

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

**TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE CO₂ DURANTE A
INCUBAÇÃO INTERFEREM NA MORFOFISIOLOGIA DO
SISTEMA DIGESTÓRIO DE FRANGOS DE CORTE**

Lilian Francisco Arantes de Souza

Médica Veterinária

2013

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

**TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE CO₂ DURANTE A
INCUBAÇÃO INTERFEREM NA MORFOFISIOLOGIA DO
SISTEMA DIGESTÓRIO DE FRANGOS DE CORTE**

Lilian Francisco Arantes de Souza

Orientador: Prof. Dr. Renato Luis Furlan

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Macari

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

S729t Souza, Lilian Francisco Arantes de
Temperatura e concentração de CO₂ durante a incubação
interferem na morfofisiologia do sistema digestório de frangos de
corte. / Lilian Francisco Arantes de Souza. – – Jaboticabal, 2013
xiv, 141 f. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

Orientador: Renato Luis Furlan

Banca examinadora: Isabel Cristina Boleli, Lizandra Amoroso,
José Fernando Machado Menten, José Roberto Sartori

Bibliografia

1. Digestão. 2. Eclodibilidade. 3. Hipercapnia. 4. Temperatura I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.082.47

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE CO₂ DURANTE A INCUBAÇÃO IN
TERFEREM NA MORFOFISIOLOGIA DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE FRAN
GOS DE CORTE

AUTORA: LILIAN FRANCISCO ARANTES DE SOUZA

ORIENTADOR: Prof. Dr. RENATO LUIS FURLAN

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. MARCOS MACARI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, pela
Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RENATO LUIS FURLAN

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
de Jaboticabal

Profa. Dra. ISABEL CRISTINA BOLELI

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
de Jaboticabal

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
de Jaboticabal

Prof. Dr. JOSE FERNANDO MACHADO MENTEN

Universidade de São Paulo / Piracicaba/SP

Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO SARTORI

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia de Botucatu

Data da realização: 06 de fevereiro de 2013.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LILIAN FRANCISCO ARANTES DE SOUZA – nascida na cidade de Barretos/SP aos 28 de setembro de 1981. Ingressou na Universidade Estadual de Londrina – UEL em fevereiro de 2001, colando grau de Médica Veterinária em janeiro de 2006. Em agosto do mesmo ano iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, campus de Jaboticabal, sendo aprovada pela banca examinadora em janeiro de 2009. Em março de 2009 iniciou o curso de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, campus de Jaboticabal sendo aprovada pela banca examinadora em fevereiro de 2013.

“Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte
Mais feliz, quem sabe
Eu só levo a certeza de que muito pouco eu sei
E nada sei
Conhecer as manhas e as manhãs
O sabor das massas e das maçãs
É preciso amor pra poder pulsar
É preciso paz pra poder seguir
É preciso chuva para florir
Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha
E ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada
Eu sou, estrada eu vou
Conhecer as manhas e as manhãs
O sabor das massas e das maçãs
É preciso amor pra poder pulsar
É preciso paz pra poder sorrir
É preciso chuva para florir
Todo mundo ama um dia
Todo mundo chora
Um dia a gente chega
Um outro vai embora
Cada um de nós compõe a sua história
E cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz...”

Almir Sater e Renato Teixeira

Dedicatória

Dedico essa tese ao Professor Doutor Marcos Macari, por sua generosidade e contribuição com minha formação. Meu grande exemplo profissional.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por todas as graças recebidas diariamente, pelo aprendizado constante e por minha linda família.

Ao Professor Doutor Renato Luis Furlan pela compreensão e orientação.

Ao Professor Doutor Marcos Macari pela inestimável ajuda, desde a elaboração do projeto até a discussão dos resultados. Minha eterna gratidão e admiração.

Ao Professor Doutor João Martins Pizauro Júnior, por sua atenção e paciência, contribuindo para minha formação desde o mestrado.

Às Professoras Doutoras Kênia Cardoso Bícego e Luciane Helena Gargaglione Batalhão pela valiosa contribuição, amizade e solidariedade. Não tenho palavras para agradecer a ajuda de vocês.

Aos Professores Doutores Isabel Cristina Boleli, Lizandra Amoroso, José Fernando Machado Menten e José Roberto Sartori pelas valiosas contribuições como membros da banca.

À Professora Doutora Silvana Martinez Baraldi Artoni pelas contribuições no Exame Geral de Qualificação.

Ao meu alicerce familiar. Primeiramente à minha mãe, Haideé Francisco Arantes de Souza, meu grande exemplo de força, por seu apoio constante, amor incondicional, dedicação e valiosa ajuda com o experimento e análises laboratoriais. Ao meu pai, Izaú Arantes de Souza Filho, por seu carinho, interesse e apoio diário. Aos meus queridos irmãos, Lucas, Lígia e Lívia Francisco Arantes de Souza, que me ensinaram o valor da amizade eterna e são grandes exemplos para mim. Eu amo muito cada um de vocês.

Ao meu amor, Daniel Alexandre Ramiro, pela força e dedicação nos momentos mais difíceis, quando eu achei que não iria conseguir você esteve ao meu lado, trazendo paz, tranquilidade e confiança. Monstro, minha vida é muito feliz com você fazendo parte dela. Eu amo muito você.

Às minhas grandes amigas Lara Silva do Amaral, Bárbara Rodrigues Nogueira e Lívia Pegoraro Espinha, pela inestimável ajuda. Vocês foram grandes

companheiras durante todos os momentos e serei eternamente grata a vocês. Contem sempre comigo.

Aos queridos amigos e companheiros de jornada, Aretuza Carregari Capalbo, Fabrício Hirota Hada, Eduardo Alves de Almeida, Paula Toro Velasquez, Daniel Mendes Borges Campos, Wedson Carlos Lima Nogueira, Miguel Frederico Fernandez Alarcon, Fernando Augusto de Souza, Miryelle Freire Sarcinelli, Katiane Silva Venturini, César Martoreli da Silveira, Marcos Gonçalves de Souza, Viviane de Souza Morita, Vitor Rosa de Almeida, Tamiris Iara Vicentini e Raquel Lunedo, pela valiosa e indispensável ajuda na condução dos experimentos e análises laboratoriais, além dos agradáveis momentos de convivência. Muito obrigada, sem vocês seria impossível.

À Ligia Francisco Arantes de Souza pela ajuda com a revisão e fotos de microscopia.

Ao Professor Doutor João Waine Pinheiro, pelos conhecimentos transmitidos na graduação, pelo contato com a avicultura e por ser um exemplo pra mim.

Aos alunos do Colégio Técnico Agrícola “José Bonifácio” Kaiki Henrique de Almeida da Silva, Laura Silva Penariol, Marina Carla Bezerra e Jéssica Cristina dos Santos Marques, pela ajuda na condução dos experimentos.

À família Ramiro, Iraci Guadanhin Ramiro (Dê), Senhor Sebastião Ramiro e Elisa Santana Ramiro por me acolherem como parte da família.

À equipe do Laboratório de Bioquímica do Departamento de Tecnologia. À querida Fátima Aparecida Ribeiro Harnich pela valiosa ajuda e amizade desde o mestrado. Fá, você é especial. Cecília Maria Costa do Amaral, Luiz Flávio José dos Santos, Adriano Marques Gonçalves, Caroline Carla Santana, Maria Cecília Pereira e Rafael Rodrigues Colosio, minha gratidão pelas análises enzimáticas.

À querida Claudinha, pela amizade, atenção e grande ajuda nas análises de varredura. Muito obrigada, Claudinha.

Ao senhor Orandi, pelos ensinamentos transmitidos e pela alegria e paciência.

Ao Euclides pelo grande apoio durante todos os momentos e pela agradável convivência.

Ao Robson e Izildo, do Setor de Avicultura pela ajuda durante o período experimental.

À Ana Claudia Ambiel Corral Camargo, pelo grande apoio nos últimos quatro anos. Serei eternamente grata por sua amizade e confiança, sem os quais esse período seria muito mais difícil. Meu carinho e gratidão.

A minha querida amiga Denise Nunes Araújo, pela ajuda indireta e pela agradável amizade. Gorducha, sinto muito sua falta.

Às minhas queridas amigas Vivian Biancardi, Brisa Fregonesi, Vanessa de Souza Moreno e Marilice Zundt. A amizade torna os momentos difíceis mais leves.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa, pela bolsa concedida.

A todas as pessoas que participaram de minha vida contribuindo para minha formação profissional e pessoal.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2 – TEMPERATURAS DE INCUBAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO MORFOFISIOLÓGICO DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE FETOS E PINTOS DE MATRIZES PESADAS DE DIFERENTES IDADES.....	19
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	30
DISCUSSÃO.....	66
CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
CAPÍTULO 3 – CONCENTRAÇÕES DE CO ₂ DURANTE A INCUBAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO MORFOFISIOLÓGICO DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE FETOS E PINTOS ORIUNDOS DE OVOS DE MATRIZES DE DIFERENTES IDADES.....	83
INTRODUÇÃO.....	85
MATERIAL E MÉTODOS.....	86
RESULTADOS.....	93
DISCUSSÃO.....	128
CONCLUSÃO.....	134
REFERÊNCIAS.....	135
CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES.....	141



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 025330/12 do trabalho de pesquisa intitulado "**Parâmetros da incubação e desenvolvimento do sistema digestório de frangos de corte incubados em diferentes temperaturas e níveis de CO₂**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Renato Luis Furlan está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 08 de novembro de 2012.

Jaboticabal, 08 de novembro de 2012.

Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE CO₂ DURANTE A INCUBAÇÃO INTERFEREM NA MORFOFISIOLOGIA DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura e da concentração de CO₂ durante a incubação sobre o desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de frangos de corte durante a fase fetal e pré-inicial. Foram realizados dois experimentos, cada um com 1296 ovos férteis de matrizes Cobb, metade com 35 semanas (jovens) e metade com 55 semanas (velhas). No experimento 1 os ovos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em três incubadoras mantidas a 37,5°C até o nono dia de incubação. A partir do décimo dia as temperaturas foram alteradas correspondendo a 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C em cada incubadora até o final da incubação. No experimento 2 os ovos foram distribuídos em DIC em três incubadoras, uma mantida sem injeção de CO₂ durante todo o período de incubação e as outras receberam injeções contínuas e crescentes de CO₂ até atingir 1% e 1,5% de CO₂ cada uma, até o décimo dia de incubação. Todas as incubadoras foram mantidas em condições normais de ventilação durante todo o período de incubação. Foram avaliados: eclodibilidade, eclosão, qualidade do pinto, o período médio e a duração de bicagem interna, externa e nascimento, o crescimento alométrico dos órgãos do sistema digestório dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida), o desenvolvimento da mucosa intestinal dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida) e a atividade de enzimas pancreáticas dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida). No experimento 1, não houve efeito das temperaturas de incubação sobre a eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos nas duas idades de matrizes avaliadas. As temperaturas de incubação de 38,5°C e 36,5°C causaram, respectivamente, diminuição e aumento do período médio de bicagem interna, externa e nascimento. O peso dos fetos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C apresentou-se menor em relação à temperatura de 37,5°C aos 18 dias, bem como aos 20 dias para fetos de matrizes de 35 e 55 semanas. Fetos aos 20 dias e pintos de 1 dia de matrizes de 35 semanas incubados em 36,5°C e 38,5°C apresentaram maior porcentagem de vitelo. Aos 16 dias, a incubação em temperatura de 36,5°C resultou em menor porcentagem de pâncreas e moela nos fetos de matrizes de 35 e 55 semanas, respectivamente. Aos 16 e 20 dias a incubação em temperatura de 36,5°C causou menor porcentagem de intestinos nos fetos de matrizes de 35 semanas. A incubação em temperatura de 38,5°C e 36,5°C influenciaram negativamente a altura e densidade dos vilos nos segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) com maior intensidade para 36,5°C, nas duas idades de matrizes avaliadas, principalmente na fase fetal e nos pintos recém-eclodidos. A incubação em temperatura de 36,5°C prejudicou a atividade enzimática total e específica da amilase e tripsina. No experimento 2, as condições de incubação utilizadas não influenciaram a eclodibilidade, eclosão ou qualidade dos pintos. Entretanto, a concentração de 1,5% de CO₂ prolongou no período médio de bicagem interna, externa e nascimento em relação aos grupos controle e em concentração de 1% de CO₂. Aos 16 dias de incubação, observou-se maior peso dos fetos de matrizes de 35 semanas incubados em 1% de CO₂ em comparação ao controle, ambos não diferindo de 1,5%. Pintos de 1 dia oriundo de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em 1,5% de CO₂ apresentaram maior proporção de vitelo

e menor porcentagem de moela, pâncreas e intestino. Aos 7 dias, a incubação em 1,5% de CO₂ causou redução na porcentagem de intestinos em pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas em comparação ao grupo controle e à concentração de 1% de CO₂. Nas duas idades de matrizes, a incubação em 1% de CO₂ estimulou o desenvolvimento dos vilos intestinais em fetos e pintos após a eclosão por meio de aumento na altura dos vilos e menor densidade de vilos no intestino delgado, enquanto a concentração de 1,5% prejudicou esses parâmetros. Pintos de 1 dia provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ de 1% apresentaram maior atividade de amilase total e tripsina total em relação aos pintos incubados em 1,5%, ambos não diferindo do controle. Independentemente da idade da matriz, aos 7 dias, a incubação em 1,5% resultou em menor atividade de amilase específica e total em relação ao controle e à concentração de 1%. Assim, a incubação em temperatura de 36,5°C ou 38,5°C afetou negativamente o desenvolvimento digestório em fetos e pintos, bem como a incubação em concentração de 1,5% de CO₂. Por outro lado, a incubação em concentração de 1% de CO₂ nos primeiros 10 dias influenciou positivamente o desenvolvimento do sistema digestório em fetos em pintos.

Palavras-chave: digestão, eclodibilidade, hipercapnia, temperatura

TEMPERATURE AND CO₂ CONCENTRATION DURING INCUBATION AFFECT THE MORPHOPHYSIOLOGY OF DIGESTIVE SYSTEM OF BROILER CHICKEN

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effect of temperature and CO₂ concentration during incubation on morphophysiological development of digestive system of broiler breeders during fetal and pre-starter stages. Two experiments were conducted, each with 1296 fertile eggs of Cobb broiler breeders, half at 35 weeks (young) and half at 55 weeks (old). In experiment 1, the eggs were distributed in a completely randomized design in three incubators maintained at 37.5°C until the ninth day of incubation. From the tenth day the temperatures were changed to 36.5°C, 37.5°C and 38.5°C in each incubator until the end of incubation. In experiment 2, the eggs were divided in completely randomized design in three incubators, one group was maintained without CO₂ injection during the whole incubation period and other groups received CO₂ increasing and continuous injections until CO₂ concentration reached 1% for the first and 1.5% for the second, until the tenth days of incubation. All incubators were kept under normal conditions of ventilation during the entire incubation period. Was evaluated: hatchability, hatching, chick quality, the average time and duration of internal and external pecking and birth, allometric growth of fetuses digestive organs (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks digestive organs (1, 4 and 7 days of life), the intestinal mucosa development of fetuses (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks (1, 4 and 7 days old) and the activity of chicks pancreatic enzymes (1, 4 and 7 days of life). In experiment 1, there was no effect of incubation temperatures on hatching, hatchability and chick quality regardless of the age of the breeder. The incubation in 38.5°C and 36.5°C temperatures caused respectively a decrease and increase in the average period of internal and external pecking and birth. The weight of 35 weeks breeders fetuses, incubated in cold temperature, was lower than for the control temperature at 18 days, just as the weight at 20 days of 35 and 55 weeks breeders fetuses. 20 days fetuses and 1 day old chicks of 35 weeks breeders, incubated at 36.5°C and 38.5°C, had higher yolk sac. At 16 days, incubation in 36.5°C resulted in a lower rate of pancreas and gizzard of 35 and 55 weeks breeders, respectively. At 16 and 20 days the incubation in 36.5°C caused a lower rate of intestines in fetuses of 35 weeks broiler breeders. The incubation in 36.5°C or 38.5°C influenced negatively the height and density of villi in intestinal segments (duodenum, jejunum and ileum) with higher intensity in 36.5°C, regardless of the broiler breeders age, mainly in fetal stage and in newly hatched chicks. Incubation in 36.5°C damaged the total and specific enzyme activity of amylase and trypsin. In experiment 2, the incubation conditions used did not affect hatchability, hatching and chick quality. However, 1.5% CO₂ concentration caused an elongation at the average period of internal and external pipping and birth compared to the control groups and to 1% CO₂ concentration. At 16 days of incubation, there was an increase in the fetuses weight of 35 weeks breeders, incubated in 1% CO₂ concentration, in comparison to the control, neither of differing 1.5%. 1 day old chicks from eggs of 35 weeks breeders, incubated in 1.5% CO₂ concentration, had higher proportion of yolk and lowest percentage of gizzard, pancreas and intestine. At 7 days, the incubation in 1.5% CO₂ concentration caused a reduction in the rate of intestine in chicks from eggs of 35 weeks breeders compared to the control group and to the group in 1% CO₂

concentration. Regardless of breeders' age, incubation in 1% CO₂ concentration stimulated the development of intestinal villi in fetuses and post-hatch chicks by increasing villous height and lower density of small intestine villi, while the 1.5% concentration of CO₂ decreased these parameters. 1 day old chicks from 35 weeks breeder incubated in 1% CO₂ concentration, had higher activity of total amylase and total trypsin than in chicks incubated in 1.5% CO₂ concentration, both not different from the control group. Regardless of breeder age, at 7 days the incubation in 1.5% resulted in lower activity of specific and total amylase in comparison to control group and the 1% CO₂ concentration group. Thus, the incubation at 36.5, 37.5°C and 1.5% CO₂ affects negatively the digestive development in fetuses and chicks, but the incubation in 1% CO₂ concentration in the first 10 days can influence positively the digestive system development in fetuses and chicks.

Keywords: digestion, hatchability, hypercapnia, temperature

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

	Página
Tabela 1 - Atribuição dos escores a diferentes parâmetros observados.....	24
Tabela 2 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.....	30
Tabela 3 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.....	30
Tabela 4 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas.....	30
Tabela 5 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas.....	31
Tabela 6 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação.....	33
Tabela 7 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação.....	33
Tabela 8 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 18 dias de incubação.....	34
Tabela 9 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 18 dias de incubação.....	34
Tabela 10 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 20 dias de incubação.....	34
Tabela 11 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 20 dias de incubação.....	35
Tabela 12 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 1 dia de vida.....	35

Tabela 13 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 1 dia de vida.....36

Tabela 14 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 4 dias de vida.....36

Tabela 15 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 4 dias de vida.....37

Tabela 16 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 7 dias de vida.....37

Tabela 17 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 7 dias de vida.....37

Tabela 18 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas.....53

Tabela 19 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas.....53

Tabela 20 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/ mm^2) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.....55

Tabela 21 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/ mm^2) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.....56

Tabela 22 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.....65

Tabela 23 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.....65

CAPÍTULO 3

	Página
Tabela 1 - Atribuição dos escores a diferentes parâmetros observados.....	88
Tabela 2 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.....	94
Tabela 3 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.....	94
Tabela 4 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas.....	95
Tabela 5 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas.....	95
Tabela 6 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 16 dias de incubação.....	97
Tabela 7 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 16 dias de incubação.....	97
Tabela 8 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 18 dias de incubação.....	97
Tabela 9 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 18 dias de incubação.....	98
Tabela 10 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 20 dias de incubação.....	98
Tabela 11 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ aos 20 dias de incubação.....	98
Tabela 12 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO ₂ com 1 dia de vida.....	99

Tabela 13 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 1 dia de vida.....99

Tabela 14 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 4 dias de vida.....99

Tabela 15 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 4 dias de vida.....100

Tabela 16 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 7 dias de vida.....100

Tabela 17 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 7 dias de vida.....101

Tabela 18 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂.....117

Tabela 19 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂.....117

Tabela 20 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.....118

Tabela 21 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.....118

Tabela 22 – Atividade enzimática específica (U.mg⁻¹) e total (U.g⁻¹) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.....127

Tabela 23 – Atividade enzimática específica (U.mg⁻¹) e total (U.g⁻¹) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.....127

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

	Página
Figura 1 – Distribuição da eclosão (%) em relação à duração da incubação (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes novas (A) e velhas (B) incubados em temperatura de 36,5°C —, 37,5°C — e 38,5°C —.....	32
Figura 2 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos de matrizes jovens e velhas incubados em temperatura de 36,5°C —, 37,5°C — e 38,5°C —, aos 16, 18 e 20 dias de incubação.....	39
Figura 3 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de pintos de matrizes jovens e velhas incubados em temperatura de 36,5°C —, 37,5°C — e 38,5°C —, aos 1, 4 e 7 dias de idade.....	40
Figura 4 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	41
Figura 5 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	42
Figura 6 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	43
Figura 7 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	44
Figura 8 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	45
Figura 9 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	46
Figura 10 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	47
Figura 11 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....	48

