hatchability, Chick Quality and Post-Hatch Well-Being in Broiler Chickens: 21 or 18 Days. **International Journal of Poultry Science**, 14 (5): 293-299.

Archer, GS (2017) Exposing broiler eggs to green, red and white light during incubation. **Animal**, 11(7):1203–1209.

Archer GS (2018) How does red light affect layer production, fear and stress. **Poultry Science**, 98:3–8.

Bergoug, H et al. (2013) Effect of preincubation and incubation conditions on hatchability, hatch time and hatch window, and effect of post-hatch handling on chick quality at placement. **World's Poultry Science Journal**, 69: 313-334.

Bergoug, H et al. (2015) Relationships between hatch time and egg weight, embryo sex, chick quality, body weight and pododermatitis severity during broiler rearing. **European Poultry Science**, 79:1-13.

Bigot, K, Mignon-Grasteau, S, Picard, M, Tesseraud, S (2003) Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. **Poultry Science**, 82:781–788.

Careghi, C., Tona, K., Onagbesan, O., Buyse, J., Decuypere, E., Bruggeman, V (2005) 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**, 84:1314–1320

Cockram, M.S., Dulal, K.J (2018) Injury and mortality in broilers during handling and transport to slaughter. **Canadian Journal Animal Science**, 98: 416–432.

Csernus, V.J., Nagy, A. D., Faluhelyi, N (2007) Development of the rhythmic melatonin secretion in the embryonic chicken pineal gland. **General Comparative Endocrinology**, 152:148–153.

Fairchild, BD, Christensen, VL (2000) Photostimulation of turkey eggs accelerates hatching times without affecting hatchability, liver or heart growth, or glycogen content. **Poultry Science**, 79:1627–1631.

Gallup, GG, Nash, RF, Wagner, AM (1971) The tonic immobility reaction in chickens: Response characteristics and methodology. **Behavior Research Methods and Instrumentation**, 3:237-239.

Gonzales E, Kondo N, Saldanha ES, Loddy MM, Caregh, C, Decuypere E (2003) Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, 82:1250–1256.

Halev O, Geyra,A, Barak, M, Uni Z, Sklan D (2000) Early post-hatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. **Journal of Nutrition**, 130 (4): 858–864.

Halevy, O, Nadel, Y, M Barak, Rozenboim, I, Sklan, D (2003) Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poult. **Journal of Nutrition**, 133:1376–1382.

Hannah, WA, Astatkie, T, Rathgeber, BM (2020) Hatch rate of laying hen strains provided a photoperiod during incubation. **Animal**. 14(2):353–359.

Jones, BR (1986) The tonic immobility reaction of the domestic fowl: A review. **World. Poultry Science**, 42: 82–96.

Kornasio, R, Halevy, O, Kedar, O, Uni, Z (2011) Effect of in ovo feeding and its interaction with timing of first feed on glycogen reserves, muscle growth, and body weight. **Poultry Science**, 90:1467–1477.

Lamot, DM, van de Linde, IB, Molenaar, R, van der Pol CW, Wijten, PJ, Kemp, B, van den Brand, H (2014) Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science**, 93:2604–2614

Möller, W, Möller, G (1990) Structural and functional differentiation of the embryonic chick pineal organ in vivo and in vitro. A scanning electron-microscopic and radioimmunoassay study. **Cell Tissue Research**, 260:337-348.

Mrosovsky, N, Sherry, DF (1980) Animal anorexias. **Science**, 207(4433):837–842.

Narushin, VG (2005) Egg geometry calculation using the measurements of length and breadth. **Poultry Science**, 84 (3): 482-484

Newberry, RC, Blair, R (1993) Behavioral responses of broiler chickens to handling: Effects of dietary tryptophan and two lighting regimens. **Poultry Science**, 72:1237–1244.

Nielsen, BL, Juul-Madsen, HR, Steinfeldt, S, Kjaer, JB, Sørensen, P (2020) Feeding activity in groups of newly hatched broiler chicks: Effects of strain and hatching time. **Poultry Science**. 89 :1336–1344.

Noy, Y, Sklan, D (1999) Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, 78:1750–1756.

Noy, Y, Sklan, D (2001) Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. **Poultry Science**, 80:1490–1495.

Noy, Y, Uni, Z, Sklan, D (1996) Routes of yolk utilization in the newly-hatched chick. **British Poultry Science**, 37(5):987–995.

Noy, Y, Sklan, D (1998) Yolk utilisation in the newly hatched poult. **British Poultry Science**, 39(3):446-451.

Ohshima, K, Matsuo, S (1988) Cytodifferentiation of the chick pineal gland, with special reference to the photosensory and secretory elements. **Journal of Pineal Research**, 5:397-410.

Ozkan, S, Yalcin, S, Babacanoglu, E, Kozanoglu, H, Karadas, F, Uysal, S (2012a) Photoperiodic lighting (16 h of light: 8 h of dark) programs during incubation:1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. **Poultry Science**, 91(11): 2912-2921.

Ozkan, S, Yalcin, S, Babacanoglu, E, Uysal, S, Karadas, F, Kozanoglu, H (2012b) Photoperiodic lighting (16 h of light: 8 h of dark) programs during incubation: 2. Effects on early posthatching growth, blood physiology and production performance in broiler chickens in relation to posthatching lighting programs. **Poultry Science**, 91: 2922-2930.

Powell, DJ, Velleman, SG, Cowieson, AJ, Singh, M, Muir, WI (2016) Influence of chick hatch time and access to feed on broiler muscle development. **Poultry Science**. 95:1433–1448.

R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.

Riccardi, RR, Malheiros, EB, Boleli, IC (2011) Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to post-hatch fasting. **International Journal of Poultry Science**, 10(1):23–29.

Rocha, ADL, Menescal de Oliveira, L, Silva, LFS (2017) Effects of human contact and intra-specific social learning on tonic immobility in guinea pigs, *Cavia porcellus*. **Applied Animal Behaviour Science**, 191:1-4.

Rogers, LJ (1996) The development of brain and behavior in the chicken. **CAB International**, Wallingford, UK.

Rozenboim, I, Y Piestun, N Mobarkey, M Barak, A Hoyzman, and O Halevy (2004) Monochromatic light stimuli during embryogenesis enhance embryo development and posthatch growth. **Poultry Science**, 83:1413–1419.

Rozenboim, I, El Halawani, ME, Kashash, Y, Piestun, Y, Halevy, O The effect of monochromatic photostimulation on growth and development of broiler birds. **General and Comparative Endocrinology**, 190:214-219.

Schultz, TF, Kay, SA (2003) Circadian clocks in daily and seasonal control of development. **Science**, 301: 326–328.

Shafey, TM, Al-mohsen T H (2002) Embryonic Growth, Hatching Time and Hatchability Performance of Meat Breeder Eggs Incubated under Continuous Green Light. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, 15(12):1702-1707.

Starck, JM, Ricklefs, RE (1998) Avian growth and development: evolution within the altricial-precocial spectrum. **Oxford University Press**, London.

Tona, K, Malheiros, RD, Bamelis, F, Careghi, C, Moraes, VMB, Onagbesan, O, Decuypere, E, Bruggeman, V (2003b) Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. **Poultry Science**, 82:840–845.

Tong, Q, McGonnell, IM, Demmers, TGM, Roulston, N, Bergoug, H,, Romanini, CE, Verhelst, R, Guinebrière, M, Eterradosi, N, Berckmans, D, Exadaktylos, V (2018) Effect of a photoperiodic green light programme during incubation on embryo development and hatch process. **Animal**, 12(4): 765–773.

Umigi, RT, Barreto, SLDT, Donzele, JL, Reis, RDS, Sousa, MF, Leite, CDS (2007) Níveis de treonina digestível em dietas para codorna japonesa em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 36, 1868-1874.

van de Ven, LJF, van Wageningen, AV, Debonne, M, Decuypere, E, Kemp, B, van den Brand, H (2011) Hatching system and time effects on broiler physiology and posthatch growth. **Poultry Science**, 90(6):1267–1275.

van de Ven, LJF, van Wageningen, AV, Decuypere, E, Kemp, B, van den Brand, H (2013) Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poultry Science**. 92(4):1050-1061.

Wang, Y, Li, Y, Willems, E, Willemsen, H, Franssens, L, Koppenol, A, Guo, X, Tona, K, Decuypere, E, Buyse, J, Everaert, N (2014) Spread of hatch and delayed feed access affect post hatch performance of female broiler chicks up to day 5. **Animal**, 8(4):610-617.

Willemsen, H, Kamers, B, Dahlke, F, Han, H, Song, Z, Ansari Pirsaraei, Z, Tona, K, Decuypere, E, Everaert, N (2010) High-and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, 89(12): 2678–2690.

Zeman, M, Gwiner, E, Heerichová, I, Lamosová, D, Kostál, L (1999) Perinatal developemnt of circadian melatonina production in domestic chicks. **Journal of Pineal Research**, 26:28-34.

Zeman, M, Gwinner, E (1993) Ontogeny of the rhythmic melatonin production in a precocial and an altricial bird, the Japanese quail and the European starling. **Journal of Comparative Physiology**, 172:333-338.

Zhang, L, Yue, HY, Zhang, HJ, Xu, L, Wu, SG, Yan, HJ, Gong, YS, Qi, GH (2009) Transport stress in broilers: I. Blood metabolism, glycolytic potential, and meat quality. **Poultry Science**, 88:2033-2041.

Zheng, A, Lin, S, Pirzado, SA, Chen, Z, Chang, W, Cai, H, Liu, G (2020) Stress Associated with Simulated Transport, Changes Serum Biochemistry, Postmortem Muscle Metabolism, and Meat Quality of Broilers. **Animals**, 10(8):1442.

Zhong, Z, Yu, Y, Jin, S, Pan, J (2018) Effects of mixing eggs of different initial incubation time on the hatching pattern, chick embryonic development and post-hatch performance. **PeerJ**, 6:e4634.

CAPITULO 3 – CICLO CLARO-ESCURO COM FOTOESTIMULAÇÃO INTERMITENTE NO FINAL DA INCUBAÇÃO NÃO INFLUENCIA A DINÂMICA DE ECLOSÃO E A QUALIDADE DIURNA E NOTURNA DOS PINTOS

RESUMO - Esse trabalho analisou os efeitos da incubação de ovos no escuro e com ciclo claro-escuro com fotoestimulação intermitente nos últimos dias do desenvolvimento *in ovo* sobre a janela de eclosão, a dinâmica de nascimentos, a qualidade e atividade dos pintos eclodidos nos períodos diurno e noturno. Os ovos foram homogeneamente distribuídos em 2 tratamentos: sem (Sem-FEI, controle, 0C:24E) e com fotoestimulação intermitente (Com-FEI, 1100 Lux: 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h; 12Ci:12E) a partir do 18º de incubação. Não houve diferença na duração média da incubação, na eclodibilidade, no peso corporal, qualidade, comprimentos bico-cauda, bico-dedo médio e de perna, e envergadura de asas entre os pintos com nascimento diurno e noturno e nem entre os tratamentos. Sem-FEI e Com-FEI, houve dinâmica de eclosão contínua (diurna e noturna) ao longo da janela de eclosão. A janela de eclosão noturna foi mais curta do que a diurna e com as eclosões noturnas. Os resultados mostraram que fotoestimulação intermitente a partir do 18º dia não altera a dinâmica de nascimentos diurna e noturna, todavia os pintos com nascimento noturno foram maiores do que os com nascimento diurno. Embora mais estudos sejam necessários para o melhor entendimento dessa dinâmica de nascimentos diurnos ou noturnos, os resultados dão evidências iniciais de que a eclosão das aves é regulada por relógios circadianos endócrinos.

Palavras-Chaves: ciclo circadiano, fotoestimulação, período do dia, pintos de corte

CHAPTER 3 - LIGHT-DARK CYCLE WITH INTERMITTENT PHOTOSTIMULATION AT THE END OF INCUBATION DOES NOT INFLUENCE THE DYNAMICS OF ECCLUSION AND THE DAY AND NIGHT QUALITY OF THE CHICKS

ABSTRACT - This work analyzed the effects of incubation of eggs in the dark and with a light-dark cycle with intermittent photostimulation in the last days of in ovo development on the hatch window, hatch dynamics, quality and activity of hatched chicks during the day and nocturnal. The eggs were homogeneously distributed in 2 treatments: without (Without-FEI, control, 0L:24D) and with intermittent photostimulation (With-FEI, 1100 Lux: 1 minute of light followed by 4 minutes of dark, during 12 hours, from 06 :30h to 18:30h; 12Li:12D) from the 18th of incubation. There was no difference in mean incubation duration, hatchability, body weight, quality, beak-tail, beak-middle and leg lengths, and wing span between day and night chicks or between treatments. Without-FEI and With-FEI, there was continuous hatching dynamics (diurnal and nocturnal) throughout the hatching window. The nocturnal hatch window was shorter than the diurnal and with nocturnal hatches. The results showed that intermittent photostimulation from the 18th day onwards does not change the dynamics of day and night births, however, chicks with nocturnal births were larger than those with diurnal births. Although more studies are needed to better understand this dynamics of diurnal or nocturnal births, the results provide initial evidence that hatching in birds is regulated by endocrine circadian clocks.

Keywords: broiler chicks, circadian cycle, photostimulation, time of day

1. INTRODUÇÃO

No processo de incubação comercial, os ovos são incubados sob escuro contínuo durante quase toda a incubação, sendo esse período de escuro interrompido poucas vezes, por exemplo, durante o embriodiagnóstico ou no momento da transferência dos ovos das incubadoras para os nascedouros. Exposição dos ovos a ciclo claro-escuro, entretanto, induz ritmo circadiano de produção de melatonina, caracterizado por pico de produção noturno e baixa produção diurna (Binkley, 1979; Tanabe et al., 1993; Csernus et al., 1998; Lamosová et al., 1995) e aumento da produção a partir do 16º dia de incubação até a eclosão (Özkan et al., 2012), influenciando vários processos fisiológicos, incluindo o comportamento (Konturek et al., 2007).

A indução de ritmo ciclo circadiano em aves antes da eclosão (Shafey, Al-Mohsen, 2002; Hill et al., 2004) tem levado autores a analisarem os efeitos do fotoestimulação (presença, tipo de fonte de luz, cor da luz, período de fotoestimulação) durante a incubação de ovos, sobre a eclodibilidade, qualidade da ave recém-eclodida, bem como, o grau de estresse e desempenho produtivo. Archer et al. (2009), analisando diferentes períodos de luz (24C:0E, 12C:12E, 0C:24E), não encontraram efeitos da luz sobre eclodibilidade, mortalidade, crescimento, consumo de ração, taxa de conversão alimentar, escore de marcha; no entanto, eles verificaram que os olhos dos frangos de ovos incubados sob período claro:escuro (12C:12E) eram menos pesados que os das aves dos demais tratamentos. Segundo Huth e Archer (2015), fotoestimulação (12C:12E, 1º dia de incubação até a eclosão, luz LED branca) melhora a taxa de eclosão e a qualidade dos pintos de ovos de matrizes leves e pesadas, e reduz o estresse nos frangos. Archer (2017) verificou que tanto a luz branca e como a vermelha (12C:12E, 1º ao 18º dia de incubação) aumentam a eclodibilidade, diminuem o tempo de imobilidade tônica e aumentam defesa humoral de frango de corte. Archer et al. (2017) verificou que fotoestimulação de 12h (12C:12E) até o 18º dia de incubação, usando luz branca + vermelha (simultaneamente), melhora a taxa de eclosão e qualidade de pintos de linhagem de corte e de postura (Cobb, White Leghorn), bem como de patos, mas diminui o peso corporal desses últimos. Mesquita (2017), por sua vez, verificou que luz verde exerce efeito negativo sobre a eclodibilidade e desempenho de frango de corte

(Ross). Apesar dos vários dados de literatura sobre incubação e efeitos da exposição dos ovos à fotoperíodo durante incubação, não foram encontrados estudos analisando a eclosão diurna e noturna.