- Figura 12** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....49
- Figura 13** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....50
- Figura 14** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....51
- Figura 15** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....52
- Figura 16** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....57
- Figura 17** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....58
- Figura 18** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....59
- Figura 19** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....60
- Figura 20** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....61
- Figura 21** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....62
- Figura 22** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....63
- Figura 23** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C.....64

CAPÍTULO 3

	Página
Figura 1 - Concentrações de CO ₂ durante o processo de incubação.....	86
Figura 2 – Distribuição da eclosão (%) em relação à duração da incubação (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes novas (A) e velhas (B) incubados em concentração de CO ₂ controle —■—, 1% —▲— e 1,5% —●—.....	96
Figura 3 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos de matrizes jovens e velhas incubados em concentração de CO ₂ controle —■—, 1% —▲— e 1,5% —●— aos 16, 18 e 20 dias de incubação.....	103
Figura 4 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de pintos de matrizes jovens e velhas incubados em concentração de CO ₂ controle —■—, 1% —▲— e 1,5% —●—, aos 1, 4 e 7 dias de idade.....	104
Figura 5 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	105
Figura 6 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	106
Figura 7 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	107
Figura 8 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	108
Figura 9 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	109
Figura 10 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	110
Figura 11 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	111
Figura 12 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO ₂ controle, 1% e 1,5%.....	112

- Figura 13** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....113
- Figura 14** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....114
- Figura 15** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....115
- Figura 16** – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....116
- Figura 17** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....119
- Figura 18** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....120
- Figura 19** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....121
- Figura 20** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....122
- Figura 21** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....123
- Figura 22** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....124
- Figura 23** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....125
- Figura 24** - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5%.....126

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

A indústria avícola mundial deverá atender ao aumento na demanda por alimentos. A população mundial está em crescimento e as maiores taxas são observadas nos países em desenvolvimento. Neste sentido, a carne de frango se destaca como fonte de proteína de boa qualidade. Segundo Windhorst (2006), nos últimos 30 anos, o crescimento da produção de carne de frango superou a da carne suína e bovina, em 2 e 7,5 vezes, respectivamente. A carne de frango apresenta vários aspectos positivos que justificam tal crescimento. Um primeiro ponto está relacionado às restrições religiosas ou culturais ao consumo de carnes. Sabe-se que a carne suína apresenta restrições em seu consumo para os judeus e muçulmanos e que os indianos não consomem carne bovina. Outro aspecto positivo está relacionado ao baixo preço da carne de frango em relação às outras carnes. De acordo com o USDA (2011), nos últimos anos as carnes bovina e suína apresentaram preços 200 e 150% superiores ao da carne de frango no varejo, respectivamente. Ainda, a carne de frango é considerada de boa qualidade (FLETCHER, 2002) e não está associada ao desenvolvimento de câncer colorretal em comparação às carnes vermelhas (ENGLISH et al., 2004). Além disso, em relação aos outros tipos de carne, a carne de frango é considerada causadora de menor impacto ambiental (VRIES & BOER, 2010).

Para atender à crescente demanda na produção, a avicultura vem mostrando maior produtividade e, grande parte deste cenário deve-se ao melhoramento genético que busca constantes avanços no desempenho do frango de corte. Havenstein et al. (2003) observaram a evolução do desempenho de frangos de corte nas últimas décadas evidenciando aumento no peso vivo, melhora na conversão alimentar, redução da mortalidade e drástica redução na idade ao abate.

A duração do período de incubação do ovo de galinha é de aproximadamente 21 dias. Sabendo-se que a idade ao abate do frango de corte atualmente é de aproximadamente 42 dias, o período de incubação representa um terço do tempo de vida dessa ave. Em virtude de tais fatos, atualmente, a incubação vem recebendo atenção especial dos pesquisadores. As perspectivas futuras são de redução na idade ao abate e, conseqüentemente, o período de incubação será cada vez mais significativo para a avicultura de corte. A incubação artificial é ponto fundamental da

avicultura industrial permitindo a produção de pintos em escala. Algumas condições são imprescindíveis para o adequado desenvolvimento embrionário e devem ser mantidas dentro de padrões considerados ideais. As principais condições observadas durante a incubação são temperatura, umidade, viragem e ventilação. A temperatura e o ambiente gasoso na incubação alteram a taxa de desenvolvimento embrionário (MORTOLA, 2009).

O desenvolvimento embrionário tem início no oviduto da galinha e a partir daí passa a sofrer ação do ambiente. O fator ambiental mais importante durante o processo de incubação é a temperatura (DECUYPERE & MICHELS, 1992). De acordo com Decuypere e Bruggeman (2007) a temperatura ótima para incubação está situada entre 37 e 38°C, sendo importante para o desenvolvimento embrionário, sucesso da incubação e desempenho pós-eclosão. Segundo Romijn e Lokhorst (1955) a temperatura corporal do embrião é regulada pela temperatura da incubadora, já que o embrião não é capaz de controlar sua temperatura antes de completar o processo de incubação. De acordo com French (1997) os ovos absorvem calor do ar circundante durante a primeira metade de incubação e precisam perder calor na segunda metade, quando a produção de calor pelo embrião aumenta.

Muitos trabalhos demonstram os efeitos da redução e aumento da temperatura durante diferentes fases da incubação (HULET et al., 2007; LOURENS et al., 2005; MORITA et al., 2010). Nesse sentido, a busca por uma temperatura ideal para incubação é importante para a obtenção da máxima eclodibilidade (FRENCH, 1997) e para a melhor qualidade do pinto (DECUYPERE & MICHELS, 1992).

O efeito de mudanças na temperatura de incubação depende da intensidade, da duração da exposição e do período onde é aplicada (FRENCH, 1997). Assim, mudanças crônicas podem resultar em melhoras, prejuízos ou não influenciar o desempenho da incubação. Christensen et al. (2002) mostraram que a redução da temperatura de incubação piorou ou não influenciou a eclodibilidade dos ovos, dependendo da linhagem de perus utilizada e Tzschentke e Halle (2008) também verificaram que o aumento em 1°C nos últimos 4 dias de incubação não afetou a eclodibilidade. Já, Molenaar et al. (2011) encontraram piora da eclodibilidade com o

aumento da temperatura em 1 °C entre 7 e 19 dias de incubação e Piestun et al. (2008) observaram piora da eclodibilidade e outros parâmetros de desempenho com a incubação em 39,5°C. Morita et al. (2010) relataram menor mortalidade embrionária total com a redução na temperatura de incubação em 1,5°C. Por outro lado, Lourens et al. (2005) concluíram que redução da temperatura durante a primeira semana de incubação ou aumento na última semana causam atraso no desenvolvimento embrionário, aumento da mortalidade embrionária, piora na qualidade dos pintos, diminuição na eclodibilidade e redução no crescimento pós-eclosão.

A taxa de desenvolvimento embrionário também é bastante influenciada por mudanças na temperatura de incubação (MOLENAAR et al., 2011; YALCIN et al., 2012). O tempo de desenvolvimento embrionário depende do tamanho do ovo e da temperatura de incubação (GILLOOLY et al., 2002). Assim, altas temperaturas de incubação resultam em desenvolvimento acelerado dos embriões (CHRISTENSEN et al., 1999), bem como a incubação em temperaturas inferiores remete a períodos mais longos (YALCIN et al., 2012). Variações na temperatura também resultam em redução do peso corporal das aves quando incubados em temperatura baixa (KUHN et al., 1982) ou alta (LOURENS et al., 2005; PIESTUN et al., 2008), além de prejudicar o desenvolvimento de órgãos vitais como coração e pulmão (MOLENAAR et al., 2011) e do sistema digestório (LEKSRISOMPONG et al., 2007; MOLENAAR et al., 2011; WINELAND et al., 2006).

Os hormônios tireoidianos participam do desenvolvimento de vários órgãos, como o cérebro (KOIBUCHI & CHIN, 2000), pulmões (HITCHCOCK, 1979), intestinos (PLATEROTI et al., 2001), inclusive do intestino de espécies avícolas (BLACK, 1978). Os hormônios tireoidianos estão diretamente relacionados com a eclosão (LU et al., 2007) e a temperatura de incubação pode influenciar a concentração plasmáticas desses hormônios. A redução na temperatura de incubação resulta em aumento nas concentrações plasmáticas de triiodotironina (T3) durante o período de incubação (KUHN et al., 1982; YALCIN et al., 2012), entretanto, essa resposta varia em função da genética das aves (CHRISTENSEN et al., 2002) e da idade da matriz (YALCIN et al., 2012). Por outro lado, a incubação em alta temperatura, ocasiona reduções nas concentrações de T3, T4 (tiroxina) e

corticosterona (PIESTUN et al., 2009). Ainda, Christensen et al. (2001) relataram maiores concentrações plasmáticas de IGF-I e IGF-II (Insuline-Like Growth Factor I e II) e de glicose sanguínea em embriões de perus incubados em altas temperaturas. De acordo com Stewart e Rotwein (1996) IGF-I e IGF-II possuem papel importante no desenvolvimento de embriões e fetos e atuam sobre a maturação de tecidos.

Nesse sentido, as consequências de alterações na temperatura de incubação sobre o desenvolvimento de órgãos do sistema digestório vêm sendo investigadas, embora existam poucos trabalhos relacionados com esse sistema (LEKSRIOMPONG et al., 2007; MOLENAAR et al., 2011; WINELAND et al., 2006) e alguns autores encontraram dificuldade para explicar o efeito da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento desse órgãos sugerindo a necessidade de novas investigações sobre o assunto (LEKSRIOMPONG et al., 2007). Entretanto, pouco se sabe a respeito dos efeitos de diferentes temperaturas de incubação sobre a mucosa intestinal ou sobre a atividade exócrina pancreática.

Além da temperatura, os fatores relacionados à ventilação durante a incubação vêm sendo muito pesquisados atualmente, seja em relação ao oxigênio ou ao dióxido de carbono. A hipóxia durante a incubação vem sendo estudada principalmente com o objetivo de manipular a capacidade termorregulatória (AZZAN et al., 2007) e ventilatória das aves (FERNER & MORTOLA, 2009). Em relação à hipercapnia, estudos mostram que dependendo do tempo de incubação, níveis mais elevados de CO₂ estão associados à pior eclodibilidade (TAYLOR et al., 1956; TAYLOR & KREUTZIGER 1965, 1966). Entretanto, atualmente as pesquisas mostram resultados positivos associados a maiores níveis de CO₂ durante a incubação. Tanto os efeitos da hipóxia como da hipercapnia, dependem da concentração e da fase de desenvolvimento que o embrião é exposto (DECUYPERE et al., 2006). A hipercapnia durante a incubação estimula a angiogênese (VERHOELST et al., 2011b), além de melhorar os índices produtivos da incubação e a qualidade dos pintos. Buys et al. (1998) trabalharam com aumento do concentração de CO₂ (0,4%) no final da incubação (14 a 19 dias) e verificaram menor mortalidade por ascite, redução no tempo de incubação e aumento do peso dos pintos em aves com maior sensibilidade à ascite. Outros autores obtiveram

melhora na eclodibilidade e menor duração da incubação utilizando aumento gradual na concentração de CO₂ (1 e 1,5%) durante os primeiros 10 dias de incubação (DE SMIT et al. 2006). Da mesma forma, Bruggeman et al. (2007) concluíram que a utilização de concentração crescente de CO₂ (1,5%) nos primeiros 10 dias de incubação causou aumento do peso do embrião redução no tempo de incubação. Já Everaert et al. (2007) utilizaram concentração crescente de CO₂ (2 a 4%) no período final de incubação (10 a 18 dias) e sugeriram que os embriões toleram tal concentração de hipercapnia, já que não houve prejuízo na taxa de crescimento dos embriões e na eclodibilidade, embora os pintos tenham apresentado maiores concentrações de corticosterona e tiroxina. Decuypere e Bruggeman (2007) relatam o aumento no interesse pelas investigações a respeito do ambiente gasoso nas fases iniciais e finais da incubação envolvendo CO₂ e O₂, sugerindo que práticas podem melhorar o desempenho da incubação.

Assim como a temperatura, a ventilação também interfere nas concentrações de hormônios tireoidianos. Buys et al. (1998) e De Smit et al. (2006) evidenciaram a relação entre a incubação em condições de hipercapnia e as concentrações plasmáticas de T3 e corticosterona. Esses hormônios estão associados à taxa de desenvolvimento embrionário (DECUYPERE et al., 1991), além de envolvidos com o crescimento e maturação funcional do intestino de embriões de aves (BLACK, 1978).

Ainda, condições de hipercapnia durante a incubação estimulam a vascularização na membrana corioalantóide durante o desenvolvimento embrionário (VERHOELST et al., 2011). A vasculogênese é o processo de surgimento dos primeiros vasos sanguíneos no embrião (RISAU, 1997) e é importante no desenvolvimento vascular intestinal (PARDANAUD et al., 1989). Assim, em humanos, muitos vasos são formados e se conectam a artéria mesentérica superior dando origem à vascularização intestinal presente na vida adulta (ARA et al., 2005). Inclusive, essa irrigação e drenagem é encontrada nas vilosidades intestinais (CHEN et al., 2003).

Assim como para a temperatura de incubação, pouco se sabe a respeito dos efeitos da incubação em condições de hipercapnia sobre a mucosa intestinal ou atividade pancreática exócrina das aves.

A sobrevivência, o desenvolvimento e o desempenho das aves dependem da obtenção de energia e nutrientes. Durante a incubação, os nutrientes necessários para garantir a formação dos órgãos e tecidos corporais são provenientes do vitelo (LITKE & LOW, 1975) e do albúmen (DEEMING, 1989). Após a eclosão, a nutrição passa a ser dependente dos alimentos fornecidos aos animais. Portanto, quando as reservas provenientes do ovo se esgotam, o sistema digestório passa a ser responsável pela nutrição da ave (VIEIRA & MORAN JR, 1999). Ainda, atualmente os frangos de corte apresentam alta taxa de crescimento, que é bastante influenciada pelo desenvolvimento do sistema digestório (SMITH et al., 1990). Nesse sentido, estratégias que melhorem o desenvolvimento do trato gastrointestinal são válidas para melhorar o processo de digestão e absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, o desenvolvimento e desempenho das aves durante todo seu ciclo de vida.

A mucosa intestinal é responsável pela secreção de enzimas e pela absorção dos nutrientes. De acordo com Gomide Junior et al. (2004), avaliações da qualitativas e quantitativas da mucosa intestinal são válidas para analisar a capacidade de digestão e absorção intestinal. Ainda, Cera et al. (1988) relatam que a máxima capacidade digestiva e absorptiva de suínos ocorre em função da área luminal, altura das vilosidades intestinais e maturidade dos enterócitos. Fatores externos afetam a mucosa intestinal que responde por meio de modificações morfológicas em suas estruturas como altura dos vilos, profundidade das criptas e proliferação celular (GOMIDE JUNIOR et al., 2004). Assim como a mucosa intestinal, segundo Noy e Sklan (1995) a digestão das macromoléculas depende da hidrólise enzimática para que os nutrientes sejam absorvidos.

De um modo geral, a organogênese ocorre durante o início da incubação (LILJA & OLSSON, 1987) e maturação entre o final da incubação e as primeiras semanas pós-eclosão (CHRISTENSEN et al., 2001). Em relação à mucosa intestinal, os precursores dos vilos intestinais surgem apenas após oito dias de incubação, que apresentam aparência de vilos apenas após 16 dias de desenvolvimento (COULOMBRE & COULOMBRE, 1958). Ainda, de acordo com Burgess (1975) esses precursores dos vilos intestinais se formam por volta de 10 a 13 dias a partir de microfilamentos intracelulares.

Na eclosão, o sistema digestório está anatomicamente completo (OVERTON & SHOUP, 1964; CHAMBERS & GREY, 1979), porém a capacidade digestiva e absorptiva ainda está imatura. As principais modificações intestinais são aumento da altura dos vilos e, conseqüentemente dos enterócitos, células caliceformes e enteroendócrinas (BARANYIOVA, 1972; BARANYIOVA & HOLMAN, 1976), além de aumento na atividade de enzimas pancreáticas (NITSAN et al., 1991 a, b; SELL et al., 1991). Ainda, de acordo com Uni et al. (2003) avaliaram o desenvolvimento do intestino delgado durante a fase final de incubação e concluíram que o peso do intestino em relação ao peso do embrião aumenta de 1 para 3,5% nos últimos três dias de incubação e neste período os vilos são classificados em dois tipos principais (vilos maiores e menores) de acordo com seu estágio de desenvolvimento. Nesse sentido, fatores que afetem o desenvolvimento do sistema digestório durante a incubação podem determinar mudanças no desenvolvimento e desempenho das aves.

Ainda, Maiorka et al. (2004) concluíram que a idade da matriz influencia o desenvolvimento de órgãos do sistema digestório e a atividade de enzimas pancreáticas durante a fase embrionária, sendo que os fetos de matrizes jovens apresentaram menor desenvolvimento em relação às matrizes mais velhas. Portanto, sempre que o processo de incubação é avaliado, é importante considerar a idade da matriz, já que é um fator importante para o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade (GLADYS et al., 2000). Sabe-se que o tamanho dos ovos é determinado pela idade da matriz (BENOFF & RENDEN, 1983; TONA et al., 2001; TSERVENI-GOUSHI, 1987). Também, ovos provenientes de matrizes jovens possuem melhor qualidade de casca e de albúmen em relação a matrizes mais velhas (BAINS, 1994). Ainda, durante a incubação, ovos maiores produzem mais calor que ovos menores (MEIJERHOF & VAN BEEK, 1993) e possuem maior dificuldade de dissipar calor (FRENCH, 1997). Lourens et al. (2005) mostraram que a produção de calor nos ovos durante a incubação aumenta fortemente após 9 dias de incubação, existindo diferenças entre ovos maiores e menores a partir de 15 dias, sendo maior nos ovos maiores que nos menores. Assim, Gillooly et al. (2002) destacaram a importância da relação entre tamanho do ovo e temperatura de incubação sobre o tempo de desenvolvimento embrionário.

Bray e Iton (1962) relataram alta correlação positiva entre tamanho do ovo e tamanho do pinto à eclosão. Entretanto, Decuypere e Bruggeman (2007) relatam as diferenças entre ovos de matrizes de diferentes idades e mostram que pintos de matrizes mais velhas apresentam qualidade inferior e menor taxa de crescimento que pintos de matrizes jovens. Ainda, os autores demonstram diferenças nos níveis hormonais e nos metabólitos de pintos originados de ovos de matrizes de diferentes idades. Assim, Morita et al. (2010) concluíram que a temperatura de 36°C resultou em menor mortalidade embrionária para ovos de matrizes de 29 semanas em relação a 37,5 e 39°C. De acordo com Gimenez et al. (2008) e Applegate et al. (1999) o desenvolvimento da mucosa intestinal é influenciado pela idade da matriz ou tamanho do ovo.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes temperaturas de incubação e concentrações de CO₂ sobre o desenvolvimento dos órgãos do sistema digestório durante a fase fetal e pré-inicial de pintos oriundos de ovos de matrizes de diferentes idades.

REFERÊNCIAS

APPLEGATE, T.J.; DIBNER, J.J.; KITCHELL, M.L.; UNI, Z.; LILBURN, M.S. Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and eggsize on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 124, n. 4, p. 381-389, 1999.

ARA, T.; TOKOYODA, K.; OKAMOTO, R.; PANDELAKIS, A.K.; NAGASAWA, T. The role of CXCL12 in the organ-specific process of artery formation. **Blood**, v. 105, n. 8, p. 3155-3161, 2005.

AZZAN, M.A.; SZDZUY, K.; MORTOLA, J.P. Hypoxic incubation blunts the development of thermogenesis in chicken embryos and hatchlings. **The American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. R2373-R2379, 2007.

BAINS, B.S. Internal egg quality influence on fertility and hatchability. **Worlds Poultry Science Journal**, v. 10, n. 11, p.35–37, 1994.

BARANYIOVA, E. Influence of deuteotomy, food intake and fasting on digestive tract dimensions in chicken after hatching. **Acta Veterinária**, v. 41, n. 3, p. 373-384, 1972.

BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinária**, v. 45, p. 151-158, 1976.

BENOFF, F.H.; RENDEN, J.A. Divergent selection for mature body weight in dwarf White Leghorn. 2. Maternal determinants of egg size. **Poultry Science**, v. 62, n. 10, p. 1938–1943, 1983.

BLACK, B.L. Morphological development of the epithelium of the embryonic chick intestine in culture: Influence of thyroxine and hydrocortisone. **American Journal of Anatomy**, v. 153, n. 4, p. 573-600, 1978.

BRAY, D.F.; ITON, E.L. The effect of egg weight on strain differences in embryonic and postembryonic growth in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v.3, n.3, p.175–187, 1962.