Assim, o presente estudo analisou se incubação dos ovos com e sem fotoestimulação no final do desenvolvimento *in ovo* (a partir do 18º) interfere com a duração da incubação, eclodibilidade, dinâmica de nascimentos e qualidade diurna e noturna em pintos de corte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Procedimentos Experimentais

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo n° 017647/18), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal.

Para esse experimento, foram usados 170 ovos férteis de matrizes Cobb com 38 Semanas de idade, provenientes de incubatório comercial (Globoaves, Itirapina – SP). Os ovos foram pesados, identificados e, posteriormente, distribuídos de forma homogênea pelo peso entre dois tratamentos. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, onde cada ovo representou uma repetição, sendo 75 repetições por tratamento. Os tratamentos foram: sem fotoestimulação intermitente (Sem-FEI) (0L:24E) ou com fotoestimulação intermitente (Com-FEI) (1100 Lux na superfície dos ovos: 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E), a partir do 18º dia de incubação. A intensidade de Lux fornecido no tratamento foi baseada na quantidade de Lux na sombra ao meio dia, mensurada utilizando luxímetro (utilizando luxímetro digital Akrom KR8332, 0-400k lux, China), simulando um ambiente de postura aberto. Fotoestimulação a partir do 18º dia foi baseada no conhecimento de que a produção de melanina aumento ao longo da última semana de incubação (Özkan et al., 2012). Os ovos foram incubados em incubadoras horizontais (Premium Ecológica IP 120, BH, MG, Brasil), com controle automático de temperatura ($37,6^{\circ}\text{C} \pm 0,09$) e giro (a cada hora até o 17º dia de incubação). Para evitar efeitos da umidade relativa do ar no desenvolvimento *in ovo*, a mesma foi mantida em 60% durante todo o período de

incubação. Até o 17º dia de incubação, todos os ovos foram incubados sob total escuridão.

Para fornecimento do fotoestimulação aos ovos, um sistema de lâmpadas LED foi instalado na parte interna da tampa das incubadoras (Tampa da incubadora com 55x45 cm, parte interna com 40x35 cm) (Figura 1). Foram utilizados 2 circuitos em série de LED por incubadora, cada qual com 5½ fileiras (2,4 cm entre fileiras) com 6 módulos LED cada (7,5x1,5x0,3cm), cada módulo com 3 lâmpadas LED (5050 BF, China). As fileiras de lâmpadas foram fixadas a 3,5 cm da superfície dos ovos, na posição entre roletes (Figura 1). Os sistemas LED foram acoplados a dois dimmers específicos para LED (DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720), alimentados por duas fontes (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China), e as fontes plugadas a um timer (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil). O sistema possibilitou controle automático de intensidade luminosa e de período de exposição a luz.

Os comprimentos de onda emitidos pelas LED utilizadas no presente estudo foram determinados por espectrometria (Prof. Luciano Bachmann, Laboratório de Fotobiofísica, do Departamento de Física, da FFCLRP, USP). Para isso, foi utilizado espectrômetro (USB2000 +, Ocean Optics, Dunedin, EUA) calibrado para medir a emissão espectral na faixa de 290-700 nm equipado COM-FEIbras ópticas e sondas de irradiância com correção de cosseno (CC-3-UV, Ocean Optics, Dunedin, EUA). A calibração do espectrômetro foi realizada em comprimento de onda e foi medido com uma fonte de calibração de mercúrio e argônio (HG-1, Ocean optics, linhas 253 e 922 nm). A Figura 2 mostra a distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs.

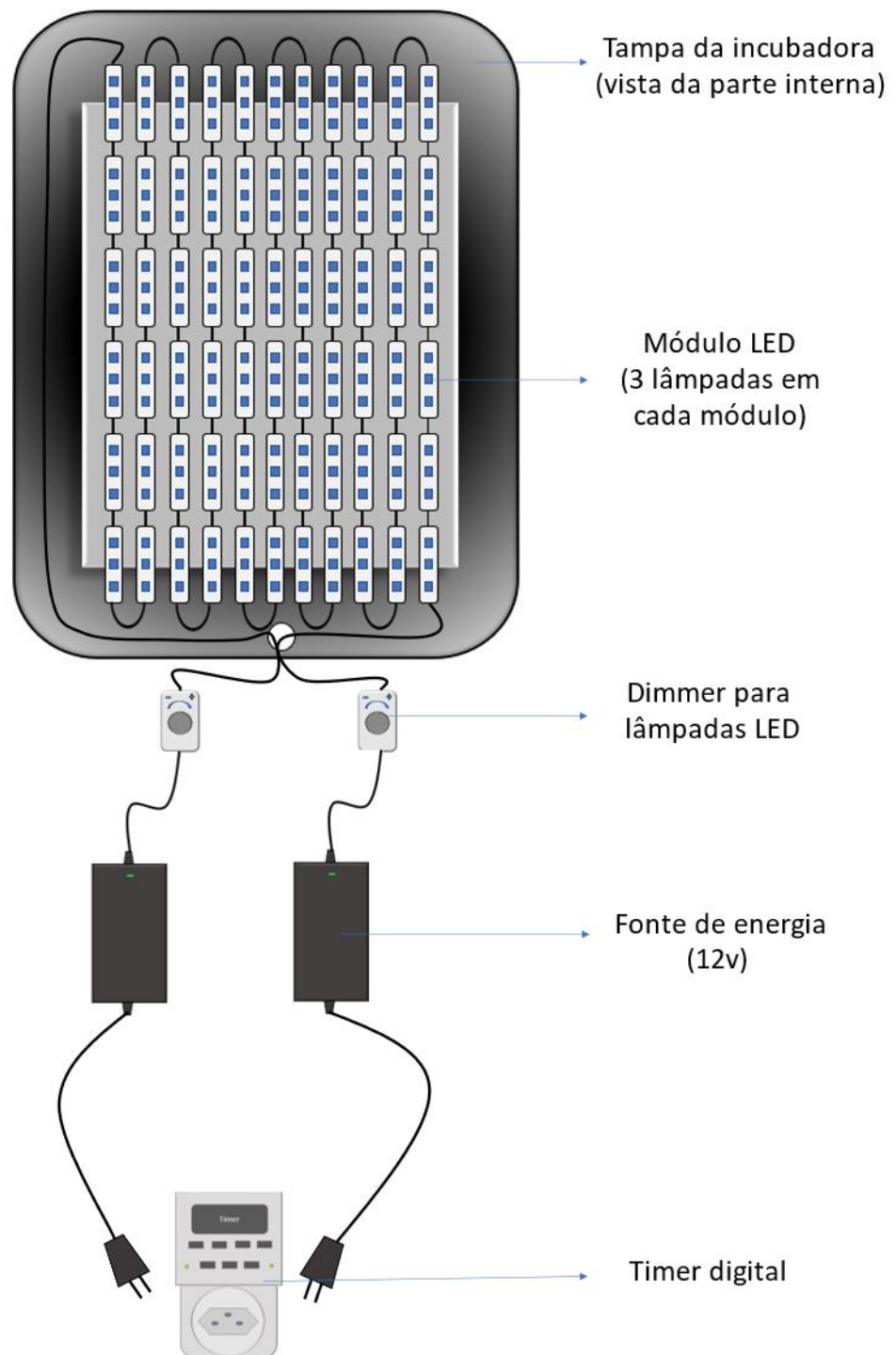


Figura 1. Representação esquemática do sistema de LED utilizadas no experimento. O sistema foi formado por dois circuitos em série de lâmpadas LED fixados na face interna da tampa das incubadoras. Cada circuito foi composto por 33 módulos LED em série, organizados em 5½ fileiras com distanciamento de 2,4cm entre fileiras, cada fileira contendo 6 módulos LED com 3 lâmpadas de cor branca em cada módulo (Modulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China). Cada circuito foi ligado a um dimmer

(específico para LED, DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720) e este ligado a uma fonte de energia 12V (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China). As duas fontes de energia foram conectadas ao mesmo timer digital (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil). Esse sistema proporcionou controle automático do ciclo claro-escuro e uniformidade de fotoestimulação no interior da incubadora.

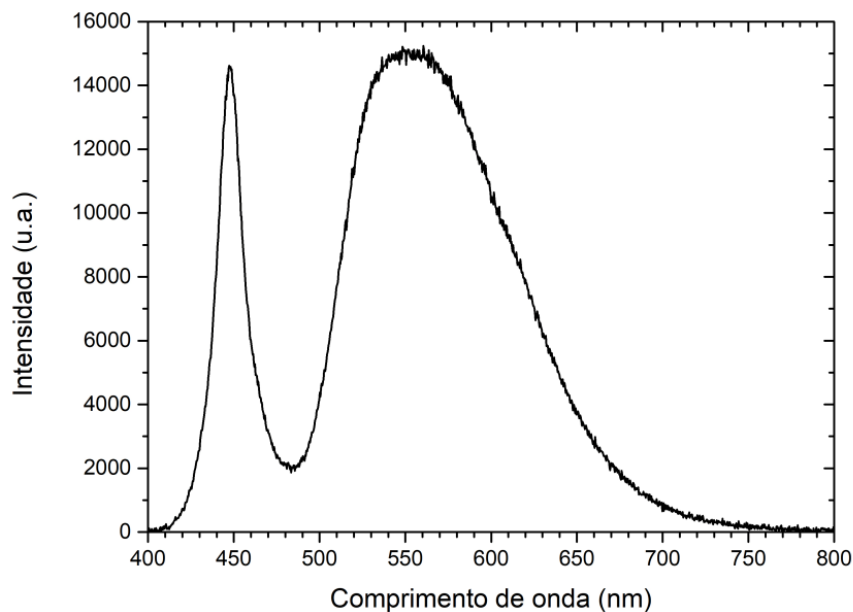


Figura 2. Distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs (Módulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China).

Para controle de efeitos da perda de massa dos ovos ocorrida antes do início da exposição ao fotoestimulação, os ovos de ambos os tratamentos foram pesados ao final do 17º dia de incubação com auxílio de balança digital e a perda de massa calculada em relação ao peso dos ovos antes da incubação. Para controle de efeitos do tamanho dos ovos e área de exposição dos ovos ao fotoestimulação, todos ovos tiveram seus diâmetros (maior e menor) aferidos antes do início da incubação, utilizando paquímetro digital (Akron, KR832, China) e os valores utilizados para o cálculo individual da área de superfície, volume e índice forma de cada ovo. Não houve diferença no peso inicial ($67,15 \pm 2,58\text{g}$ e $67,07 \pm 2,64\text{g}$, $P:0,8446$, respectivamente) e nem na perda de massa até o 17º de incubação (em gramas e

em porcentagem) dos ovos entre os tratamentos sem e com fotoestimulação intermitente ($5,66 \pm 1,01\text{g}$ e $5,93 \pm 1,14\text{g}$, $P:1,1129$; $8,44 \pm 1,43\%$ e $8,81 \pm 1,71\%$, $P:0,1212$; respectivamente), indicando ausência de efeitos resultantes de diferenças no peso e na perda de massa dos ovos nos tratamentos. A área superficial e o volume dos ovos foram calculados através das equações $A=(3,155-0,0136D+0,0155d)*Dd$ e $V=(0,6057-0,0018d)*Dd^2$, com A = área superficial (cm^2); V = volume (cm^3); D e d : diâmetro maior e diâmetro menor, do ovo (cm), respectivamente (Narushin, 2005). O índice forma foi calculado pela equação $IF=(D/d)*100$, sendo que valor mais próximo de 100 indica formato mais arredondado (Umigi et al., 2007). Também não houve diferença no volume ($70,85 \pm 3,14\text{cm}^3$ e $71,33 \pm 2,79\text{cm}^3$, $P:0,3605$, respectivamente), na área de superfície ($81,25 \pm 2,60\text{cm}^2$ e $81,66 \pm 2,39\text{cm}^2$, $P:0,3646$, respectivamente) e no índice forma ($76,73 \pm 2,76$ e $76,62 \pm 2,72$, $P:0,8206$, respectivamente) dos ovos entre os tratamentos (sem e com fotoestimulação intermitente). Isso mostra uniformidade na distribuição dos ovos entre tratamentos.

2.2. Duração do desenvolvimento in ovo e janela de eclosão

Para determinar a duração do desenvolvimento in ovo (h), a partir do 19º dia de incubação, os ovos foram monitorados individualmente por observação visual (através da tampa de acrílico da incubadora), determinando dia e hora de cada eclosão. Para evitar influência de luminosidade externa sobre o nascimento dos pintos, foi utilizada uma lanterna com luz vermelha (cor de baixa percepção espectral para aves; Prescott e Wathes, 1999). A eclodibilidade total foi calculada em relação ao número total de ovos férteis incubados, enquanto que as eclodibilidades diurna (06:30h as 18:30h) e noturna (18:30h as 06:30h) foram calculadas em relação ao total de ovos eclodidos.

2.3. Dinâmica de nascimentos

Para ambos os tratamentos, foram determinadas a duração da janela de eclosão (h), bem como as frequências de nascimentos a cada 3h ao longo da janela de eclosão (calculadas em % em relação ao total de ovos férteis incubados) (Willemsen et al., 2010; Wang et al., 2014). Além disso, a curva de frequência

cumulativa de nascimentos (%) ao longo da janela de eclosão também foi determinada para cada tratamento (Zhong et al., 2018). A incubação foi encerrada com 528h, a partir da qual não ocorreram mais nascimentos.

2.4. Peso e tamanho corporais dos pintos

O peso corporal dos pintos foi aferido após secagem total da penugem (2h após eclosão), utilizando balança digital de precisão (Marte, precisão: 0,001). As mensurações corporais dos pintos (comprimentos bico-cauda, bico-dedo médio e de perna, e a envergadura da asa) foram realizadas com auxílio de régua milimetrada e os resultados expressos em centímetros.

2.5. Qualidade dos pintos

A qualidade dos pintos foi determinada de acordo com metodologia de Tona et al. (2003), na qual os pintos recebem pontuação individual para cada característica física (atividade, olhos, penugem, pernas, umbigo, cordão alantóico e saco de vitelo). A soma das pontuações recebidas concede uma pontuação total para cada pinto (Quadro 1), sendo a pontuação mínima de 12 pontos e a máxima de 100 pontos. Com base na pontuação total recebida, os pintos foram classificados individualmente como apresentando qualidade excelente (100 pontos), muito boa (81-100 pontos), boa (61-80 pontos), regular (41-60 pontos), ruim (21-40 pontos) e muito ruim (12-20 pontos). As porcentagens de pintos em cada classe de qualidade e as porcentagens de pintos apresentando cada tipo de problema físico foram calculadas para cada tratamento.

Quadro 1. Parâmetros para determinação da qualidade de pintos.

Parâmetros	Avaliação	Características	Scores
Atividade	Tempo em que o pintinho permanece em decúbito dorsal: < 30 segundos: alta atividade. > 30 segundos: baixa atividade	- Alta - Baixa	6 0
Empenamento	Presença ou não de sujeira e de umidade na penugem:	- Limpa e seca - Limpa e úmida - Suja e molhada	10 8 0

Olhos	Brilho e abertura das pálpebras.	- Aberto e brilhante - Aberto e não brilhante - Olhos fechados	20 10 0
Pernas	Presença de sinais de inflamação e/ou vermelhidão nas articulações dos joelhos.	- Normais - Uma perna inflamada - Duas pernas inflamadas	20 10 0
Região umbilical	Fechamento do umbigo, presença de sujeira e coloração.	- Fechado e limpo - Fechado parcialmente e esbranquiçado - Aberto e esbranquiçado	12 6 0
Cordão alantoideano	Persistência ou não do cordão alantóico, e seu comprimento.	- Ausente - Pequeno ($\leq 1\text{cm}$) - Grande ($> 1\text{cm}$)	12 8 4
Saco de vitelo	Incorporação do saco de vitelo na cavidade abdominal.	- Total - Parcial - Ausente	20 14 8

Adaptado de TONA et al. (2003).

2.6. Análises estatísticas

Características físicas foram analisadas quanto aos efeitos do período do dia dentro da janela de eclosão, seguindo fatorial 2x2, de acordo com modelo $Y_{ijk} = \mu + FE_i + PN_j + (FE \times PN)_{ij} + e_{ijk}$, sendo Y as variáveis, μ a média geral e “e” o erro residual, considerando cada pinto uma unidade experimental.

Taxa de nascimentos, frequência de problemas físicos e frequência de pintos com qualidade excelente e muito boa, pontuação de qualidades e eclodibilidade foram analisados pelo teste Qui-quadrado (X^2) de Pearson (Pearson, 1900) para duas amostras pelo Programa R (R Core Team 2019). Diferenças significativas foram analisadas pelo procedimento Pair Wising, considerando $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Duração do desenvolvimento in ovo

Como mostrado na Figura 2, a duração da incubação não ocorre foi influenciada pelos tratamentos ou períodos do dia, e nem ocorreu interação entre os tratamentos e os períodos do dia sobre esta variável ($P > 0,05$)

Tabela 2. Duração da incubação, de acordo com os tratamentos e período do dia.

Tratamentos		Duração da incubação (h)
Fotoestimulação (FE)	Sem-FEI ¹	500,15 ± 14,33
	Com-FEI ²	500,00 ± 12,02
Período do dia (PD)	Diurno ³	500,70 ± 13,22
	Noturno ⁴	499,30 ± 11,75
Probabilidades		
FE		0,9306
PD		0,5372
FE x PD		0,4830
CV (%)		2,58

¹Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ²Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ³18h:30min às 6h:30min. ⁴6h30min às 18h30min. (X±SD, P≤0,05).

3.2. Eclodibilidade

A eclodibilidade diurna foi similar à eclodibilidade noturna sem (57,35% e 42,64%, p:0,2253) e com fotoestimulação intermitente (44,62% e 55,38%, P: 0,3853).

3.3. Dinâmica de nascimentos dentro da janela de eclosão

O período de nascimento dos pintos no tratamento Sem-FEI ocorreu de 467 a 527h, enquanto que no tratamento Com-FEI ele ocorreu de 475 à 527h, o que corresponde à janelas de eclosão de 59h e 51h para o primeiro e para o último, respectivamente. Como mostrado na Figura 3, nos dois tratamentos, os nascimentos diurnos e noturnos ocorreram de forma contínua ao longo da janela de eclosão. Os nascimentos diurnos foram concentrados em 3 intervalos de tempo e os nascimentos noturnos em 2 intervalos. No tratamento Sem-FEI, os nascimentos diurnos ocorreram de 467 à 476h (10,27%), de 491 à 506h (69,23%) e de 515 à 530h (20,51%), enquanto no tratamentos Com-FEI eles ocorreram de 473 à 479h (6,90%), de 491 à 506h (72,41%) e de 518 à 530h (20,69%), sendo que os nascimentos se concentraram de forma mais intensa de 491 à 506h, totalizando aproximadamente 70% dos nascimentos diurnos de ambos os tratamentos. Os nascimentos no período noturno com e sem fotoestimulação ocorreram nos mesmos

intervalos de tempo dentro da janela de eclosão: de 479 a 494h e de 503 a 515 h de incubação, sendo de 37,93% e 62,07% para o tratamento Sem-FEI, e de 47,22% e 52,78% para Com-FEI.

Apesar da diferença de 6 horas no início da janela de eclosão entre os tratamentos Sem-FEI e Com-FEI, a Figura 4 mostra similaridade entre as curvas de frequências cumulativas de nascimentos diurnos, bem como as de nascimentos noturnos entre os dois tratamentos. Com-FEI ou Sem-FEI, houve um período de intensa frequência de nascimentos no período diurno de 488 à 506h de incubação, durante o qual ocorreu aproximadamente 70% dos nascimentos. Diferentemente disso, as curvas de frequências cumulativas de nascimentos no período noturno nesses dois tratamentos indicam dois períodos de intensa frequência de nascimentos ocorrendo de 482 à 491h e de 500 à 515h. Nesses dois períodos, as frequências cumulativa de nascimentos noturnos ficaram acima das frequências cumulativa de nascimentos no período diurno.

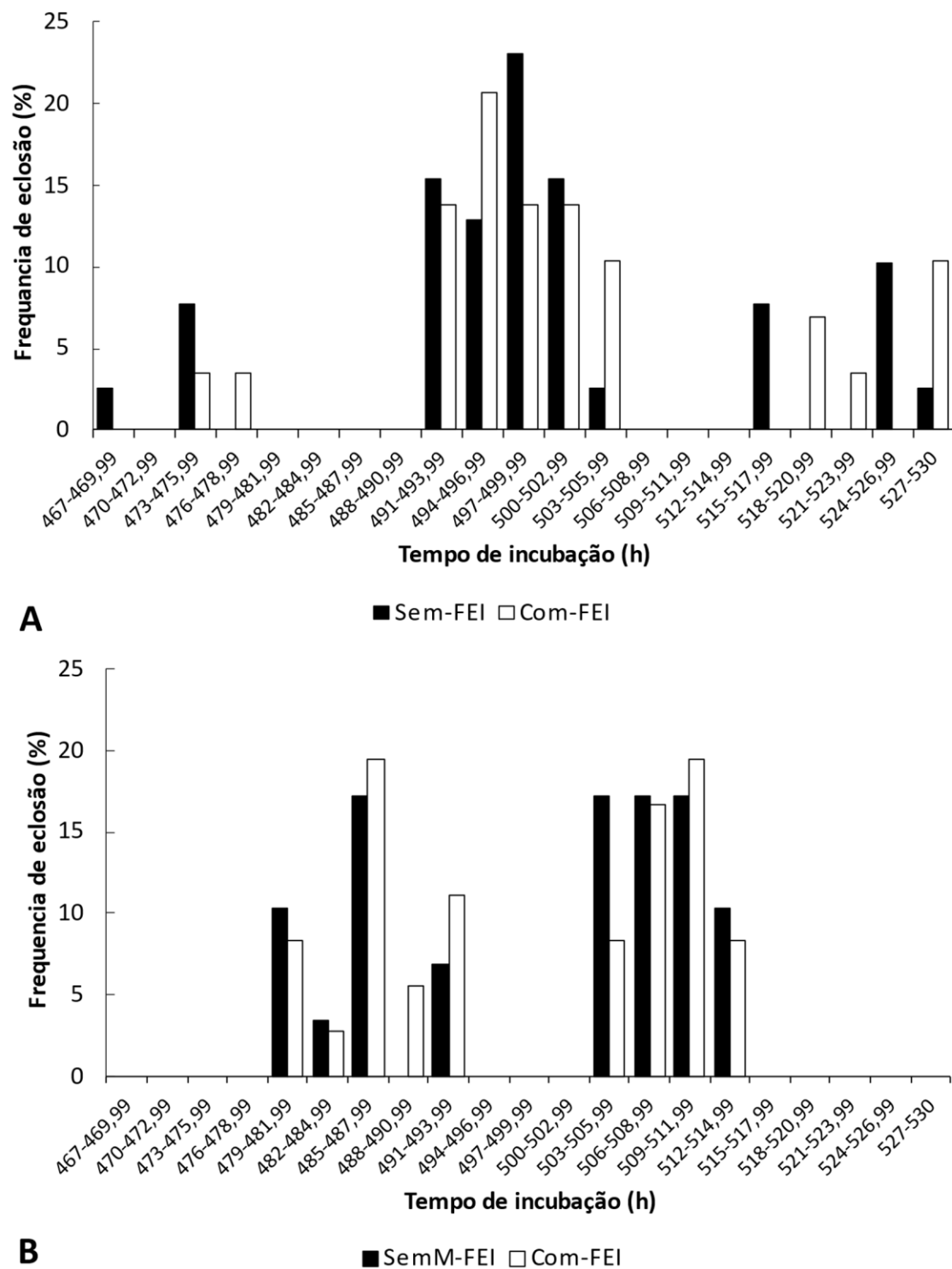


Figura 3 – Histograma das frequências de nascimentos diurna (A) e noturna (B) a cada 3 horas ao longo da janela de eclosão, de pintos eclodidos de ovos incubados sem fotoestimulação intermitente (Sem-FEI, 0L:24E) e com fotoestimulação intermitente (Com-FEI: 1min de luz seguido de 4min de escuro: 1100 lux, das 06:30h às 18:30h, 12Li:12E) a partir do 18º dia (no nascedouro).

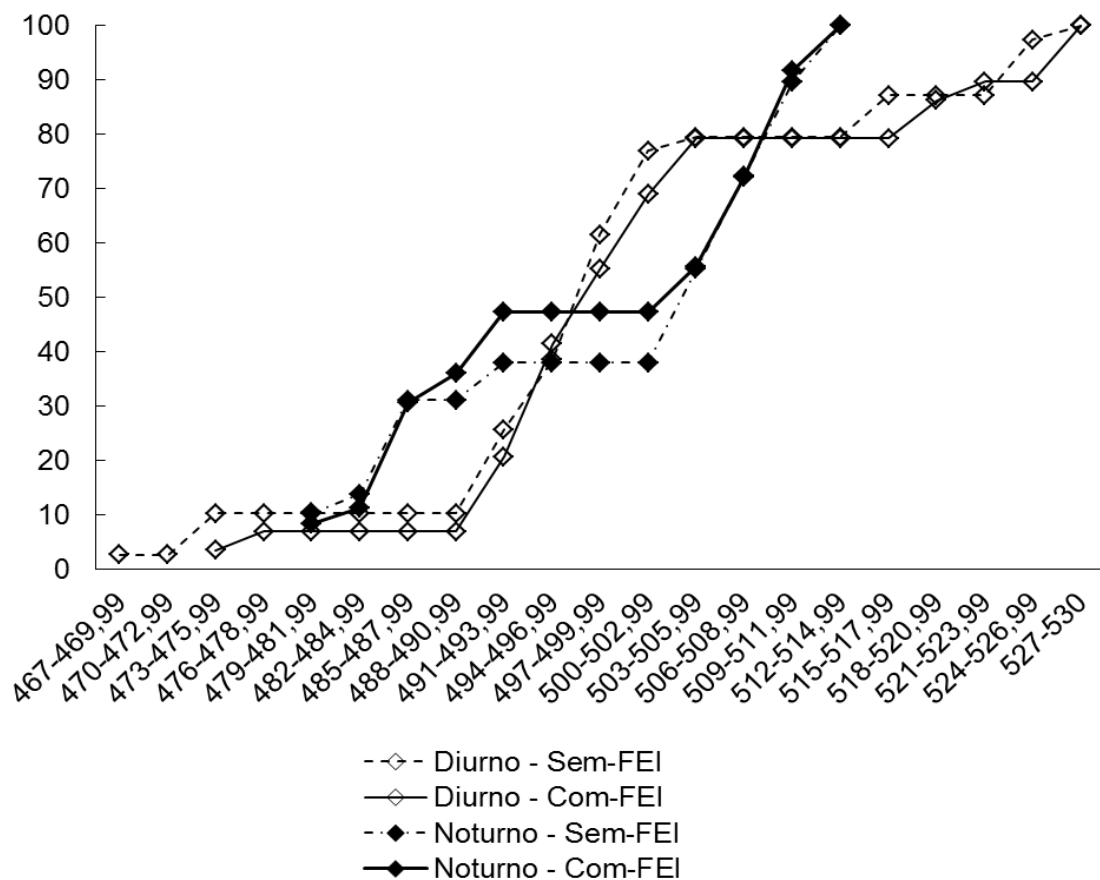


Figura 4 – Frequência cumulativa de nascimentos diurna e noturna à cada 3 horas ao longo da janela de eclosão de pintos de ovos incubados sem fotoestimulação intermitente (0L:24E) e com fotoestimulação intermitente (1min de luz seguido de 4min de escuro: 1100 Lux, das 06:30h às 18:30h, 12L:12D) a partir do 18º dia (no nascedouro).

3.4. Qualidade dos pintos

Não ocorreram efeitos principais dos tratamentos (sem e com fotoestimulação intermitente) e dos períodos do dia (diurno e noturno), e nem interação entre os ambos sobre a pontuação de qualidade total dos pintos ($P > 0.05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Pontuação média de qualidade dos pintos de ovos incubados sem e com fotoestimulação intermitente e nascidos no período diurno e noturno.

Tratamentos		Pontuação de qualidade ⁵
Fotoestimulação (FE)	Sem-FEI ¹	93,55 ± 4,83
	Com-FEI ²	93,14 ± 5,92
Período do dia (PD)	Diurno ³	92,89 ± 5,08
	Noturno ⁴	93,83 ± 6,05
Probabilidades		
FE		0,7095
PD		0,3845
FE x PD		0,6941
CV (%)		5,82

¹Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ²Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ³18h:30min às 6h:30min. ⁴6h30min às 18h30min. ⁵Pontuação de qualidade obtida de acordo com Tona et al. (2003). (X±SD, P≤0,05).

A Tabela 4 mostra que as frequências de nascimentos diurnos e noturnos de pintos com excelente, muito boa e com ambas as qualidades somadas (excelente + muito boa) foram similares nos tratamentos sem e com fotoestimulação intermitente (P>0,05).

Tabela 4. Frequência de nascimentos (%) total, diurna e noturna de pintos com excelente, muito boa e com ambas as qualidades (excelente + muito boa), em ovos incubados sem e com fotoestimulação intermitente.

Tratamentos	Excelente ⁵	Muito Boa ⁶	Excelente + Muito boa
Total			
Sem-FEI ¹	23,53	76,47	100,00
Com-FEI ²	28,57	71,43	100,00
X ²	0,15	0,21	0,04
Probabilidades	0,6949	0,6419	0,8415

Diurno ³			
Sem-FEI ¹	9,80	45,10	54,90
Com-FEI ²	8,16	38,78	46,94
X ²	0,11	0,38	0,69
Probabilidades	0,7389	0,5371	0,4054
Noturno ⁴			
Sem-FEI ¹	13,73	31,37	45,10
Com-FEI ²	20,41	32,65	53,06
X ²	0,52	0,00	0,18
Probabilidades	0,4699	1,0000	0,6682

¹Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ²Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ³18h:30min às 6h:30min. ⁴6h30min às 18h30min. ^{5,6}Classificação de qualidade determinada de acordo com Tona et al. (2003). ($P \leq 0,05$).

A Tabela 5 mostra as frequências de nascimentos de pintos com problemas físicos e as frequências com que cada um dos problemas físicos ocorreu nos tratamentos, considerando os períodos diurno e noturno separadamente. Não houve efeitos dos tratamentos sobre as frequências totais de nascimentos de pintos com problemas físicos (problemas de empenamento + umbigo + cordão alantóico + saco de vitelo). Problemas de olhos e pernas não foram registrados em nenhum dos tratamentos. Também não ocorreram diferenças entre os tratamentos quanto às frequências de nascimentos de pintos com problemas físicos no período diurno ou noturno ($P > 0,05$). Pintos nascidos no período noturno não apresentaram problemas de empenamento. Além disso, pintos do tratamento Sem-FEI nascidos no período noturno também não apresentaram problemas na incorporação do saco de vitelo.