BRUGGEMAN, V.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; EVERAERT, N.; KAMERS, B.; ONAGBESAN, O.M.; DEGRAEVE, P.; DECUYPERE, E. Acid-base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated at high CO₂ concentrations during first 10 days of incubation. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 159, n. 2, p. 147-154, 2007.

BUYS, N.; DEWIL, E.; GONZALES, E.; DECUYPERE, E. Different CO₂ level during incubation interact with hatching time and ascites susceptibility in two broiler lines selected for different growth rate. **Avian Pathology**, v. 27, n.6, p. 605-612, 1998.

BURGUESS, D. Morphogenesis of intestinal villi II. Mechanism of formation of previllous ridges, **Journal of Embryology Experimental Morphology**, v. 34 , n. 3, p. 723-740, 1975.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A.; WHITMOYER, R. E. Effect of age, weaning and posweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of animal Science**, v. 66, n. 2, p. 574-584, 1988.

CHAMBERS, C.; GREY, R. D. Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of chick intestine. **Cell and Tissue Research**, v. 204, n. 3, p. 387-405, 1979.

CHEN, Y.M.; ZHANG, J.S.; DUAN, X.L. Changes of microvascular architecture, ultrastructure and permeability of rat jejunal villi at different ages. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 4, p. 795-799, 2003.

CHRISTENSEN, V.L.; DONALDSON, W.E.; NESTOR, K.E. Length of plateau and pipping stages of incubation affects the physiology and survival of turkeys. **British Poultry Science**, v. 40, p. 297–303, 1999.

CHRISTENSEN, V.L.; DAVIS, G.S.; NESTOR, K.E. Environmental incubation factors influence embryonic thyroid hormones. **Poultry Science**, v. 81, n. 4, p. 442-450, 2002.

CHRISTENSEN, V.L.; WINELAND, M.J.; FASENKO, G.M.; DONALDSON, W.E. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. **Poultry Science**, v. 80, n. 12, p. 1729–1735, 2001.

COULOMBRE, A.J.; COULOMBRE, J.L. Intestinal development: I. Morphogenesis of the villi and musculature. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v. 6, n. 3, p. 403-411, 1958.

DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, n. 5, p. 1037-1042, 2007.

DECUYPERE, E.; DEWIL, E.; KUHN, E.R. The hatching process and the role of hormones. In: Tallet, SG (Ed.), **Avian Incubation**. 2nd Ed., London, Butterworth-Heinemann. PP: 239-256, 1991.

DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 48, n. 1, p. 28-38, 1992.

DECUYPERE, E.; ONAGBESAN, O.; DE SMIT, D.; TONA, K.; EVERAERT, N.; WITTERS, A.; DEBONNE, M.; VERHOELST, V.; BUYSE, J.; HASSANZADEH, M.; DEBAERDEMAEKER, J.; ARCKENS, L.; BRUGGEMAN, V. Hypoxia and hypercapnia during incubation of chicken eggs on development and subsequent performance. XII European Poultry Congress, 10–14 September, Verona, Italy, **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 486–487, 2006.

DEEMING, D.C. Importance of sub-embryonic fluid and albumen in the embryo's response to turning of the eggs during incubation. **British Poultry Science**, v. 30, n. 3, p. 591-606, 1989.

DE SMIT, L.; BRUGGEMAN, V.; TONA, J. K.; DEBONNE, M.; ONAGBESAN, O.; ARCKENS, L.; BAERDEMAEKER, J.; DECUYPERE, E. Embryonic developmental plasticity of the chick: increased CO₂ during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 145, n. 2, p. 166-175, 2006.

ENGLISH D.R.; MACLNISS, R.J.; HODGE, A.M.; HOPPER, J.L.; HAYDON, A.M.; GILES, G.G. Red meat, chicken and fish consumption and risk of colorectal cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 13, n. 9, p. 1509-1514, 2004.

EVERAERT, N.; KAMERS, B.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. Effect of four percent carbon dioxide during the second half of incubation on embryonic development, hatching parameters, and posthatch growth. **Poultry Science**, v. 86, n. 7, p. 1372-1379, 2007.

FERNER, K.; MORTOLA, J.P. Ventilatory response to hypoxia in chicken hatchlings: A developmental window of sensitivity to embryonic hypoxia. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 165, p. 49-53, 2009.

FLETCHER, D.L. Poultry Meat Quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, n. 2, p. 131-145, 2002.

FRENCH, N.A. Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. **Poultry Science**, v. 76, n. 1, p. 124-133, 1997.

GILLOOLY, J.F.; CHARNOV, E.L.; WEST, G.B.; SAVAGE, V.M.; BROWN, J.H. Effects of size and temperature on developmental time. **Nature**, v. 417, p. 70-73, 2002.

GIMENEZ, A.C.; RICCARDI, R.R.; MALHEIROS, E.B.; BOLELI, I.C. Influência do sexo e peso dos ovos sobre a altura dos vilos e profundidade das criptas do intestino delgado de embriões e pintos de corte, **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 608-616, 2008.

GOMIDE JUNIOR, M.L.; STERZO, E. V.; MACARI, M.; BOLELI, I. C. Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1500-1505, 2004.

HAVENSTEIN, G.B.; FERKET, P.R.; QURESHI, M.A. Growth, livability and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, v. 82, n. 10, p. 1500-1508, 2003.

HITCHCOCK, K.R. Hormones and the lung. I. Thyroid hormones and glucocorticoids in lung development. **The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, v. 194, n. 1, p. 15–39, 1979.

HULET, R.; GLADYS, G.; HILL, D.; MEIJERHOF, R.; EL-SHIEKH, T. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. **Poultry Science**, v. 86, n.2, p. 408-412, 2007.

KOIBUCHI, N.; CHIN, W.W. Thyroid Hormone Action and Brain Development. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 123-128, 2000.

KUHN, E.R.; DECUYPERE, E.; COLEN, L.M.; MICHELS, H. Posthatch Growth and Development of a Circadian Rhythm for Thyroid Hormones in Chicks Incubated at Different Temperatures. **Poultry Science**, v. 61, n. 3, p. 540-549, 1982.

LEKSRINSOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, P.W.; BRANNAN, K. E.; BRAKE, J. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. **Poultry Science**, v. 86, n. 12, p. 2685-2691, 2007.

LILJA, C.; OLSSON, U. Changes in embryonic development associated with long-term selection for high growth rate in Japanese quail. **Growth**, v. 51, n. 3, p. 301–308, 1987.

LITKE, L. L.; LOW, F. N. Scanning electron microscopy of yolk absorption in early chick embryos. **American Journal of Anatomy**, v. 142, n. 4, p. 527-531, 1975.

LU, J. W.; MCMURTRY, J. P.; COON, C. N. Developmental Changes of Plasma Insulin, Glucagon, Insulin-like Growth Factors, Thyroid Hormones, and Glucose Concentrations in Chick Embryos and Hatched Chicks. **Poultry Science**, v. 86, n. 4, p. 673-683, 2007.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. **Poultry Science**, v. 84, n. 6, p. 914-920, 2005.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. F.; ROUTMAN, K. S.; PIZAURO JUNIOR, J.M.; MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2004.

MEIJERHOF, R.; VAN BEEK, G. Mathematical modeling of temperature and moisture loss of hatching eggs. **Journal of Thermal Biology**, v. 165, n. 1, p. 27-41, 1993.

MOLENAAR, R.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period. **Poultry Science**, v. 90, n. 6, p. 1257-1266, 2011.

MORITA, V.S.; BOLELI, I.C.; OLIVEIRA, J.A. Hematological and incubation parameters of chicks from young breeders eggs: variation with sex and incubation temperature. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 6, p. 606-612, 2010.

MORTOLA, J.P. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 153, n. 4, p. 359-377, 2009.

NITSAN, Z.; BEN-AURAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v. 32, n. 3, p. 515-523, 1991a.

NITSAN, Z.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Organ growth and digestive enzymes levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**, v. 70, n. 10, p. 2040-2048, 1991b.

OVERTON, J.; SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **Journal of Cell Biology**, v. 31, p. 75-82, 1964.

PARDANAUD, L.; YASSINE, F.; DIETERLEN-LIEVRE, F. Relationship between vasculogenesis, angiogenesis and haemopoiesis during avian ontogeny. **Development**, v. 105, n. 3, p. 473-485, 1989.

PIESTUN, Y.; HALEVY, O.; YAHAV, S. Thermal manipulations of broiler embryos – the effect on thermoregulation and development during embryogenesis. **Poultry Science**, v. 88, n. 12, p. 2677-2688, 2009.

PIESTUN, Y.; SHINDER, D.; RUZAL, M.; HALEVY, O.; BRAKE, J.; YAHAV, S. Thermal manipulation during broiler embryogenesis: effects on the acquisition of thermotolerance. **Poultry Science**, v. 87, n. 8, p. 1516-1527, 2008.

PLATEROTI, M.; GAUTHIER, K.; DOMON-DELL, C.; FREUND, J. L.; SAMARUT, J.; CHASSANDE, O. Functional Interference between Thyroid Hormone Receptor α (TR α) and Natural Truncated TR $\Delta\alpha$ Isoforms in the Control of Intestine Development, **Molecular and Cellular Biology**, v. 21, n. 14, p. 4761–4772, 2001.

RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**, v. 386, n. 6626, p. 671-674, 1997.

ROMIJN, C.; LOKHORST, W. Chemical heat regulation in the chick embryo. **Poultry Science**, v. 34, n. 3, p. 649–654, 1955.

SMITH, M. W.; MITCHELL, M.A.; PEACOCK, M. A. Effects of genetic selection on growth rate and intestinal structure in the domestic fowl (*Gallus Domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology**, v. 97A, n. 1, p. 57–63, 1990.

SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J. Development patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**, v. 70, n. 5, p. 1200-1205, 1991.

STEWART, C.E.; ROTWEIN, P. Growth, differentiation, and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors. **Physiological Reviews**, v. 76, n. 4, p. 1005-1026, 1996.

TAYLOR, L.W., KREUTZIGER, G.O. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 2. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the fifth through the eighth days of incubation. **Poultry Science**, v. 44, p. 98–106, 1965.

TAYLOR, L.W., KREUTZIGER, G.O. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 3. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the ninth through the twelfth days of incubation. **Poultry Science**, v. 45, p. 867–884, 1966.

TAYLOR, L.W., SJODING, R.A. and GUNNS, C.A. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 1. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the first four days of incubation upon hatchability. **Poultry Science**, v. 35, p. 1206 – 1215, 1956.