Tabela 5. Frequência total (%) de nascimentos de pintos com problemas físicos e frequência de nascimentos de pintos com cada tipo de problema físico nos períodos diurno e noturno, de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	Total	Empenamento	Umbigo	Alantoide	Saco de vitelo
Diurno³					
Sem-FEI ¹	60,00	8,57	28,57	51,43	5,71
Com-FEI ²	56,25	9,38	21,88	43,75	3,13
X ²	0,5	0,00	0,52	0,50	0,33
Probabilidade	0,4795	1,0000	0,4669	0,4795	0,5637
Noturno⁴					
Sem-FEI ¹	40,00	0,00	31,43	31,43	0,00
Com-FEI ²	43,75	0,00	40,63	40,63	6,15
X ²	0,16	-	0,16	0,16	2,00
Probabilidade	0,6831	-	0,6831	0,6831	0,1573

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ³ 06h:30min às 18h:30min. ⁴ 18h30min às 06h30min. (P≤0,05).

3.5. Dimensões Corporais dos pintos

Não houve interação entre tratamentos e períodos do dia e nem efeito principal dos tratamentos para peso corporal, comprimento bico-cauda, comprimento bico-dedo médio, comprimento de perna e envergadura de asa (P>0,05). Entretanto, ocorreram efeitos dos períodos do dia sobre os comprimentos bico-cauda e de perna e sobre a envergadura de asa, os quais foram maiores nos pintos eclodidos no período diurno do que no noturno (P<0,05) (Tabela 6).

Tabela 6. Peso corporal, envergadura de asa e comprimentos bico-cauda, bico-dedo médio e de perna dos pintos, de acordo com os tratamentos e com os períodos do dia.

Tratamentos	Peso corporal (g)	Bico-cauda (cm)	Bico-dedo médio (cm)	Envergadura de asa (cm)	Perna (cm)
Fotoestimulação (FE)					
Sem-FEI ¹	50,00 ± 2,38	11,95 ± 0,45	18,34 ± 0,51	11,56 ± 0,52	5,05 ± 0,26
Com-FEI ²	50,27 ± 2,35	11,99 ± 0,53	18,35 ± 0,61	11,55 ± 0,56	5,01 ± 0,29
Período do dia (PD)					
Diurno ³	50,17 ± 2,27	12,15 ± 0,45 a	18,40 ± 0,51	11,70 ± 0,49 a	5,12 ± 0,25 a
Noturno ⁴	50,09 ± 2,20	11,76 ± 0,48 b	18,31 ± 0,54	11,45 ± 0,52 b	4,94 ± 0,28 b
Probabilidades					
FE	0,5613	0,6934	0,9786	0,9510	0,4901
PD	0,8768	<0,0001	0,4407	0,0201	0,0010
FE x PD	0,6808	0,5553	0,9862	0,8568	0,5108
CV (%)	4,50	3,50	2,95	4,24	5,15

¹ Incubação de ovos sem fotoestimulação intermitente (0L:24E). ² Incubação de ovos com fotoestimulação intermitente (1100 Lux, 1 minuto de luz seguido de 4 minutos de escuro, durante 12 horas, das 06:30h às 18:30h) (12Li:12E) a partir do 18º dia de incubação. ^{3,4} Período diurno: 18h:30min às 6h:30min e período noturno: 6h30min às 18h30min, respectivamente. (X±SD, P≤0,05).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou, pela primeira vez na literatura, os efeitos da incubação de ovos com e sem ciclo claro-escuro com fotoestimulação intermitente (FEI) a partir do 18º dia de incubação sobre a dinâmica de nascimentos ao longo da janela de eclosão e a qualidade dos pintos nos períodos diurno e noturno. De acordo com os resultados, não houve diferença na duração média do desenvolvimento *in ovo*, na eclodibilidade, no peso corporal, na frequência de ocorrência de problemas físicos entre os pintos nascidos no período diurno e noturno em nenhum dos dois tratamentos. Todavia, independentemente da presença ou não de ciclo claro-escuro no final da incubação, pintos eclodidos no período noturno apresentaram maior tamanho corporal, estimado pelo comprimento

bico-dedo médio, comprimento de perna e envergadura de asa, do que os pintos eclodidos no período diurno.

É conhecido que incubação de ovos sob ciclo claro-escuro induz ritmo circadiano de produção de melatonina a partir do 16º dia (Binkley, 1979; Tanabe et al., 1993; Csernus et al., 1998; Lamosová et al., 1995; Konturek et al., 2007; Özkan et al., 2012) e que há aumento de produção até a eclosão, ambos influenciando vários processos fisiológicos. Tal período de incubação coincide temporalmente com período no qual ocorrem uma série de movimentos dentro do ovo, conhecido como comportamento de eclosão (Oppenheim, 1970, 1972; Provine, 1972; Oppenheim et al., 1978; Pittman et al., 1978; Tong et al., 2013). O comportamento de eclosão começa com a viragem em 180º do corpo do feto no interior do ovo, de maneira que sua cabeça fique voltada para a extremidade do ovo que contém a câmara de ar; movimentos com a cabeça, rompendo a membrana interna da casca junto à câmara de ar (bicagem interna), possibilitando o início a respiração pulmonar (Mortola, 2009); movimentos sincronizados da cabeça, asas e pernas, causando a perfuração (bicagem externa), e movimentos giratórios no sentido anti-horário que culminam com o rompimento da casca dos ovos e a eclosão (Oppenheim, 1970, 1972; Freeman e Vince, 1974; Rogers, 1995; Menna e Mortola, 2002; Mellor e Diesch, 2007). A ausência de diferenças na duração média da incubação, na eclodibilidade e no peso corporal, tamanho entre os pintos com nascimento diurno e noturno em ambos os tratamentos (nossos dados) parece indicar que presença de ciclo claro-escuro ou fotoperíodo no final da incubação não influenciou o comportamento de eclosão dos pintos. Ainda, a partir do 16º dia de incubação, deve ocorrer incorporação total do saco de vitelo no interior da cavidade abdominal e fechamento da região umbilical (Boleli et al., 2013). No presente estudo, também não foram constatadas diferenças significativas na porcentagem de ocorrência de nascimentos diurno ou noturno de pintos com problemas na incorporação de saco de vitelo e fechamento da região umbilical, indicando ausência de interferência da fotoestimulação também sobre tais processos.

Todavia, independentemente da presença ou não de ciclo claro-escuro no final da incubação, pintos eclodidos no período noturno apresentaram maior comprimento

bico-dedo médio, comprimento de perna e envergadura de asa do que os pintos eclodidos no período diurno. Nossos resultados também mostraram a ocorrência de dinâmica similar de nascimentos contínua ao longo de ciclos dia-noite em ambos os tratamentos, sem ou com fotoestimulação. Os nascimentos diurnos ocorreram em 3 intervalos de tempo dentro da janela de eclosão: 467-476h (10,27%), 491-506h (69,23%) e 515-530h (20,51%) para no tratamento Sem-FEI, 473-479h (6,90%), 491-506h (72,41%) e 518-530h (20,69%) para nascimentos diurnos no tratamento Com-FEI, com concentração de nascimentos (~ 70%) de 491 à 506h, em ambos os tratamentos. Os nascimentos no período noturno ocorreram em 2 intervalos de tempo dentro da janela de eclosão e similares para ambos os tratamentos: de 479-497h e 503-515 h de incubação, sendo 37,93% e 62,07% de nascimentos para o tratamento Sem-FEI, e de 47,22% e 52,78% para Com-FEI, respectivamente. Duração da incubação ou o momento da eclosão dentro da janela de eclosão influencia vários processos fisiológicos. Pintos com nascimento tardio apresentam maior peso de órgãos (Fairchild and Christensen, 2000; van de Ven et al., 2011, 2013), menor concentração plasmática de hormônios tireoidianos (T3 e T4), que tem sido relacionado com menor qualidade dos pintos e desempenho na primeira semana de vida (Decuypere et al., 1990; Buys et al., 1998; Careghi et al., 2005; Decuypere and Bruggeman, 2005; van de Ven et al., 2011). Todavia, dados sobre o peso corporal variam. Lamot et al. (2014) registrou maior peso corporal para pintos nascidos precocemente. Ripamonte (2018), por sua vez, não constatou diferença no peso dos pintos ao longo da janela de eclosão, mas registrou maior tamanho bico-dedo médio e envergadura de asa para pintos precoces. Pelos dados obtidos, 50-64% dos pintos noturnos e 35-45% dos pintos diurnos eclodiram na segunda metade da janela de eclosão. Entretanto, fica difícil estabelecer o maior tamanho dos pintos noturnos com momento de nascimento ao longo da janela de eclosão. O ritmo circadiano é regulado por relógio central e por relógios periféricos. O primeiro consiste no sistema nervoso central e reside mais especificamente no núcleo supraquiasmático do hipotálamo, o qual recebe estímulos luminosos, enquanto que os relógios periféricos ocorrem em vários tecidos e órgãos dirigindo localmente funções fisiológicas circadianas (Richards et al., 2012). Considerando que a dinâmica de nascimentos de pintos diurnos e noturnos não foi

alterada pelo fotoestimulação, isso reforça a hipótese de que a eclosão dos pintos de corte seja regulada por relógios periféricos e não pelo central. Tal hipótese e os mecanismos fisiológicos envolvidos com diferenças entre os pintos com nascimento diurno e noturno precisam ser estudados.

5.CONCLUSÃO

Esse estudo mostra que ciclo claro-escuro com fotoestimulação intermitente nos últimos dias da incubação não altera eclodibilidade, dinâmica de nascimentos, peso corporal e frequência de ocorrência de problemas físicos dos pintos nascidos no período noturno e diurno, mas que pintos com nascimento noturno são maiores do que os com nascimento diurno.

6. REFERÊNCIAS

- Archer GS, Jeffrey D, Tucker Z (2017) Effect of the combination of white and red LED lighting during incubation on layer, broiler, and Pekin duck hatchability. **Poultry science**, v. 96, n. 8, p. 2670-2675.
- Archer, G S, Mench, J A (2017) Exposing avian embryos to light affects post-hatch anti-predator fear responses. **Applied animal behaviour science**, v. 186, p. 80-84.
- Binkley SA (1979) Time-keeping enzyme in the pineal gland, **Science** **202** 1198–1201.
- Buyse, N, Buyse, J, Hassanzadeh-Ladmakhi, M, & Decuypere, E (1998) Intermittent lighting reduces the incidence of ascites in broilers: an interaction with protein content of feed on performance and the endocrine system. **Poultry science**, 77(1), 54-61.
- Careghi, C., Tona, K., Onagbesan, O., Buyse, J., Decuypere, E., Bruggeman, V (2005) 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**, 84:1314–1320.
- Csernus, V, Ghosh, M, & Mess, B (1988) Development and control of the circadian pacemaker for melatonin release in the chicken pineal gland. **General and comparative endocrinology**, 110(1), 19-28.
- Decuypere, E, Dewil, E, & Kühn, E R (1990) The hatching process and the role of hormones. **Avian incubation**., p. 239-256.
- Decuypere, E, Bruggeman, V (2005) The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poult. Sci.** 86:1037–1042.
- Fairchild, BD, Christensen, VL (2000) Photostimulation of turkey eggs accelerates hatching times without affecting hatchability, liver or heart growth, or glycogen content. **Poultry science**. v. 79, n. 11, p. 1627-1631.
- Freeman, BM., Vince, RL (1974) Development of the Avian Embryo. **Chapman and Hall**, London.
- Hill, WL. et al. (2004) Prehatch Entrainment of Circadian Rhythms in the Domestic Chick Using Different Light Regimes. **Developmental Psychobiology**. v.45, p.174-186.
- Konturek SJ, Konturek P.C, Brzozowska I (2007) Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). **J Physiol. Pharmacol.** 58: 381-405.

Lamosová, D, Zeman, M, Mackova, M, Gwinner, E (1995) Development of rhythmic melatonin synthesis in cultured pineal glands and pineal cells isolated from chick embryo, **Experientia** 51, 970–975.

Lamot, DM, van de Linde, IB, Molenaar, R, van der Pol CW, Wijten, PJ, Kemp, B, van den Brand, H (2014) Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science**, 93:2604–2614.

Mellor, DJ, Diesch, TJ (2007) Birth and hatching: key events in the onset of awareness in the lamb and chick. **New Zealand veterinary journal**, v. 55, n. 2, p. 51-60.

Menna, M, Mortola, P (2002) Metabolic control of pulmonary ventilation in the developing chick embryo. **Respiratory physiology e neurobiology**, v. 130, n. 1, p. 43-55.

Mesquita, MA (2017) **Exposição de ovos de matrizes pesadas à luz monocromática durante a incubação artificial**. Tese (Doutorado em Zootecnia).

Mortola JP (2009) Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 153, n. 4, p. 359-377.

Narushin, VG (2005) Egg geometry calculation using the measurements of length and breadth. **Poultry Science**, 84 (3): 482-484.

Oppenheim, R W, Pittman, R, Gray, M, E Maderdrut, JL (1978) Embryonic behavior, hatching and neuromuscular development in the chick following a transient reduction of spontaneous motility and sensory input by neuromuscular blocking agents. **Journal of Comparative Neurology**, v. 179, n. 3, p. 619-640.

Oppenheim, RW (1972) Experimental studies on hatching behavior in the chick. III. The role of the midbrain and forebrain. **Journal of Comparative Neurology**, v. 146, n. 4, p. 479-505.

Oppenheim, RW (1970) Some aspects of embryonic behaviour in the duck (*Anas platyrhynchos*). **Animal Behaviour**, v. 18, p. 335-352.

Ozkan, S, Yalcin, S, Babacanoglu, E, Kozanoglu, H, Karadas, F, Uysal, S (2012a) Photoperiodic lighting (16 h of light: 8 h of dark) programs during incubation:1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. **Poultry Science**, 91(11): 2912-2921.

Pittman, RH, Oppenheim, RW (1978) Neuromuscular blockade increases motoneuron survival during normal cell death in the chick embryo. **Nature**, v. 271, n. 5643, p. 364-366.

Prescott NB, Wathes CM (1999) Spectral sensitivity of the domestic fowl. **British Poultry Science**. v.40, p.332-339.

Provine, Robert R (1972) Ontogeny of bioelectric activity in the spinal cord of the chick embryo and its behavioral implications. **Brain research**, v. 41, n. 2, p. 365-378.

R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.

Richards J, Gumz ML (2012) Advances in understanding the peripheral circadian clocks. **FASEB J**, 26(9):3602–13.

Rogers, LJ (1996) The development of brain and behavior in the chicken. **CAB International**, Wallingford, UK.

Shafey TM, Al-Mohsen TH (2002) Embryonic Growth, Hatching Time and Hatchability Performance of Meat Breeder Eggs Incubated under Continuous Green Light. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** v.15, n.12, p. 702-1707.

Tanabe, Y, Doi, O, Nakamura, T (1993) Ontogenesis and photoperiodic regulation of the pineal hormone synthesis in the chicken (*Gallus domesticus*), **Acian Endocrinology, Japan Sci. Soc**, pp. 217–227.

Tona, K, Malheiros, RD, Bamelis, F, Careghi, C, Moraes, VMB, Onagbesan, O, Decuypere, E, Bruggeman, V (2003b) Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. **Poultry Science**, 82:840–845.

Tong, Q, Romanini, CE, Exadaktylos, V, Bahr, C, Berckmans, D, Bergoug, H, Eterradosi, N, Roulston, N, Verhelst, R, McGonnell, IM, Demmers, T (2013) Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 620-628.