TZSCHENTKE, B.; HALLE, I.; Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex rate and later performance in male and female broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 50, n. 5, p. 634-640, 2009.

TONA, K.; BAMELIS, F. COUCKE, W.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E. Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions, **Journal of Applied Poultry Research**, n. 10, v. 221–227, 2001

TSERVENI-GOUSHI, H.S. Relationship between parental age, egg weight, and hatching weight of Japanese quail. **British Poultry Science**, v. 28, n. 4, p. 749–752, 1987.

UNI, Z.; TAKO, E.; GAL-GARBER, O.; SKLAN, D. Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of late term-embryo. **Poultry Science**, v. 82, n. 11, p. 1747-1754, 2003.

United States Department of Agriculture (2011). Disponível em <www.usda.gov>. Acesso em: 24 de outubro de 2011.

VERHOELST, E.; KETELAERE, B.; DECUYPERE, E.; BAERDEMAEKER, J. The effect of early prenatal hypercapnia on the vascular network in the chorioallantoic membrane of the chicken embryo. **Biotechnology Progress**, v. 27, n. 2, p. 562-570, 2011b.

VIEIRA, S. L.; MORAN JR, E. T. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, n. 2, p. 126-192, 1999.

VRIES, M.; BOER, I.J.M. Comparing environmental impacts for livestock products: A review of life cycle assessments. **Livestock Science**, v. 128, n. 1-3, p. 1-11, 2010.

WINDHORST, H. W. Changes in poultry and trade worldwide. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 4, p. 584–602, 2006.

WINELAND, M.W.; CHRISTENSEN, V.L.; YILDRUM, I.; FAIRCHILD, B.D.; MANN, K.M.; ORT, D.T. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage in oxygen consumption affects intestinal maturation of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 3, p. 229-240, 2006.

YALCIN, S.; OZKAN, S.; SIEGEL, P.; YENISEV, C.; AKSIT, M. Manipulation of Incubation Temperatures to Increase Cold Resistance of Broilers: Influence on Embryo Development, Organ Weights, Hormones and Body Composition. **The Journal of Poultry Science**, v. 49, n. 2, p. 133-139, 2012.

CAPÍTULO 2 – Temperaturas de incubação no desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de fetos e pintos de matrizes pesadas de diferentes idades

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes temperaturas de incubação sobre o desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de fetos e pintos de frangos de corte na fase pré-inicial oriundos de ovos de matrizes de diferentes idades. Foram utilizados 1296 ovos férteis de matrizes pesadas Cobb, sendo 648 de 35 semanas (jovens) e 648 de 55 semanas (velhas). Os ovos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em três incubadoras mantidas a 37,5°C até o nono dia de incubação. A partir do décimo dia as temperaturas foram alteradas correspondendo a 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C em cada incubadora até o final da incubação. Foram avaliados: eclodibilidade, eclosão, qualidade do pinto, o período médio e a duração de bicagem interna, bicagem externa e nascimento, o crescimento alométrico dos órgãos do sistema digestório dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida), o desenvolvimento da mucosa intestinal dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida) e a atividade de enzimas pancreáticas dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida). Não houve efeito das temperaturas de incubação sobre a eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos independentemente da idade da matriz. As temperaturas de 38,5°C e 36,5°C causaram, respectivamente, diminuição e aumento do período médio de bicagem interna, externa e nascimento. O peso dos fetos de matrizes de 35 semanas incubados em 36,5°C apresentou-se menor em relação à temperatura controle aos 18 dias, bem como aos 20 dias para fetos de matrizes de 35 e 55 semanas. Fetos aos 20 dias e pintos de 1 dia de matrizes de 35 semanas incubados em 36,5°C e 38,5°C apresentaram maior porcentagem de vitelo. Aos 16 dias, a incubação em 36,5°C resultou em menor porcentagem de pâncreas e moela nos fetos de matrizes de 35 e 55 semanas, respectivamente. Aos 16 e 20 dias a incubação em 36,5°C causou menor porcentagem de intestinos nos fetos de matrizes de 35 semanas. A incubação em temperatura de 38,5°C ou 36,5°C influenciou negativamente a altura e densidade dos vilos nos segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) com maior intensidade para a temperatura de 36,5°C, independentemente da idade da matriz, principalmente na fase fetal e nos pintos recém-eclodidos. A incubação em 36,5°C prejudicou a atividade enzimática total e específica da amilase e tripsina. O aumento ou redução na temperatura de incubação afetam negativamente o desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório principalmente durante a fase fetal.

Palavras-chave: digestão, eclodibilidade, frangos de corte, temperatura

CHAPTER 2 - Incubation temperatures on the morphophysiological development of the digestive system of fetuses and chicks from heavy broiler breeders of different ages

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effect of different temperatures of incubation on morphophysiological development of digestive system of fetuses and broiler chicks during the pre-initial phase from eggs of broiler breeders of different ages. We used 1296 fertile eggs from Cobb broiler breeders; 648 for 35 weeks (young) and 648 of 55 weeks (old). The eggs were divided into three incubators in completely randomized design maintained at 37.5°C until the ninth day of incubation. From the tenth day on the temperatures were changed to 36.5°C, 37.5°C and 38.5°C in each incubator, until the end of incubation. We evaluated: hatchability, hatching, chick quality, the average time and duration of internal and external pipping and birth, the allometric growth of the organs of fetus digestive system (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks (1, 4 and 7 days of life), intestinal mucosa development of the fetuses (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks (1, 4 and 7 days old) and the activity of pancreatic enzymes in chicks (1, 4 and 7 days of life). There was no effect of incubation temperatures on hatching, hatchability and chick quality, regardless of broiler breeders' age. Incubation in 38.5°C and 36.5°C caused respectively a decrease and increase in the average period of internal pipping, external pipping and birth. The fetuses weight of fetuses from 35 weeks broiler breeders, incubated in 36.5°C, was lower when compared to the 37.5°C at 18 days and at 20 days, just as for fetuses from 35 and 55 weeks breeders. Fetuses at 20 days and 1 day old chicks from 35 weeks breeders, incubated at 36.5 °C and 38.5 °C had higher yolk percentage. At 16 days, incubation at 36.5°C resulted in a lower percentage of pancreas and gizzard in fetuses from 35 and 55 weeks breeders, respectively. At 16 and 20 days incubation in 36.5°C caused a lower percentage of intestines in fetuses from 35 weeks breeders. The incubation in 38.5°C or 36.5°C adversely influenced the height and density of the villi in intestinal segments (duodenum, jejunum and ileum) with higher intensity in 36.5°C, regardless of the breeder age, mainly in the fetal and newly hatched chicks. The incubation in 36.5°C damaged the total and specific enzyme activity of amylase and trypsin. The increase or decrease in incubation temperature affect negatively digestive system morphophysiological development of the digestive system particularly during fetal stage.

Keywords: broilers, digestion, hatchability, temperature

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a produção de carne de frango apresentou grande crescimento, superando as carnes suína e bovina (WINDHORST, 2006). Para atender tal demanda, o frango de corte atual apresenta melhor eficiência alimentar, rápido ganho de peso e grande redução na idade de abate (HAVENSTEIN et al., 2003). Considerando que a idade de abate do frango de corte é de 42 dias, o período de incubação, que é de aproximadamente 21 dias, representa um terço da vida das aves e será cada vez mais representativo devido às perspectivas de contínua redução da idade de abate.

Os principais fatores físicos considerados durante a incubação são temperatura, umidade, viragem e ventilação. De acordo com Decuypere & Michels (1992), a temperatura é o fator ambiental mais importante durante o processo de incubação. Geralmente a temperatura das incubadoras está situada entre 37 e 38°C (MEIJERHOF & VAN BEEK, 1993). Entretanto, muitas pesquisas vêm sendo realizadas para demonstrar os efeitos da redução e aumento da temperatura durante diferentes fases da incubação (HULET et al., 2007; LOURENS et al., 2005; MORITA et al., 2010). Nesse sentido, a busca por uma temperatura ideal na incubação é importante para obter a máxima eclodibilidade (FRENCH, 1997) e, a melhor qualidade do pinto (DECUYPERE & MICHELS, 1992). Sabe-se que a taxa de desenvolvimento embrionário pode ser modificada em função da temperatura de incubação (MOLENAAR et al., 2011; YALCIN et al., 2012).

Desse modo, mudanças na temperatura de incubação interferem no desenvolvimento embrionário e, conseqüentemente, de órgãos vitais para o embrião, inclusive órgãos do sistema digestório (LEKSRIOMPONG et al., 2007; MOLENAAR et al., 2011). No final do período de incubação ocorrem grandes mudanças morfológicas e funcionais no intestino delgado de fetos de frangos de corte (UNI et al., 2003). Neste período observa-se o surgimento e desenvolvimento dos vilos na mucosa intestinal (BURGESS, 1975; COULOMBRE & COULOMBRE, 1958), bem como o pâncreas apresenta atividade de suas enzimas (MAIORKA et al., 2004; MARCHAIM & KULKA, 1967). Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito de

mudanças na temperatura de incubação sobre a morfofisiologia da mucosa intestinal ou atividade das enzimas pancreáticas.

Segundo Vieira & Moran Jr (1999) quando as reservas provenientes do ovo se esgotam, o sistema digestório torna-se responsável pela nutrição da ave. Nesse sentido, estratégias que interfiram no desenvolvimento do trato gastrointestinal são importantes, já que podem melhorar ou piorar o processo de digestão e absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, alterar o desenvolvimento e desempenho das aves durante todo seu ciclo de vida, já que atualmente os frangos de corte apresentam alta taxa de crescimento, que é bastante influenciada pelo desenvolvimento do sistema digestório (SMITH et al., 1990).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes temperaturas durante a segunda metade da incubação sobre o desenvolvimento morfofisiológico dos órgãos do sistema digestório de fetos e pintos de frangos de corte oriundos de ovos de matrizes de diferentes idades.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp/Jaboticabal, utilizando três incubadoras verticais com capacidade para 600 ovos cada, equipadas com controladores de umidade e de temperatura (Premium Ecológica). Foram utilizados 1296 ovos férteis, sendo 648 de matrizes com idade de 35 semanas (jovens) com peso médio de 57,86 gramas e 648 de matrizes com idade de 55 semanas (velhas) com peso médio de 70,74 g. Os ovos foram pesados, numerados e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado nas três incubadoras, resultando em três tratamentos. Até o nono dia de incubação, todas as incubadoras foram mantidas em temperatura de 37,5°C. A partir do décimo dia as temperaturas foram alteradas correspondendo a 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C em cada incubadora até a eclosão dos pintos. Assim, foram utilizados três tratamentos (temperaturas) em duas idades de matrizes. No nono dia de incubação foi realizada ovoscopia e os ovos inférteis foram retirados.

A umidade do ar das incubadoras foi mantida em 60% até a eclosão dos pintos e a viragem dos ovos em 45° a cada 1 hora até o 18° dia de incubação. Cada incubadora foi abastecida com 216 ovos de matrizes jovens e 216 ovos de matrizes velhas. Após a eclosão, os pintos foram criados até 7 dias. As aves foram alojadas em gaiolas em câmara climatizada com temperatura de 32°C com programa de luz contínua, recebendo água e ração com 22,48% de proteína bruta e 2960 kcal de energia metabolizável/kg, segundo Rostagno et al. (2011) à vontade.

2.1 Características avaliadas:

2.1.1 Parâmetros da Incubação

Para avaliação da eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos foram utilizadas 5 repetições de 30 ovos para cada idade de matriz utilizada, totalizando 150 ovos de matrizes jovens e 150 ovos de matrizes velhas. A eclosão foi avaliada através da relação entre o número de pintos eclodidos e o número de ovos

incubados. A eclodibilidade foi calculada por meio da relação entre o número de ovos eclodidos e o número de ovos férteis incubados. Após a eclosão foi realizada a classificação dos pintos de acordo com Tona et al. (2003). A Tabela 1 mostra a classificação dos escores de acordo com os parâmetros observados.

Tabela 1 – Atribuição dos escores a diferentes parâmetros observados.

Parâmetros	Características	Escore
Atividade	Boa	6
	Fraca	0
Penas e aparência	Limpas e secas	10
	Úmidas	8
	Sujas e úmidas	0
Retração da gema	Interiorização normal da gema	12
	Interiorização de gema grande e difícil ao toque	0
Olhos	Abertos e brilhantes	16
	Abertos e sem brilho	8
	Fechados	0
Pernas	Pernas e dedos normais	16
	Uma perna afetada	8
	Duas pernas afetadas	0
Umbigo	Completamente fechado e limpo	12
	Parcialmente aberto e cor semelhante à pele	6
	Aberto e cor diferente da pele	0
Membrana remanescente	Sem membrana	12
	Membrana pequena	8
	Membrana grande	6
	Membrana muito grande	0
Gema remanescente	Sem gema	16
	Gema pequena	12
	Gema grande	8
	Gema muito grande	0

(TONA et al., 2003)

Para avaliação da bicagem interna, externa e o nascimento os ovos foram colocados em sacos de tule aos 18 dias de incubação. Foram utilizados 5 repetições de 24 ovos para cada idade de matriz utilizada, totalizando 120 ovos de matrizes jovens e 120 ovos de matrizes velhas. O monitoramento da bicagem interna, externa e do nascimento iniciou-se às 444 horas de incubação e terminou às 532 horas e foi realizado a cada 2 horas. A bicagem interna foi avaliada através de ovoscopia. A bicagem externa e o nascimento foram avaliados a olho nu, observando-se o

rompimento da casca do ovo pelo bico do pinto e a saída completa do pinto da casca do ovo, respectivamente. O tempo médio de bicagem interna é representado pelo período entre o início da incubação e a visualização da bicagem interna. O tempo médio de bicagem externa é representado como o período entre o início da incubação e a visualização da bicagem externa. O tempo médio de nascimento é ocorre entre o início da incubação e a visualização do nascimento.

A duração da bicagem interna foi calculada subtraindo-se o horário de início da bicagem externa do início da bicagem interna de cada ovo monitorado. A duração da bicagem externa foi calculada subtraindo-se o horário de início do nascimento do horário de início da bicagem externa. A duração do nascimento foi calculada somando-se a duração da bicagem interna e a duração da bicagem externa, considerando-se que o processo de nascimento iniciou-se no momento em que o pinto perfurou a câmara de ar até ao momento da saída da casca.

2.1.2 Crescimento Alométrico dos Órgãos do Sistema Digestório

O crescimento alométrico dos órgãos do sistema digestório foi avaliado nos fetos e nos pintos. Para tanto, foram utilizadas cinco ovos de cada tratamento em cada idade. Nos fetos foi mensurado aos 16, 18 e 20 dias de incubação e nos pintos com 1, 4 e 7 dias de idade após jejum alimentar de 12 horas. Os ovos e os pintos através do peso médio do grupo ($\pm 10\%$). Os fetos e os pintos foram abatidos por decapitação. Os protocolos experimentais estão de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da FCAV-UNESP. O sistema digestório dos fetos foi separado em: saco de vitelo, proventrículo, moela (ventrículo muscular), intestino e fígado e dos pintos em saco de vitelo, proventrículo, moela, intestino, fígado e pâncreas, sendo cada órgão lavado e pesado individualmente. O peso dos fetos e pintos foi registrado descontando-se o peso do saco de vitelo para o cálculo da porcentagem de cada órgão do sistema digestório que foi calculado através da relação entre o peso do órgão e o peso do feto ou pinto em porcentagem.

2.1.3 Desenvolvimento da Mucosa Intestinal

2.1.3.1 Microscopia de Luz

As análises dos parâmetros morfométricos intestinais foram realizadas nas mesmas aves utilizadas para coleta dos órgãos do sistema digestório, ou seja, fetos aos 16, 18 e 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias de vida, após jejum de 12 horas. Foram extraídas amostras de cada uma das regiões do intestino delgado: duodeno, jejuno e íleo. Foram coletadas amostras do duodeno na porção proximal descendente da alça duodenal, do jejuno na região posterior à porção distal da alça duodenal e do íleo na região cranial aos cecos. Foram coletadas amostras de 1 cm aos 16 e 18 dias de incubação, de 1,5 cm aos 20 dias de incubação e 1 dia de vida e de 2 cm aos 4 e 7 dias de vida. As amostras foram fixadas imediatamente em solução de Bouin por 24 horas. Em seguida foram lavadas em álcool 70% para retirada do fixador e, posteriormente, desidratadas em série crescente de etanol (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram feitos 5 cortes histológicos por amostra, com cinco micrômetros cada, corados com hematoxilina e eosina. As imagens dos cortes histológicos foram obtidas utilizando-se um sistema de captura de imagem (Leica). As imagens foram fotografadas em aumento de 10 vezes (16 dias de incubação e 1 dia de idade), 20 vezes (18 e 20 dias de incubação) e 5 vezes (4 e 7 dias de idade). As análises foram feitas pelo programa Image J® (RASBAND, 2004). Foi mensurada a altura de vilos aos 16, 18 e 20 dias nos fetos e aos 1, 4 e 7 dias nos pintos e a profundidade das criptas nos pintos aos 1, 4 e 7 dias, sendo realizadas 30 leituras/segmento intestinal.

2.1.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para o estudo da microscopia eletrônica de varredura foram utilizadas amostras intestinais coletadas das mesmas aves utilizadas na microscopia de luz (20 dias de incubação e 1, 4 e 7 dias de idade), seguindo a mesma metodologia de coleta. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% e tampão fosfato, por 24

horas a 4°C. Após fixação, os fragmentos foram lavados com o mesmo tampão e pós-fixados com tetróxido de ósmio 1% em tampão fosfato por 2 horas. As amostras foram lavadas novamente na mesma solução tampão e desidratadas em série crescente de etanol. Após obtenção do ponto crítico de secagem, utilizando CO₂, os fragmentos foram metalizados em ouro e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (modelo JEOL JSM 25SII). As amostras intestinais dos fetos aos 20 dias de incubação e pintos de 1 dia de idade foram fotografadas em aumento de 500 vezes e as amostras de pintos aos 4 e 7 dias em aumento de 150 vezes, assim, a área de cada fotomicrografia correspondeu a 0,039287 e 0,468843 mm² da mucosa de cada amostra, respectivamente. A densidade de vilos por área foi expressa como o número de vilos/mm².

2.1.4 Atividade de enzimas pancreáticas

Para análise da atividade de enzimas pancreáticas foram coletados amostras aos 1, 4 e 7 dias. Nos pintos de 1 dia foram coletadas 5 repetições de 5 pâncreas cada. Nos pintos de 4 dias foram coletadas 5 repetições de 3 pâncreas cada. Nos pintos de 7 dias foram coletadas 5 repetições de 1 pâncreas cada. O material coletado foi congelado imediatamente em nitrogênio líquido para posteriores análises.

Para obtenção do extrato bruto, o pâncreas foi homogeneizado em tampão tipo Tris-HCl 5 mM com CaCl₂ 50 mM (1:20). Os extratos brutos assim obtidos foram centrifugados, filtrados, aliquotados, congelados em nitrogênio líquido, armazenado a -80°C e utilizados, posteriormente, para a determinação da atividade enzimática de amilase e tripsina e dosagem da concentração de proteína. As determinações foram realizadas em triplicatas.

2.1.4.1 Determinação da atividade de tripsina pancreática

A atividade da tripsina foi determinada pelo método descrito por Pizauro et al. (2004).

Primeiramente, foi efetuada a ativação do zimogênio em tampão Tris-HCl 0,5M pH 8,0 contendo CaCl_2 (50mM). Cada dosagem de 0,4 mL do extrato pancreático foi incubada com 0,08 unidades de enteroquinase (SIGMA®) a 37°C por 5 minutos. A reação foi iniciada pela adição de 1mL do substrato N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA, SIGMA®) ao meio de reação contendo o extrato ativado. Depois de 20 minutos, a reação foi interrompida pela adição de 0,2 mL de ácido acético 30% (v/v). Após centrifugação em microcentrífuga SPIN I durante 2 minutos a 4°C, a absorbância foi determinada a 410nm. Em cada determinação foram incluídos controles sem adição de enzimas.

Uma unidade de atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de p-nitroanilida por minuto por miligrama de proteína nas condições padrões do teste e uma unidade de atividade enzimática total (U.g^{-1}) foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de p-nitroanilida por minuto por grama de tecido pancreático nas condições padrões do teste.

2.1.4.2 Determinação da atividade da α -amilase pancreática

A atividade da α -amilase foi determinada a 37°C, através da dosagem de maltose liberada a partir da hidrólise do amido pela enzima de acordo com Bernfeld (1955), com adaptações.

As condições padrão de ensaio foram: tampão fosfato (20 mM, pH 6,9) contendo NaCl 7 mM, extrato pancreático e amido solúvel a 1%, volume final de 1ml. A reação foi iniciada pela adição do amido ao meio de reação e interrompida com adição de 1ml de solução contendo 1% de ácido 3,5-dinitrosalisílico, 8% de NaOH e 30% de tartarato duplo de sódio e potássio. As amostras foram mantidas em banho-maria em ebulição por 6 minutos, então foram resfriadas e diluídas em 10ml de água destilada. A absorbância foi determinada a 530nm.