Umigi, RT, Barreto, SLDT, Donzele, JL, Reis, RDS, Sousa, MF, Leite, CDS (2007) Níveis de treonina digestível em dietas para codorna japonesa em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 36, 1868-1874.

Van De Ven, LJF, Van Wageningen, AV, Decuypere, E, Kemp, B, And Van Den Brand, H (2013) Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poultry Science**. 92 (4): 1050-1061.

van de Ven, LJF, van Wageningen, AV, Decuypere, E, Kemp, B, van den Brand, H (2013) Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poultry Science**. 92(4):1050-1061.

Wang, Y, Li, Y, Willems, E, Willemsen, H, Franssens, L, Koppenol, A, Guo, X, Tona, K, Decuypere, E, Buyse, J, Everaert, N (2014) Spread of hatch and delayed feed access affect post hatch performance of female broiler chicks up to day 5. **Animal**, 8(4):610-617.

Willemsen, H, Kamers, B, Dahlke, F, Han, H, Song, Z, Ansari Pirsaraei, Z, Tona, K, Decuypere, E, Everaert, N (2010) High-and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, 89(12): 2678–2690.

Zhong, Z, Yu, Y, Jin, S, Pan, J (2018) Effects of mixing eggs of different initial incubation time on the hatching pattern, chick embryonic development and post-hatch performance. **PeerJ**, 6:e4634.

CAPÍTULO 4 – FOTOESTIMULAÇÃO CONTÍNUA DIURNA OU NOTURNA INFLUENCIA O DESENVOLVIMENTO DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE

RESUMO - Esse trabalho analisou se fotoestimulação contínua noturna ou diurna durante todo desenvolvimento *in ovo* influencia a dinâmica de nascimentos, a janela de eclosão, a qualidade física dos pintos e o desenvolvimento da mucosa intestinal (altura de vilo, profundidade de cripta e número de células caliciformes). Ovos férteis de matrizes de corte foram distribuídos homogeneamente entre 3 tratamentos: sem fotoestimulação (0L:24E), com fotoestimulação diurna (das 06h00 às 18h00) ou com Fotoestimulação noturna (das 18h00 às 06h00) (luz incidente: 250 lux, luz transmitida: 17,6 lux, durante 12 horas, fornecida por sistema em série de lâmpadas LED (light emitting diode). Os ovos foram incubados à 37,5°C e 60% de umidade relativa durante todo o período de incubação. A temperatura das cascas dos ovos sob fotoestimulação noturna foi menor até o 14º dia de incubação, em comparação aos demais tratamentos. Duração da incubação, eclodibilidade e frequência de pintos com problemas físicos não foram afetadas pela fotoestimulação. Altura de vilo, profundidade de cripta e espessura de parede duodenais foram menores com fotoestimulação noturna e diurna, do que sem fotoestimulação. Para duodeno, a altura de vilo, profundidade de cripta e a espessura de parede foram menores com fotoestimulação diurna e noturna do que sem fotoestimulação. No jejuno, altura de vilo e espessura de parede foi maior sem fotoestimulação, quando comparado com a diurna e noturna. Para o íleo, altura de vilo e profundidade de cripta foram menores com fotoestimulação diurna e noturna e a espessura de parede desse segmento intestinal foi menor com fotoestimulação diurna, em comparação aos demais tratamentos. O número de células caliciformes duodenais foi maior com fotoestimulação noturna no duodeno, e diurna no jejuno. Os resultados mostram que fotoestimulação contínua, diurna e noturna, durante a incubação influencia a dinâmica de crescimento e diferenciação celular dos vilos e a atividade da cripta.

Palavras-Chaves: células caliciformes, criptas, qualidade de pintos, vilos

CHAPTER 4 – CONTINUOUS DAY OR NIGHT PHOTOSTIMULATIONS INFLUENCES THE DEVELOPMENT OF THE INTESTINAL MUCOSA IN BEFORE CHICKS

ABSTRACT - This work analyzed whether continuous nocturnal or diurnal photostimulation throughout in ovo development influences hatch dynamics, hatch window, chick physical quality and intestinal mucosal development (villus height, crypt depth and goblet cell number). Fertile eggs from broiler breeders were evenly distributed among 3 treatments: without photostimulation (0L:24D), with daytime photostimulation (from 6:00 am to 6:00 pm) or with nocturnal photostimulation (from 6:00 pm to 6:00 am) (incident light: 250 lux, transmitted light: 17.6 lux, for 12 hours, supplied by a series of LED (light emitting diode) lamps. The eggs were incubated at 37.5°C and 60% relative humidity during the entire incubation period. Under nocturnal photostimulation was lower until the 14th day of incubation, compared to the other treatments. Incubation duration, hatchability and frequency of chicks with physical problems were not affected by photostimulation. Villus height, crypt depth and duodenal wall thickness were lower with nocturnal and diurnal photostimulation than without photostimulation. For duodenum, villus height, crypt depth and wall thickness were lower with diurnal and nocturnal photostimulation than without photostimulation. In the jejunum, villus height and wall thickness were higher without photostimulation, when compared with diurnal and nocturnal. For the ileum, villus height and crypt depth were lower with diurnal and nocturnal photostimulation and the wall thickness of this intestinal segment was smaller with diurnal photostimulation, compared to the other treatments. The number of duodenal goblet cells was higher with nocturnal photostimulation in the duodenum and diurnal in the jejunum. The results show that continuous diurnal and nocturnal photostimulation during incubation influences the growth dynamics and cell differentiation of villi and crypt activity.

Keywords: chick quality, crypts, goblet cells, villi

1. INTRODUÇÃO

Alta eclodibilidade de pintos saudáveis, com potencial de desenvolvimento pós-eclosão são determinantes para a obtenção de maior viabilidade criatória e melhor desenvolvimento pós-eclosão dos frangos. Nesse contexto, o potencial de digestão e absorção intestinal dos pintos na eclosão se torna de suma importância, uma vez que a aquisição dos nutrientes estruturais e energéticos necessários para manutenção e crescimento inicial são fatores determinantes para expressão do máximo potencial genético dos frangos. Dessa forma, quanto maior a área de digestão e absorção intestinal, maior a possibilidade de desenvolvimento da ave (Reis, 2018). Diferentes estudos têm sido realizados visando a produção de pintos com maior área intestinal, com o uso de nutrição *in ovo* de diferentes nutrientes (Vieira et al., 2014; Pandolfi e Mota, 2021) e manipulação da temperatura de incubação (Oliveira, 2014; Porto, 2018).

O potencial funcional intestinal depende diretamente do tamanho das vilosidades e da integridade de seu epitélio de revestimento, composto por enterócitos, com função de digestão final e absorção, células enteroendócrinas com função secretora para regulação da atividade e maturação do próprio epitélio da cripta e vilosidades e por células caliciformes, com função de produzir mucinas que formam a camada sobre a superfície epitelial, protegendo-o da ação abrasiva da digesta, da ação de enzimas digestivas, atuando como barreira seletiva de moléculas e como sítio de ligação para microbiota intestinal (Ozaydin e Celik, 2012; Boleli et al., 2017).

As vilosidades e criptas intestinais surgem no início na fase fetal, por volta do 15-17º dia de incubação, e se desenvolvem até a eclosão e após a eclosão, durante a fase pré-inicial de crescimento da ave (Geyra et al., 2001a; Uni et al., 2003). Devido à sua alta taxa anabólica e metabólica, rápido e intenso crescimento pós-eclosão, o epitélio que reveste as vilosidades intestinais apresenta intenso e contínuo processo de renovação celular. As células do epitélio intestinal surgem a partir das divisões mitóticas de células mães (*stem-cells*) presentes na base das criptas. Células-filhas são empurradas em direção à base das vilosidades, onde se diferenciam em enterócitos, células caliciformes ou células enteroendócrinas (Boleli et al., 2017). Dessa forma, quanto maior a atividade mitótica das criptas maior

o número de células diferenciadas, o que favorece o crescimento dos vilos e/ou a renovação epitelial (Boleli et al., 2017).

O trato gastrintestinal possui atividade circadiana regida pelo ciclo claro-escuro e controlada por melatonina (Mesquita, 2017). Embora melatonina seja produzida principalmente pela glândula pineal, com pico de secreção ocorrendo no período noturno, ela também é produzida no trato gastrintestinal por células enteroendócrinas, que compõem o epitélio que reveste internamente o trato digestivo (Stringhini et al., 2015), mantêm a produção diurna desse hormônio (Pang et al., 1996; Acuña-Castroviejo et al., 1997; Konturek et al., 2007) e o período de atividade do trato gastrintestinal.

Vários autores relataram que o estímulo luminoso durante a incubação é capaz de acelerar o desenvolvimento *in ovo*, aumentar a taxa de eclosão, o peso corporal ao nascimento, reduzir a janela de eclosão e o acometimento de má formações corporais (Shafey e Almonsén, 2003; Rozemboim et al., 2004; Calil, 2007). Contudo, faltam dados na literatura referentes aos efeitos da fotoestimulação durante a incubação sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal.

Portanto, o presente estudo analisou se fotoestimulação contínua, diurna ou noturna, ao longo da incubação influencia eclosibilidade, qualidade na eclosão e desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte. A obtenção de tais dados é importante para a construção de um banco de dados sólido sobre os efeitos da fotoestimulação durante a incubação para a qualidade e potencial de crescimento dos pintos, bem como para avaliação do potencial uso de fotoestimulação como manejo da incubação para manipular potencial intestinal inicial dessas aves.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Procedimentos Experimentais

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (protocolo nº 017647/18), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal.

O total de 294 ovos férteis de matrizes de frangos de corte com 39 semanas (Ross®) foram obtidos de incubatório comercial (Globoaves, Itirapina, SP). Os ovos foram distribuídos homogeneamente em um delineamento inteiramente casualizado, com peso homogêneo $62,87 \pm 1,31$ g, em três tratamentos, onde cada ovo representou uma repetição, sendo 98 repetições por tratamento. Os tratamentos diferiam na duração do fotoestimulação a partir do 1º dia de incubação: sem fotoestimulação (0L:24E) (Sem-FE), fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) (Com-FED) e fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) (Com-FEN).

A incubação ocorreu em 6 incubadoras horizontais (Premium Ecológica IP120) (2 para cada tratamento) com controle automático de temperatura e viragem dos ovos à cada hora (até o 17º dia). Temperatura de incubação (37,5°C e umidade relativa à 60%) foram mantidas constantes até a eclosão.

Para os tratamentos com fotoestimulação, lâmpadas LED (*light emitting diode*) brancas foram instaladas no interior das incubadoras de modo a fornecerem intensidade luminosa de aproximadamente 250 lux (baseado em Archer; Mench, 2014) na superfície dos ovos. Para montagem da iluminação (fixado na parte interna da tampa da incubadora, paralelamente aos roletes, e na posição entre roletes, à 3,5cm da superfície dos ovos), foram utilizados dois sistemas LED por incubadora totalizando 11 fileiras, cada fileira com 6 módulos LED. Os sistemas estavam ligados a dois dimmers específicos para lâmpadas (DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720). Cada dimmer estava ligado a uma fonte AC/DC (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China) e as fontes conectadas a um timer (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil), para controle do período de exposição ao fotoestimulação e a intensidade de lux fornecidos (Figura 1).

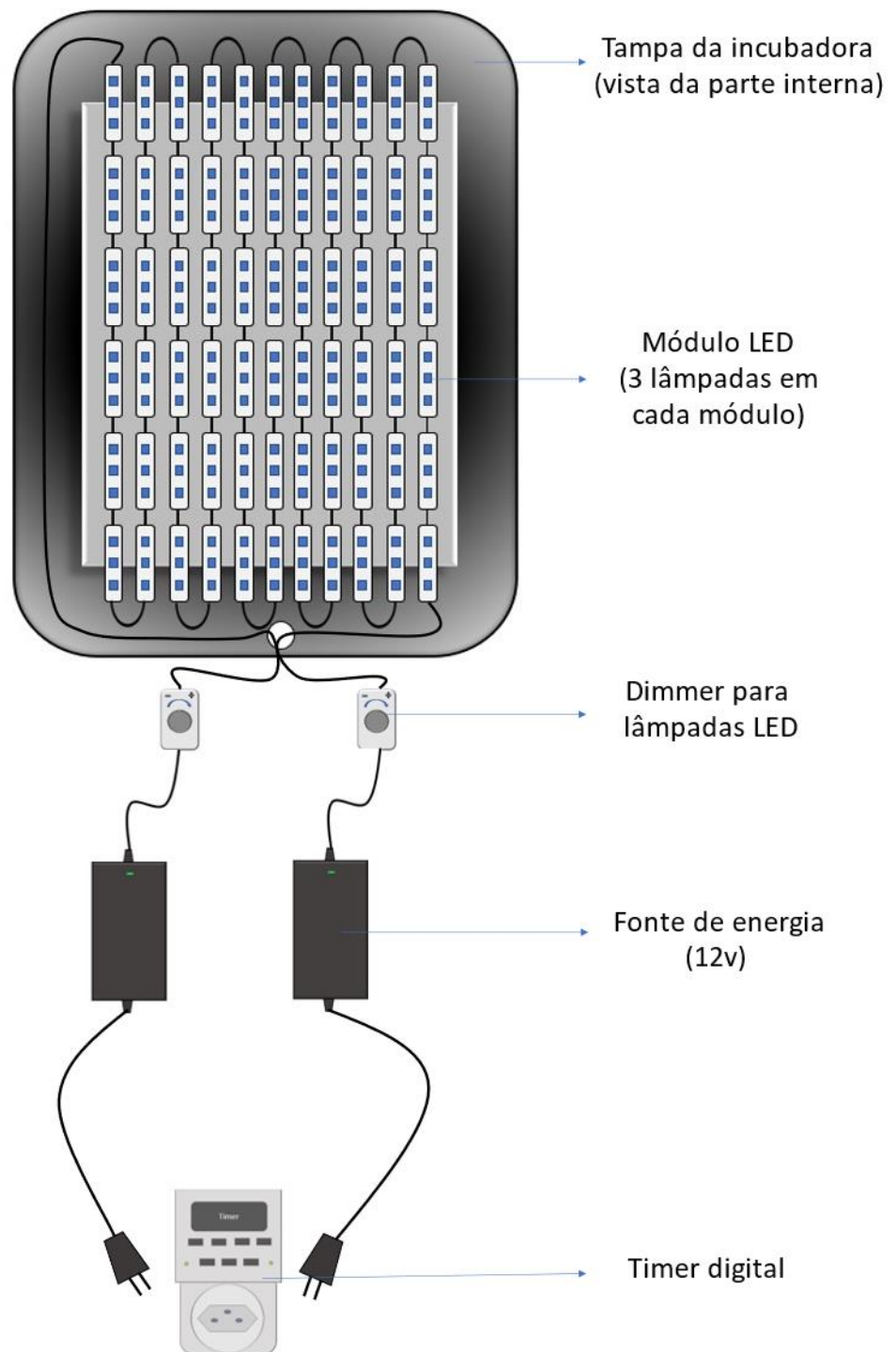


Figura 1. Representação esquemática do sistema de LED utilizado no experimento. O sistema foi formado por dois circuitos em série de lâmpadas LED fixados na face interna da tampa das incubadoras. Cada circuito foi composto por 33 módulos LED em série, organizados em 5½ fileiras com distanciamento de 2,4 cm entre fileiras, cada fileira contendo 6 módulos LED, com 3 lâmpadas de cor branca em cada módulo (Modulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China). Cada circuito foi ligado a um dimmer

(específico para LED, DC12V-24V, corrente externa máxima: 5A, temperatura: 20-60°C, potência externa máxima: 60-120W, China, FITA-DIM-720) e este ligado a uma fonte de energia 12V (Jikatek, modelo KCR-05PLB, output 12V-5A, China). As duas fontes de energia foram conectadas ao mesmo timer digital (Foxlux, temporizador analógico bivolt- FX TBA, 10A, precisão 15 minutos, Pinhais, PR, Brasil). Esse sistema proporcionou controle automático do ciclo claro-escuro e uniformidade de fotoestimulação no interior da incubadora.

Foram utilizadas três salas de incubação (uma para cada tratamento), e anteriormente a essas salas, o corredor de acesos foi vedado para impedir a entrada de luz. As janelas das salas de incubação foram totalmente vedadas com isopor e cartolina preta, para evitar que qualquer tipo de luz externa entrasse. As lâmpadas permaneceram desligadas e nos momentos de coleta de dados, foram utilizadas lanternas cobertas com papel celofane vermelho, espectro de luz menos perceptível durante a fase de incubação.

Os comprimentos de onda emitidos pelas lâmpadas LED utilizadas foram determinados por espectrometria (Prof. Luciano Bachmann, Laboratório de Fotobiofísica, do Departamento de Física, da FFCLRP, USP). Para isso, foi utilizado espectrômetro (USB2000 +, Ocean Optics, Dunedin, EUA) calibrado para medir a emissão espectral na faixa de 290-700 nm equipado COM-FEIbras ópticas e sondas de irradiância com correção de cosseno (CC-3-UV, Ocean Optics, Dunedin, EUA). A calibração do espectrômetro foi realizada em comprimento de onda e foi medido com uma fonte de calibração de mercúrio e argônio (HG-1, Ocean optics, linhas 253 e 922 nm). A Figura 2 mostra a distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs.

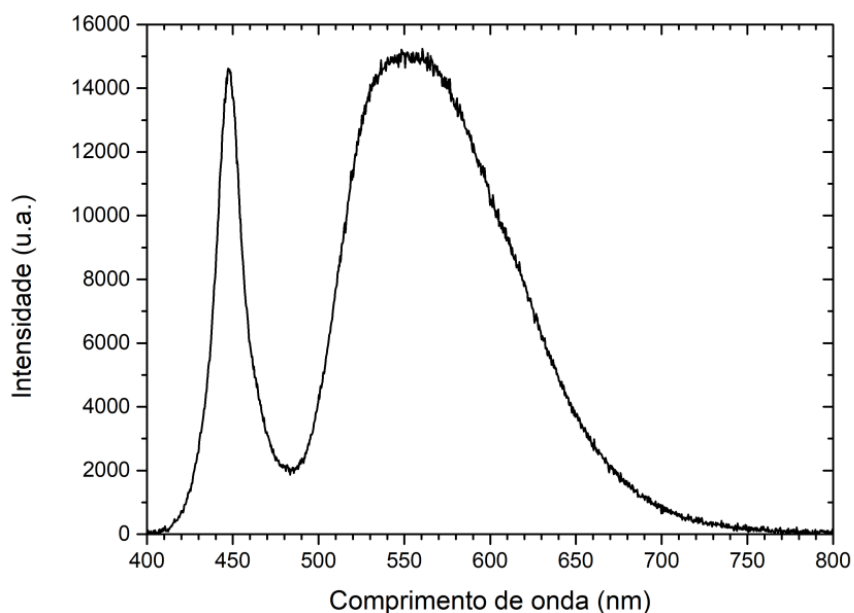


Figura 2. Distribuição espectral dos comprimentos de onda emitidos pelas LEDs (Módulo LED, 3 LEDs 5050 BF, China).

Os ovos utilizados nos tratamentos apresentaram peso de $62,87 \pm 1,31$ g, volume de $66,36 \pm 6,66$ cm³, área de superfície de $77,04 \pm 7,61$ cm² e índice forma de $77,73 \pm 7,98$. Para cálculo de área de superfície e volume dos ovos foram utilizadas as equações: $A = (3,155 - 0,0136D + 0,0155d) * Dd$ e $V = (0,6057 - 0,0018d) * Dd^2$, com A= área superficial (cm²); V= volume (cm³); D e d: diâmetro maior e diâmetro menor, do ovo (cm), respectivamente (Narushin, 2005). O índice forma foi calculado utilizando a equação $IF = (D/d) * 100$. A perda de massa dos ovos (g e % em relação ao peso inicial) dos tratamentos sem fotoestimulação, fotoestimulação diurna e fotoestimulação noturna ($5,90 \pm 0,68$ g A, $5,63 \pm 0,71$ g B e $5,66 \pm 0,81$ g AB, P: 0,0190; $9,39 \pm 1,08$ % A, $8,95 \pm 1,08$ % B e $9,05 \pm 1,35$ % AB, P: 0,0255) foi calculada até o 17º dia de incubação para controle da área de exposição aos tratamentos.

Um total de 60 ovos, 10 ovos por peso, foram utilizados para a mensuração da luz transmitida através da casca para o interior dos ovos. Para isso, uma janela circular de 3 cm de diâmetro foi aberta na extremidade maior dos ovos. Em seguida, os ovos foram esvaziados e colocados sobre o luxímetro digital (Akrom KR8332, 0-

400k lux, China) para mensuração da luz transmitida através da casca dentro dos ovos. Como mostrado na Figura 3, a transmitância da luz através da casca aumenta com o aumento da intensidade de luz incidente sobre a casca e pode mudar com o peso do ovo. Todavia, a transmitância da luz através da casca não foi influenciada pelo peso dos ovos quando se utilizou luz incidente de 250 lux. A transmitância da luz através da casca dos ovos utilizados no presente estudo foi de 17,6 lux.

Tabela 1. Transmitância de luz através da casca de ovos de matrizes de corte, de acordo com o peso dos ovos e intensidade de luz incidente.

Peso de Ovo (g)	Luz incidente sobre a casca dos ovos (lux)						
	100	250	450	650	850	1050	1250
60	4,14	15,28	30,38 b	43,83 b	58,80 b	73,17 b	88,53 b
61	5,65	17,13	33,50 ab	49,27 ab	65,83 ab	82,40 ab	98,94 ab
62	5,74	19,11	38,54 a	58,77 a	76,74 a	94,31 a	111,71 a
63	5,19	17,26	31,01 b	45,43 b	61,43 b	76,39 b	91,18 ab
64	4,82	16,9	32,34 ab	48,19 ab	68,94 ab	79,67 ab	96,43 ab
65	5,42	17,6	31,03 b	48,56 ab	60,68 b	75,73 b	89,68 ab
P	0,0791	0,355	0,036	0,0067	0,0097	0,0229	0,0277
CV(%)	20,2	16,5	14,7	14,1	14	14,1	13,8

2.2. Temperatura da superfície dos ovos

A temperatura (°C) da casca dos ovos foi obtida usando um termômetro infravermelho (INSTRUTEMP ITTI 550, -32°C~530°C, China) a uma distância de 3 cm, e um ângulo de 90° na região equatorial dos ovos, para evitar influência da câmara de ar nos resultados. A aferição foi realizada em 10 ovos por incubadora (o primeiro de cada linha, para evitar a abertura da tampa em excesso e por muito tempo, podendo ocasionar perdas de temperatura do ambiente interno e da superfície dos ovos).

2.3. Duração da incubação e eclodibilidade

A duração da incubação (h) foi determinada individualmente para cada ovo. Para isso, os ovos foram monitorados constantemente a partir do 19° dia de

incubação, através da tampa da incubadora (acrílico transparente), para determinar dia e horário da eclosão dos pintos. Para evitar que o desenvolvimento *in ovo* e a eclosão fossem afetados pela luz da sala, as mesmas permaneceram apagadas, sendo utilizado para observação visual, uma lanterna com luz vermelha (cor de baixa sensibilidade espectral para aves, segundo Prescott e Wathes, 1999). A eclodibilidade, dada em %, foi determinada com base no número total de ovos férteis incubados.

2.4. Dinâmica de nascimentos

Foram determinados o tempo total de incubação (h) e as frequências de eclosão (%) para cada tratamento dentro da janela de eclosão, para tal, foram utilizados os dados de eclosão obtidos de cada pinto eclodido (Willemssen et al., 2010; Wang et al., 2014). Também foi determinada para cada tratamento a frequência cumulativa de nascimentos (%) dentro da janela de eclosão (Zhong et al., 2018). A incubação total do experimento foi de 519h.

2.5. Características físicas e qualidade dos pintos

Após secagem da penugem (2h após eclosão), foi mensurado o peso (g) individual dos pintos utilizando balança digital de precisão (Marte, precisão: 0,001). Foram mensurados, com auxílio de régua milimetrada, o comprimento bico dedo médio (entre a extremidade do bico e a extremidade do dedo médio – B-Dm) e a envergadura de asa (distância entre a ponta de uma asa até a outra, EA), sendo os dados expressos em centímetros. Seguindo metodologia de Tona et al. (2003), foi calculado para cada tratamento a porcentagem total de pintos em cada classe de qualidade e tipo de problema físico.

2.6. Altura de vilo, profundidade de cripta, espessura de parede e contagem de células caliciformes

Foram analisados: altura de vilos, profundidade de cripta, espessura de parede e número de células caliciformes dos três segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo). Para isso, quinze pintos machos de cada tratamento foram pesados e sacrificados por deslocamento cervical, seguido de decapitação para coleta de

amostras, de 1,5 a 3,0 cm para cada porção intestinal, do duodeno (a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal), jejuno (a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel) e íleo (porção anterior ao ponto de inserção dos cecos). As amostras foram lavadas cuidadosamente com água destilada e fixadas imediatamente em solução de Bouin. Após fixação, as amostras foram processadas pelo método histológico de rotina para microscopia de luz, sendo desidratadas em série de concentração crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em histosec. De cada segmento intestinal foram realizados e analisados cortes histológicos semi-seriados longitudinais dos vilos, de 7 μ m de espessura, corados com PAS. Os dados morfométricos foram obtidos por meio de um programa de captura e de análise de imagens (Leica). A altura dos vilos (μ m) correspondeu à distância entre suas bases e seus ápices. A profundidade das criptas correspondeu à distância entre suas bases e as bases dos vilos. Foram feitas 50 mensurações de altura, criptas e espessura de parede por segmento intestinal por ave. O número de células caliciformes PAS positivas (PAS+) foi obtido como o número de células presentes ao longo do epitélio do vilo em objetiva de 40x.

2.7. Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto aos efeitos da fotoestimulação (FE) e do período de eclosão na incubação (FE = 0L:24E, 12L:12E, 12E:12L), de acordo com o modelo experimental $Y_{ij} = \mu + FE_i + e_{ij}$, sendo Y as variáveis, μ a média geral e “e” o erro residual. Em todas as variáveis, cada ovo ou pinto foi considerado uma unidade experimental.

Características físicas foram analisadas quanto aos efeitos da fotoestimulação, dentro da janela de eclosão, seguindo fatorial 3x3, de acordo com o modelo $Y_{ijk} = \mu + FE_i + PE_j + (FP \times PE)_{ij} + e_{ijk}$, sendo Y as variáveis, μ a média geral e “e” o erro residual, considerando cada pinto uma unidade experimental.

Após verificação da presença de outliers e atendimento às pressuposições de normalidade dos erros studentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de uniformidade de variâncias (teste de Levene), os dados serão submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa R (R Core Team 2019).

Frequência de nascimentos, problemas físicos e frequência de qualidade de pintos foram analisados pelo teste Qui-quadrado (X^2) de Pearson (Pearson, 1900) para duas amostras pelo programa R (R Core Team 2019). Quando necessário, diferenças significativas foram analisadas pelo procedimento Pair Wising.

3. RESULTADOS

3.1. Temperatura da casca dos ovos

Figura 3 mostra a temperatura da casca dos ovos de 1-7, 8-14 e 15-17 dias de incubação. As temperaturas médias da superfície das cascas dos ovos incubados sem fotoestimulação, registradas de 1-7 e de 8-14 dias de incubação, foram similares às registradas nos mesmos períodos nas cascas dos ovos incubados com fotoestimulação diurna (1-7 dias: 37,42°C e 37,47°C; 8-14 dias: 37,63°C e 37,64°C, respectivamente). Essas temperaturas, contudo, foram maiores do que as temperaturas registradas para os ovos incubados com fotoestimulação noturna (1-7 dias: 37,18°C e 8-14 dias: 37,46°C) ($P \leq 0,05$). Não houve diferença entre os tratamentos, nas temperaturas da superfície dos ovos registradas no período de 15 a 17 dias de incubação ($P > 0,05$).

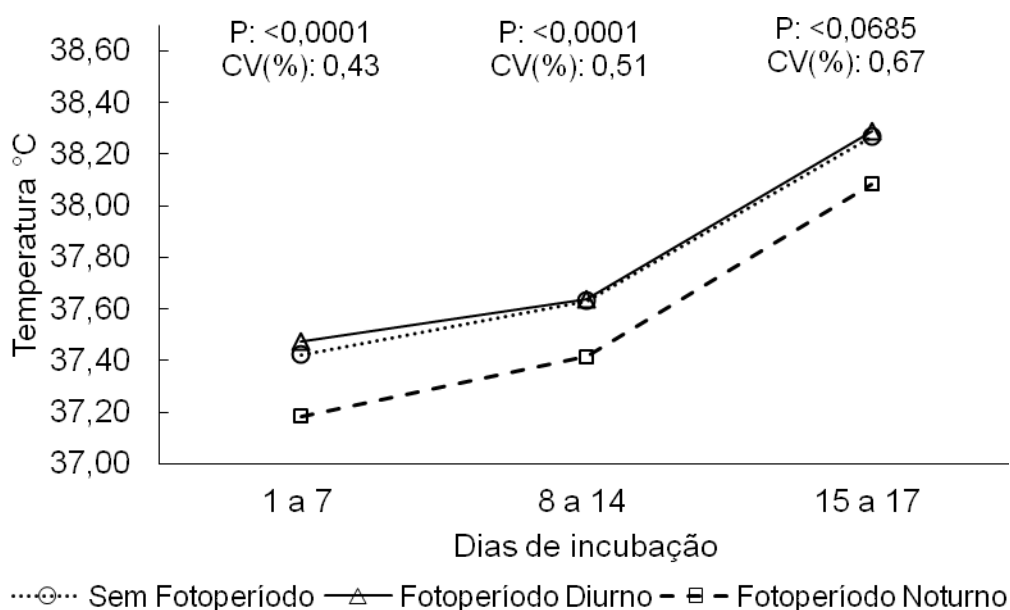


Figura 3 – Temperatura da casca dos ovos incubados sem fotoestimulação (0L:24E), fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e

fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação. ($P \leq 0,05$).

3.2. Duração da incubação e eclodibilidade

Não houve diferença na duração da incubação dos ovos incubados sem fotoestimulação e sob fotoestimulação diurna ou noturna ($495 \pm 8,70h$, $493 \pm 9,14h$ e $492 \pm 8,22h$; $P: 0,3200$; respectivamente). Ausência de diferenças na eclodibilidade entre os tratamentos também foi registrada (Sem-FE: $89,90 \pm 10\%$, Com-FED: $87,50 \pm 12,50\%$ e Com-FEN: $89,90 \pm 10,10\%$, respectivamente) (Figura 4).

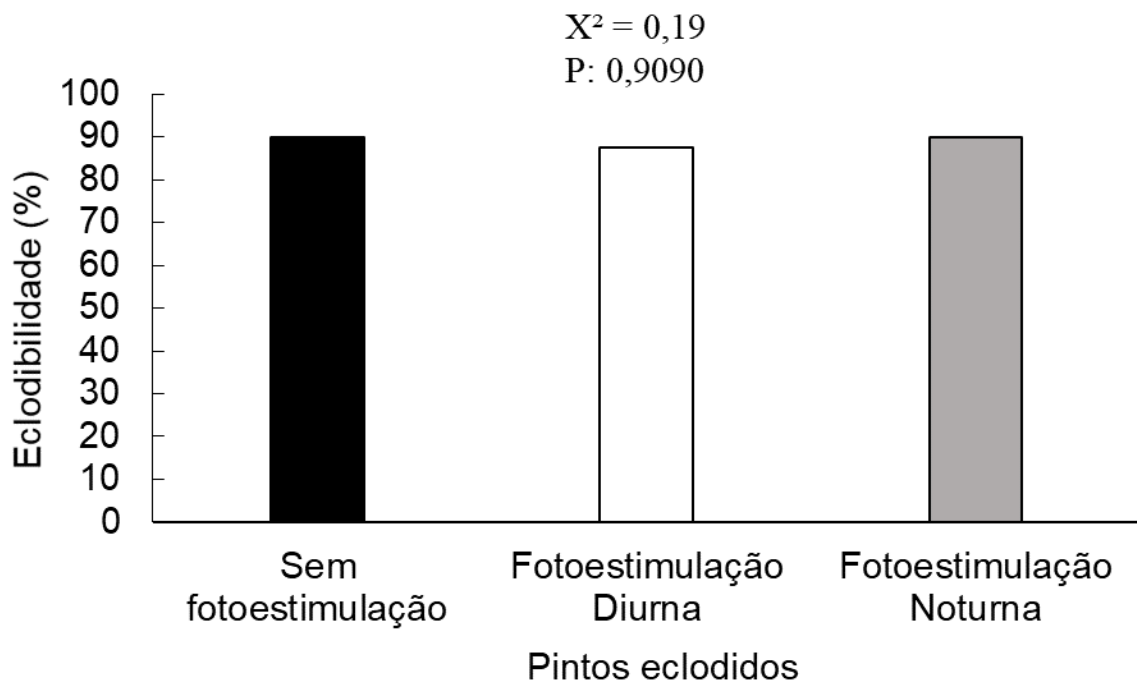


Figura 4 – Eclodibilidade total de pintos de ovos incubados sem fotoestimulação (0L:24E), fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação ($P \leq 0,05$).

3.3. Dinâmica de nascimentos ao longo da janela de eclosão

A eclosão dos pintos incubados sem fotoestimulação ocorreu de 479h à 518h45min, enquanto que as eclosões dos pintos nos tratamentos fotoestimulação diurna e fotoestimulação noturna ocorreram de 475h30min à 517h e de 478h30min à 512h. Isso resultou no deslocamento da curva de frequência de nascimentos para a

esquerda nos tratamentos com fotoestimulação, em comparação com a curva de nascimentos sem fotoestimulação, com janelas de eclosão de 39h45min, 41h30min, e 33h35min, respectivamente (Figura 6). No tratamento com fotoestimulação, 85% de eclosão foi atingida 3 horas antes (499-502h), em comparação ao tratamento sem fotoestimulação (502-505h), decorrente de alta taxa de eclosão entre 478-502h (Figura 5).

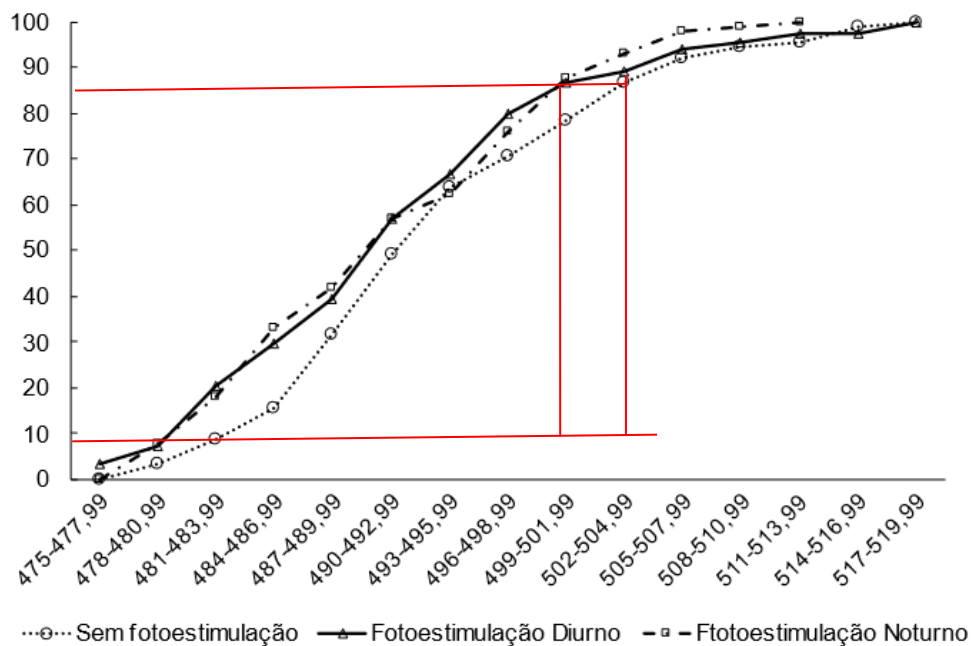
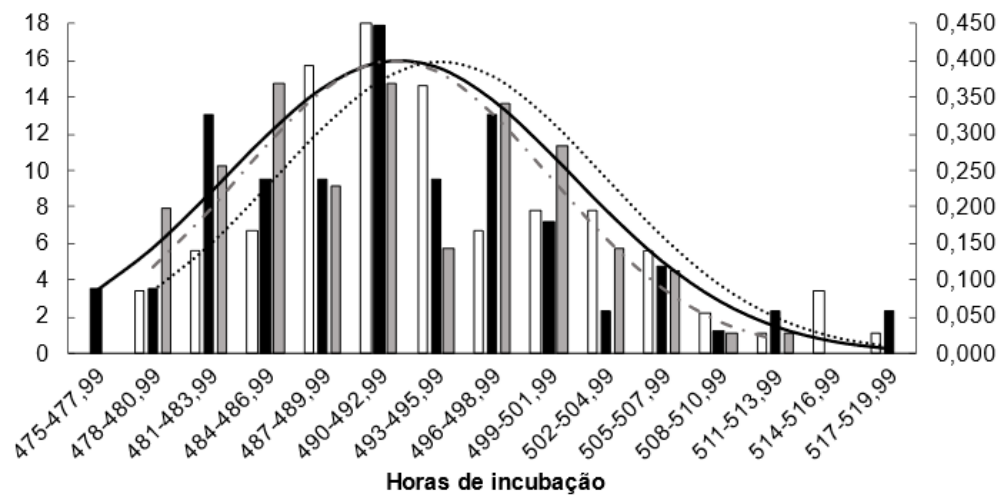


Figura 5 - Histograma e curva de Gauss, e frequência cumulativa de nascimento a cada 3 horas, dentro da janela de eclosão de pintos de ovos incubados sem fotoestimulação (0l:24e), fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação.

3.4. Qualidade dos pintos

A frequência de problemas físicos gerais, de empenamento, umbigo, alantoide e saco de vitelo dos pintos não sofreu influência dos tratamentos sem fotoestimulação e com fotoestimulação diurna e noturna ($P>0,05$). Não foram observados quaisquer problemas físicos nos olhos e pernas dos pintos (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência (%) de problemas físicos em pintos de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	Total	Empenamento	Umbigo	Alantoide	Saco de vitelo
Sem-FE ¹	24,14	3,45	3,45	15,52	15,52
Com-FED ²	28,85	7,69	5,77	21,15	21,15
Com-FEN ³	17,74	4,84	4,84	11,29	11,29
X ²	0,65	0,66	0,25	0,88	0,50
Probabilidades	0,7225	0,7165	0,8825	0,6412	0,7788

^{1,2,3} Incubação de ovos sem fotoestimulação (0C:24E), com fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e com fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação, respectivamente ($P\leq 0,05$).

3.5. Dimensões corporais dos pintos

Tabela 3 mostra as dimensões corporais das aves em relação aos tratamentos (sem fotoestimulação, fotoestimulação diurna e fotoestimulação noturna). Não houve interação do peso corporal, do comprimento bico ao dedo médio e da envergadura de asa, entre os tratamentos e os períodos de eclosão ($P>0,05$). Os tratamentos também não influenciaram as dimensões corporais dos pintos ($P>0,05$).

Tabela 3. Peso corporal, envergadura de asa e comprimento bico-dedo médio dos pintos, de acordo com o tratamento e com os períodos de nascimento.

Tratamentos	Peso corporal (g)	Bico-dedo médio (cm)	Envergadura de asa (cm)
Sem-FE ¹	46,78 ± 1,50	18,13 ± 0,40	11,17 ± 0,56
Com-FED ²	47,04 ± 1,35	18,18 ± 0,45	11,22 ± 0,62
Com-FEN ³	46,99 ± 1,57	18,05 ± 0,39	11,08 ± 0,58
Probabilidades	0,6138	0,2448	0,4005
CV (%)	3,11	2,24	5,15

^{1,2,3} Incubação de ovos sem fotoestimulação (0C:24E), com fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e com fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação, respectivamente. (P≤0,05).

3.6. Características intestinais dos pintos

A Tabela 4 mostra a altura de vilos, profundidade de criptas e espessura de parede dos segmentos intestinais duodeno, jejuno e íleo. A altura de vilo, a profundidade de cripta e a espessura de parede duodenais foram maiores em pintos que não receberam fotoestimulação durante a incubação, do que com fotoestimulação diurna ou noturna (P<0,05).

No jejuno, a altura de vilos foi maior nos pintos de ovos incubados sem fotoestimulação, do que nos pintos de ovos incubados com fotoestimulação diurna e noturna (P<0,05). Não houve diferença na profundidade de cripta do jejuno entre os tratamentos (P≥0,05). A parede do jejuno foi mais espessa sem fotoestimulação, do que com fotoestimulação diurna e noturna (P<0,05).

No íleo, a altura de vilos e a profundidade de criptas foram maiores nos pintos de ovos incubados sem fotoestimulação, do que nos pintos de ovos incubados com fotoestimulação diurna e noturna (P<0,05), porém similares nesses tratamentos com fotoestimulação (P>0,05). Com relação a espessura de parede, os pintos do tratamento com fotoestimulação diurna apresentaram menor espessura de parede, do que os pintos dos tratamentos sem fotoestimulação e com fotoestimulação noturna (P<0,05).

Tabela 4. Altura de vilo, profundidade de cripta e espessura de parede intestinal dos pintos na eclosão, de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	Altura de Vilo (μm)	Profundidade de cripta (μm)	Espessura de parede (μm)
Duodeno			
Sem-FE ¹	565,47 $\pm$ 39,81 a	52,82 $\pm$ 11,85 a	703,36 $\pm$ 37,23 a
Com-FED ²	491,48 $\pm$ 39,02 b	42,45 $\pm$ 4,83 b	623,89 $\pm$ 43,18 b
Com-FEN ³	487,28 $\pm$ 38,18 b	47,15 $\pm$ 5,13 b	635,48 $\pm$ 38,40 b
Probabilidades	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV (%)	7,80	13,81	6,38
Jejuno			
Sem-FE ¹	366,87 $\pm$ 22,56 a	33,75 $\pm$ 3,47	483,40 $\pm$ 26,86 a
Com-FED ²	352,02 $\pm$ 35,92 b	34,55 $\pm$ 3,61	479,14 $\pm$ 42,36 b
Com-FEN ³	340,17 $\pm$ 36,62 c	33,49 $\pm$ 3,47	452,80 $\pm$ 42,26 b
Probabilidades	<0,0001	0,1633	<0,0001
CV (%)	9,14	10,35	7,99
Íleo			
Sem-FE ¹	268,34 $\pm$ 20,17 a	36,02 $\pm$ 3,29 a	397,15 $\pm$ 27,95 a
Com-FED ²	248,95 $\pm$ 20,26 b	30,29 $\pm$ 3,03 b	362,03 $\pm$ 25,21 b
Com-FEN ³	251,34 $\pm$ 14,37 b	31,39 $\pm$ 2,70 b	396,87 $\pm$ 21,87 a
Probabilidades	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV (%)	7,19	9,20	6,61

^{1,2,3} Incubação de ovos sem fotoestimulação (0C:24E), com fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e com fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação, respectivamente. a-c: letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas entre médias. ($P \leq 0,05$).

A Tabela 5 mostra que os tratamentos não influenciaram a contagem de células caliciformes no íleo ($P \geq 0,05$). No duodeno, a contagem de células caliciformes foi maior nos pintos de ovos incubados com fotoestimulação noturna, do

que nos pintos dos demais tratamentos ($P < 0,05$), bem como maior nos pintos de ovos incubados com fotoestimulação diurna, do que noturna ($P < 0,05$). No jejuno, a contagem de células caliciformes foi maior nos pintos do tratamento com fotoestimulação diurna, do que nos pintos do tratamento com fotoestimulação noturna ($P < 0,05$), mas a contagem de células caliciformes desses tratamentos não diferiu das contagens registradas no tratamento sem fotoestimulação ($P > 0,05$).

Tabela 5. Contagem de células caliciformes intestinais dos pintos, de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	Duodeno	Jejuno	Íleo
Sem-FE ¹	4,80 ± 2,54 c	7,71 ± 2,55 ab	8,00 ± 2,45
Com-FED ²	7,55 ± 2,61 b	8,83 ± 2,20 a	7,30 ± 2,23
Com-FEN ³	10,46 ± 3,04 a	6,10 ± 2,83 b	6,47 ± 2,14
Probabilidades	<0,0001	0,0171	0,1217
CV (%)	31,01	29,88	31,34

^{1,2,3} Incubação de ovos sem fotoestimulação (OC:24E), com fotoestimulação diurna (250 lux durante 12 horas, das 06h00 às 18h00) e com fotoestimulação noturna (250 lux durante 12 horas, das 18h00 às 06h00) a partir do 1º dia de incubação, respectivamente. a-c: letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas entre médias. ($P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Diferentes tecidos e sistemas orgânicos das aves, assim como de outros animais, apresentam ritmo circadiano de atividade determinado pelo ciclo claro-escuro diário estabelecido já na fase fetal. No caso das aves, ritmo fisiológico circadiano fetal é estabelecido no 2 e 3º terços da incubação (Binkley, 1979; Tanabe et al., 1993; Csernus et al., 1998; Lamosová et al., 1995), mas desde que haja exposição dos ovos a períodos cíclicos de luz e ausência desta (Özkan et al., 2012), entretanto, incubação comercial de ovos é realizada na ausência de luz. O presente estudo analisou se introdução de ciclo claro-escuro com fotoestimulação diurna ou noturna contínua durante a incubação dos ovos influencia a eclodibilidade, dinâmica de nascimentos, qualidade e desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte.

No presente estudo, incubação dos ovos com fotoestimulação diurna ou noturna contínua não alterou a eclodibilidade, a frequência de problemas físicos, o peso e o tamanho corporal dos pintos. Isso indica que a fotoestimulação contínua ao qual os ovos foram expostos não comprometeu o desenvolvimento dos pintos, quando comparado à incubação na ausência de luz.

Ciclos claro-escuro podem afetar a eclodibilidade e a qualidade dos pintos. Diante disso, nossos resultados ora diferem, ora concordam com os resultados obtidos por outros autores, como, por exemplo, Archer (2014), Huth e Archer (2015), Archer (2017), Archer et al. (2017), Yameen et al. (2020), registraram aumento nas taxas de eclosão ou na eclodibilidade, bem como ganhos na qualidade dos pintos em algumas destas pesquisas, mediante ao uso de fotoestimulação durante a incubação. Importante destacar que nesses estudos os estímulos utilizados foram em sua maior parte de 12C:12E com lâmpadas LED brancas, semelhante ao nosso estudo.

Por outro lado, nossos dados concordam com o obtidos por Yameen et al. (2020), os quais também não constaram alteração na eclodibilidade em ovos de matrizes de frango de corte (Cobb-500 e Ross-308) quando utilizaram fotoestimulação de 12h/dia (LED branca, 5000K, 250Lux).

Nossos resultados mostram que incubação dos ovos sob fotoestimulação diurna ou noturna contínua diminui altura de vilo, profundidade de cripta e espessura de parede duodenais, em comparação com a incubação sem fotoestimulação. No jejuno, a altura de vilo e a espessura de parede também foram menores com fotoestimulação, sendo a redução na altura de vilo mais acentuada com fotoestimulação noturna, do que com fotoestimulação diurna. No íleo, altura de vilo, profundidade de cripta e espessura de parede também diminuíram com a fotoestimulação contínua dos ovos, mas espessura de parede desse segmento intestinal foi menor apenas com fotoestimulação diurna. Além disso, a fotoestimulação influenciou o número de células caliciformes presentes no epitélio dos vilos duodenais, o qual aumentou 57% com fotoestimulação diurna e 118% com fotoestimulação noturna, comparado às contagens obtidas nos pintos de ovos incubados na ausência de luz, o que resultou em 38,5% a mais de número de

células caliciformes com fotoestimulação noturna do que com fotoestimulação diurna.

O fotoestímulo é transformado em sinais neuroendócrinos pela ação da melatonina (Luvone et al., 2005; Lewis e Morris, 2006). A melatonina intestinal age sobre a mucosa intestinal, tendo ação local autócrina e/ou parácrina sobre a proliferação celular nas criptas e atividade das células epiteliais dos vilos (Bubenik, 1980; Bubenik e Beown, 1997; Mukherjee e Maitra, 2015). Baixo nível de melatonina plasmática produzida pela glândula pineal aumenta a proliferação celular intestinal e vice-versa (Dalio et al, 2006). Considerando que alto nível de melatonina reduz proliferação celular intestinal e que esse alto nível ocorre quando não há fotoestimulação, é possível que a fotoestimulação contínua dos ovos, seja diurna ou noturna, tenha acarretado menor altura de vilos e profundidade de criptas nos segmentos intestinais. Tal hipótese, contudo, precisa ser testada. No entanto, fotoestimulação aumentou a proliferação de células caliciformes. Li et al. (2017) injetaram melatonina *in ovo* a partir do 12º dia de incubação e nos pintos até o 6º dia pós-eclosão (0,1-10 µg/dia), o que resultou em aumento no número de células caliciformes *alcian blue* positivas, na expressão de genes codificadores de mucina (MUC2). Injeção de melatonina exógena *in ovo* ou na ave, contudo, é um procedimento difícil e dispendioso, o que dificulta sua incorporação no manejo da incubação ou dos pintos. Dessa forma, aumento de melatonina induzida por fotoestimulação durante a incubação dos ovos pode se tornar uma alternativa. No momento, contudo, faltam dados de literatura sobre os efeitos da inserção de ciclo claro-escuro na incubação no desenvolvimento do trato gastrointestinal dos pintos.

Considerando que alto nível de melatonina pineal plasmática reduz proliferação celular intestinal e que alta produção de melatonina intestinal ocorre na fase clara do ciclo claro-escuro, é possível que uma maior produção de melatonina intestinal esteja sendo induzida pela fotoestimulação contínua dos ovos por 12h, reduzindo proliferação celular e acarretando a presença de vilos de menor tamanho e criptas menores nos segmentos intestinais dos pintos. Tal hipótese, contudo, precisa ser testada.

Ainda no presente estudo, a temperatura da casca dos ovos expostos à fotoestimulação noturna foi cerca de 0,2-0,3°C mais baixa do que a registrada para os ovos incubados sem fotoestimulação e os incubados com fotoestimulação diurna. Apesar dessa diferença de temperatura, diminuição do tamanho dos vilos e/ou criptas e/ou a espessura de parede nos segmentos intestinais ocorreu em ambos os tratamentos com fotoestimulação, indicando que essa diferença na temperatura da casca dos ovos não foi o fator influenciador sobre as características morfométricas de mucosa. Concordando com Barii et al. (2011) que também não observaram efeitos da temperatura sobre características morfométricas da mucosa intestinal. Duração da incubação também pode influenciar o desenvolvimento da mucosa intestinal (Sözcü et al., 2020). Todavia, fotoestimulação contínua diurna ou noturna não alterou a duração média da incubação, indicando que não houve efeito da duração no desenvolvimento *in ovo* sobre a mucosa intestinal dos pintos de ovos submetidos a fotoestimulação.

Embora eclodibilidade e duração média da incubação não tenham sido influenciados pela fotoestimulação, algumas alterações foram registradas na dinâmica de nascimentos dos pintos, que resultaram em menor janela de eclosão. Comparado a incubação na ausência de luz, fotoestimulação diurna aumentou a janela de eclosão em 1h e 45min, enquanto, que fotoestimulação noturna encurtou a janela de eclosão em 6h em consequência do início da eclosão deslocaram a curva de frequência de nascimentos para a esquerda. Janela de eclosão exerce papel importante na manutenção da qualidade e saúde dos pintos eclodidos até seu alojamento e acesso à água e ração (Referência), onde, longas janelas de eclosão resultam em significativa perda de qualidade dos pintos precoces, devido a perda de peso, desidratação e baixa atividade (Noy e Sklan, 1999; Careghi et al., 2005; Riccardi et al., 2011), o que gera heterogeneidade de qualidade e queda no desempenho entre as aves do mesmo lote (Bigot et al., 2003; van de Vem et al., 2011; Lamot et al., 2014; Powell et al., 2016). Diante de tal quadro clínico, janelas de eclosão curtas são desejáveis à medida que podem contribuir para manutenção da qualidade e sobrevivência dos pintos. Nesse contexto, nossos dados indicam potencial uso de fotoestimulação noturna para reduzir janela de eclosão. Todavia, os efeitos sobre a mucosa intestinal indicam que conhecimentos adicionais dos efeitos

do fotoestimulação noturna sobre o desenvolvimento pós-eclosão e desempenho dos pintos precisam ser obtidos.

5.CONCLUSÃO

Este estudo mostra que o uso de fotoestimulação contínua durante a incubação pode proporcionar aumento na quantidade de células caliciformes nos vilos intestinais. No entanto, pode provocar reduções na espessura de parede, altura dos vilos e profundidade das criptas intestinais. Além disso, o uso da fotoestimulação contínua tem potencial uso sem comprometimento na dinâmica de eclosão e nas características físicas dos pintos de corte.

Mais estudos sobre a fotoestimulação durante a incubação são necessários para verificar o efeito sobre o desenvolvimento in ovo e a dinâmica de eclosão.

6. REFERÊNCIAS

- Acuña-Castroviejo D, Crespo E, Martín M (1997) Melatonin as a cell neuroprotector: experimental and clinical studies. **J Physiol Biochem.** 53(1):54.
- Archer GS, Mench JA (2014) Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. **Appl Anim Behav Sci.** 2014. 152:44-51.
- Archer GS; Mench JA (2014) Natural incubation patterns and the effects of exposing eggs to light at various times during incubation on post-hatch fear and stress responses in broiler (meat) chickens. **Applied Animal Behavior Science.** 152:44–51.
- Archer, GS (2017) Exposing broiler eggs to green, red and white light during incubation. **Animal**, 11(7):1203–1209.
- Archer GS, Jeffrey D, Tucker Z (2017) Effect of the combination of white and red LED lighting during incubation on layer, broiler, and Pekin duck hatchability. **Poultry science**, v. 96, n. 8, p. 2670-2675.
- Barri, A, Honaker, CF, Sottosanti, JR, Hulet, R and McElroy, AP (2011) Effect of incubation temperature on nutrient transporters and small intestine morphology of broiler chickens. **Poultry Science** 90 :118–125.
- Bigot, K, Mignon-Grasteau, S, Picard, M, Tesseraud, S (2003) Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. **Poultry Science**, 82:781–788.
- Binkley SA (1979) Time-keeping enzyme in the pineal gland, **Science** 202 1198–1201.
- Bubenik GA, Brown GM (1997) Pinealectomy reduces the melatonin levels in the serum, but not in the gastrointestinal tract of rats. **Biol Signals**, 6(1):40-4.
- Bubenik GA (1980) Localization of melatonin in the digestive tract of the rat. Effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy. **Horm Res.** 12(6):313-23.
- Calil TAC (2007) Princípios básicos de incubação. **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Santos, Brasil. São Paulo: FACTA; 2007.
- Careghi, C., Tona, K., Onagbesan, O., Buyse, J., Decuypere, E., Bruggeman, V (2005) 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**, 84:1314–1320.

Csernus, V, Ghosh, M, & Mess, B (1998) Development and control of the circadian pacemaker for melatonin release in the chicken pineal gland. **General and comparative endocrinology**, 110(1), 19-28.

Dalio, MB, Haikel Júnior, LF, Dalio, RB, Pinto, APM, Silva, JC, Vespúcio, MVO, Garcia, SB (2006) A study of the effects of pinealectomy on intestinal cell proliferation in infant newborn rats. **Acta cirurgica brasileira**, 21, 16-20.

Geyra, A, Uni, Z, Sklan, D (2001) Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**. v.80, p.776–782.

Huether G (1993) The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin level in higher vertebrates. **Experientia**. 49:665-70.

Huth, JC, Archer, GS (2015) Comparison of Two LED Light Bulbs to a Dimmable COM-FEIL and their Effects on Broiler Chicken Growth, Stress, and Fear. **Poultry Science**. v.94, p.2027–2036.

Konturek SJ, Konturek P.C, Brzozowska I (2007) Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). **J Physiol. Pharmacol**. 58: 381-405.

Lamosová, D, Zeman, M, Mackova, M, Gwinner, E (1995) Development of rhythmic melatonin synthesis in cultured pineal glands and pineal cells isolated from chick embryo, **Experientia** 51, 970–975.

Lamot, DM, van de Linde, IB, Molenaar, R, van der Pol CW, Wijtten, PJ, Kemp, B, van den Brand, H (2014) Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science**, 93:2604–2614

Lewis P, Morris T (2006) **Physiology and mechanisms**. Pages 7–22 in Poultry Lighting: The Theory and Practice. Northcot, Hampshire, UK.

Mesquita, MA (2017) **Exposição de ovos de matrizes pesadas à luz monocromática durante a incubação artificial**. Tese (Doutorado em Zootecnia).

Mukherjee, S, & Maitra, SK (2015) Gut melatonin in vertebrates: chronobiology and physiology. **Frontiers in endocrinology**, 6, 112.

Narushin, VG (2005) Egg geometry calculation using the measurements of length and breadth. **Poultry Science**, 84 (3): 482-484

Noy, Y, Sklan, D (1999) Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, 78:1750–1756.

Ozaydin T, Celik I (2012) Histological, histochemical and immunohistochemical investigations on the developing small intestines of broilers embryos. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. v. 11, n. 16, p. 2936-2944.

Ozkan, S, Yalcin, S, Babacanoglu, E, Kozanoglu, H, Karadas, F, Uysal, S (2012a) Photoperiodic lighting (16 h of light: 8 h of dark) programs during incubation:1. Effects on growth and circadian physiological traits of embryos and early stress response of broiler chickens. **Poultry Science**, 91(11): 2912-2921.

Pandolfi, JRC, Mota, SCA (2021) Desenvolvimento precoce das mucosas intestinais e do status sanitário de aves por estímulos in ovo. **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em periódico indexado (ALICE)**.

Pang SF, Pang CS, Poon AMS (1996) An overview of melatonin and melatonin receptors in birds. **Poult Avian Biol Rev.** 7(4):217-228.

Powell, DJ, Velleman, SG, Cowieson, AJ, Singh, M, Muir, WI (2016) Influence of chick hatch time and access to feed on broiler muscle development. **Poultry Science**. 95:1433–1448.

Prescott NB, Wathes CM (1999) Spectral sensitivity of the domestic fowl. *British Poultry Science*. v.40, p.332-339.

R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.

Reis, TL (2018) Nutrição precoce de pintos de corte. *Ciência Animal*. 28(1), 82-97.

Riccardi, RR, Malheiros, EB, Boleli, IC (2011) Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to post-hatch fasting. **International Journal of Poultry Science**, 10(1):23–29.

Rozenboim, I, Y Piestun, N Mobarkey, M Barak, A Hoyzman, and O Halevy (2004) Monochromatic light stimuli during embryogenesis enhance embryo development and posthatch growth. **Poultry Science**, 83:1413–1419.

Shafey, TM, Al-mohsen T H (2002) Embryonic Growth, Hatching Time and Hatchability Performance of Meat Breeder Eggs Incubated under Continuous Green Light. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, 15(12):1702-1707.

Sözcü, A, İpek, AKahraman, MJ, İpek, V (2020) The effects of hatching time and feed access time on chick quality, organ development, blood parameters, and intestinal morphology in broilers. **Turk J Vet Anim Sci**, 44: 763-773.

Stringhini et al. (2013). Desenvolvimento do sistema digestório em aves. In 28º Reunião Anual do CBNA: **Congresso Sobre Nutrição de Animais Jovens–Aves e Suínos**.

Tanabe, Y, Doi, O, Nakamura, T (1993) Ontogenesis and photoperiodic regulation of the pineal hormone synthesis in the chicken (*Gallus domesticus*), **Acian Endocrinology, Japan Sci. Soc**, pp. 217–227.

Tona, K, Malheiros, RD, Bamelis, F, Careghi, C, Moraes, VMB, Onagbesan, O, Decuypere, E, Bruggeman, V (2003b) Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. **Poultry Science**, 82:840–845.

Uni Z, Smirnov ADS, klan (2003) Pre- and Posthatch Development of Goblet Cells in the Broiler Small Intestine: Effect of Delayed Access to Feed. **Poultry Science**. 82:320–327.

van de Ven, LJF, van Wageningen, AV, Debonne, M, Decuypere, E, Kemp, B, van den Brand, H (2011) Hatching system and time effects on broiler physiology and posthatch growth. **Poultry Science**, 90(6):1267–1275.

Vieira, B. S., Faria Filho, D. E., Torres, K. A. A., Borges, D. M., Rosa, P. S., & Furlan, R. L. (2006) Administração in ovo de glutamina e de lisina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos na primeira semana pós-eclosão. **Ars Veterinaria**, 22, 242-247.

Wang, Y, Li, Y, Willems, E, Willemsen, H, Franssens, L, Koppenol, A, Guo, X, Tona, K, Decuypere, E, Buyse, J, Everaert, N (2014) Spread of hatch and delayed feed access affect post hatchperformance of female broiler chicks up to day 5. **Animal**, 8(4):610-617.

Willemsen, H, Kamers, B, Dahlke, F, Han, H, Song, Z, Ansari Pirsaraei, Z, Tona, K, Decuypere, E, Everaert, N (2010) High-and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, 89(12): 2678–2690.

Yameen RMK, Hussain J, Mahmud A (2020) Effects of different light durations during incubation on hatching, subsequent growth, welfare, and meat quality traits among three broiler strains. **Trop Anim Health Prod**. 52:3639–3653.

Zhong, Z, Yu, Y, Jin, S, Pan, J (2018) Effects of mixing eggs of different initial incubation time on the hatching pattern, chick embryonic development and post-hatch performance. **PeerJ**, 6:e4634.