Uma unidade de atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) da α -amilase foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de maltose por minuto por miligrama de proteína nas condições padrões do teste e uma unidade de atividade enzimática total (U.g^{-1}) da α -amilase foi definida e expressa como a

quantidade de enzima que libera 1 μmol de maltose por minuto por grama de tecido pancreático nas condições padrões do teste.

2.1.4.3 Dosagem de proteína

A concentração de proteína foi determinada pelo uso do kit de dosagem de proteína por fluorescência no aparelho QubitTM fluorometer da marca InvitrogenTM, seguindo as especificações do protocolo fornecido pelo fabricante.

2.2 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa SAS[®] e em caso de diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

Não foi observado efeito das temperaturas de incubação sobre a eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos para nenhuma das idades de matrizes avaliadas (Tabela 2 e Tabela 3).

Tabela 2 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Eclosão	83,94	85,78	81,50	6,68	0,4996
Eclodibilidade	87,49	88,60	84,94	5,05	0,4281
Qualidade dos pintos	98,12	97,76	97,04	0,70	0,0766

Tabela 3 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Eclosão	81,78	82,67	77,35	7,09	0,3225
Eclodibilidade	86,01	87,95	82,57	4,45	0,1185
Qualidade dos pintos	96,74	97,82	95,67	1,60	0,1316

Em relação à temperatura de incubação de 37,5°C, a incubação em 38,5°C e 36,5°C resultou em encurtamento e alongamento, respectivamente, nos períodos médios de bicagem interna, externa e nascimento, independentemente da idade da matriz (Tabela 4 e Tabela 5).

Tabela 4 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Bicagem Interna	486,50a	473,83b	461,00c	0,55	<0,0001
Bicagem Externa	494,32a	481,67b	472,00c	0,82	<0,0001
Nascimento	511,33a	498,17b	488,33c	0,68	<0,0001
Duração da Bicagem Interna	7,83	7,83	11,00	35,06	0,1613
Duração da Bicagem Externa	17,00	16,50	16,33	17,51	0,9186
Duração do Nascimento	24,83	24,33	27,33	9,90	0,1214

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 5 – Tempo médio de bicagem interna (horas), bicagem externa (horas), nascimento (horas), duração da bicagem interna (horas), bicagem externa (horas) e nascimento (horas) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Bicagem Interna	490,67 ^a	473,50 ^b	465,00 ^c	0,88	<0,0001
Bicagem Externa	502,33 ^a	484,50 ^b	475,33 ^c	1,01	<0,0001
Nascimento	516,67 ^a	499,83 ^b	490,83 ^c	0,67	<0,0001
Duração da Bicagem Interna	11,67	11,00	10,33	38,04	0,8601
Duração da Bicagem Externa	14,33	15,33	15,50	26,02	0,8572
Duração do Nascimento	26,00	26,33	25,83	8,98	0,9318

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Na Figura 1 observa-se janela de nascimento mais ampla para as temperaturas de 36,5°C e 38,5°C em comparação a 37,5°C, principalmente para os ovos provenientes de matrizes de 55 semanas. Ainda, a distribuição do nascimento para a temperatura de 37,5°C mostra-se mais desejável, já que apresentou a melhor curva de distribuição normal com base mais estreita e pico mais alto, independentemente da idade da matriz.

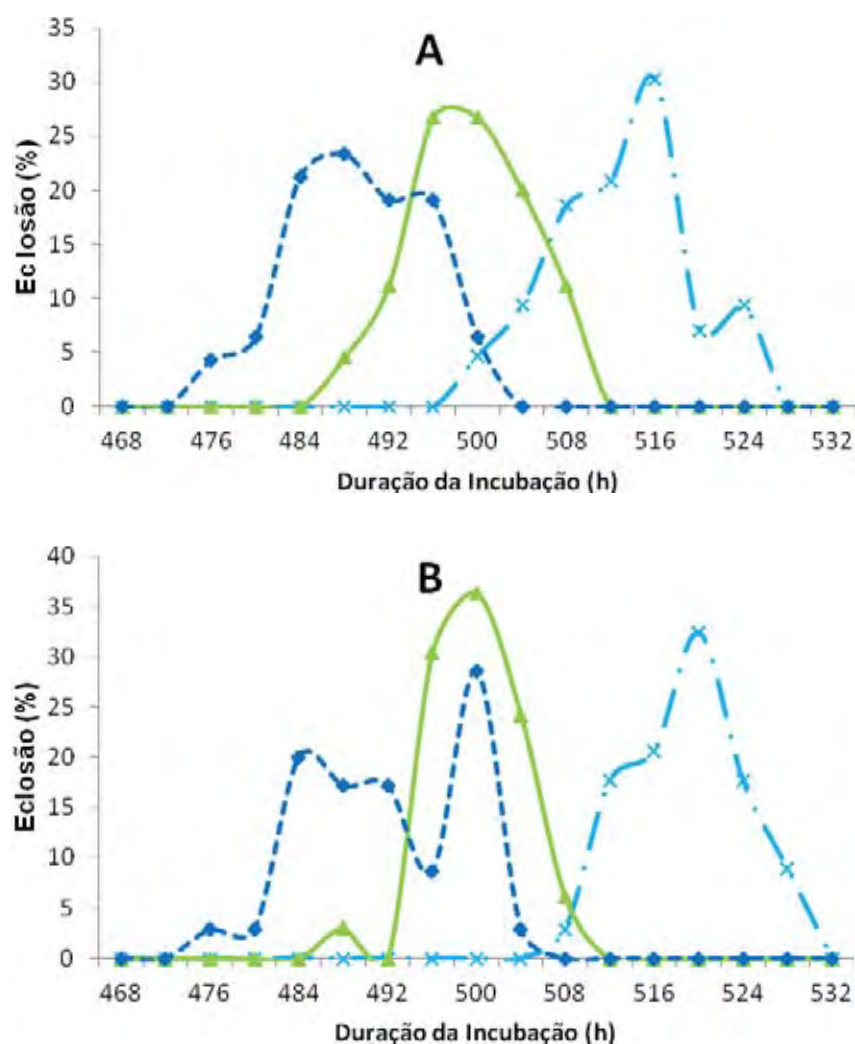


Figura 1 – Distribuição da eclosão (%) em relação à duração da incubação (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes novas (A) e velhas (B) incubados em temperatura de 36,5°C —x—, 37,5°C —▲— e 38,5°C —●—.

Aos 16 dias de incubação, fetos oriundos de matrizes de 35 semanas, incubados em 36,5°C apresentaram menor porcentagem de intestinos em comparação às demais temperaturas que não diferiram significativamente entre si (Tabela 6). Aos 20 dias de incubação também se observou menor porcentagem de intestinos nos fetos provenientes de matrizes jovens incubados em 36,5°C em comparação com 37,5°C, ambos não diferindo de 38,5°C (Tabela 10).

Aos 16 dias de incubação, fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em 36,5°C apresentaram menor porcentagem de moela que fetos incubados em 37,5°C, ambos não diferindo de 38,5°C (Tabela 7).

Tabela 6 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5 °C	37,5 °C	38,5 °C		
Feto (g)	18,54	19,01	17,63	10,61	0,5381
Saco Vitelo (%)	67,10	59,72	65,13	24,68	0,7515
Proventrículo (%)	0,59	0,58	0,59	17,75	0,2667
Moela (%)	2,04	2,28	2,23	14,68	0,4826
Fígado (%)	1,99	2,24	2,09	9,55	0,1869
Intestinos (%)	1,61b	1,97a	1,99a	11,72	0,0315

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 7 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 16 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5 °C	37,5 °C	38,5 °C		
Feto (g)	20,43	21,64	21,38	5,80	0,2978
Saco Vitelo (%)	71,93	67,36	71,17	14,52	0,7539
Proventrículo (%)	0,60	0,67	0,56	19,22	0,3496
Moela (%)	1,98b	2,47a	2,24ab	10,79	0,0235
Fígado (%)	2,07	2,36	2,10	11,21	0,1671
Intestinos (%)	2,00	2,32	2,23	11,90	0,1782

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Aos 18 dias, a temperatura de incubação influenciou o peso dos fetos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas. Na Tabela 8, observa-se menor peso dos fetos aos 18 dias incubados em 36,5°C em comparação a 37,5°C e 38,5°C, que não diferiram significativamente entre si. Aos 20 dias de incubação verifica-se menor peso dos fetos incubados em 36,5°C em relação a 37,5°C, ambos não diferindo de 38,5°C, nas duas idades de matrizes avaliadas (Tabela 10).

Não houve efeito das temperaturas de incubação sobre o peso do feto e porcentagem dos órgãos do sistema digestório nos ovos oriundos de matrizes de 55 semanas aos 18 dias de incubação (Tabela 9).

Aos 20 dias de incubação verifica-se menor peso dos fetos incubados em 36,5°C em relação a 37,5°C, ambos não diferindo de 38,5°C, independentemente da idade da matriz (Tabela 10 e Tabela 11). Observa-se, também, maior porcentagem

de saco de vitelo nos fetos provenientes de ovos de matrizes jovens com a incubação em 36,5°C e 38,5°C em comparação a 37,5°C.

Tabela 8 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 18 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Feto (g)	21,85b	27,58a	27,07a	11,83	0,0199
Saco Vitelo (%)	48,60	43,87	37,30	19,29	0,1411
Proventrículo (%)	0,52	0,68	0,63	20,10	0,1517
Moela (%)	2,65	3,31	3,13	21,43	0,2924
Fígado (%)	2,05	2,04	2,08	11,58	0,3757
Intestinos (%)	1,81	2,20	2,41	25,13	0,2436

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 9 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 18 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Feto (g)	27,99	28,95	28,37	8,32	0,8146
Saco Vitelo (%)	46,79	42,98	43,19	12,40	0,4894
Proventrículo (%)	0,65	0,57	0,72	25,38	0,3975
Moela (%)	3,26	3,04	2,98	14,99	0,6081
Fígado (%)	2,39	2,20	2,39	13,42	0,2335
Intestinos (%)	2,11	2,32	2,14	15,08	0,5550

Tabela 10 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 20 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Feto (g)	32,33b	35,33a	33,23ab	4,03	0,0124
Saco Vitelo (%)	27,80a	16,67b	26,15a	18,91	0,0039
Proventrículo (%)	0,66	0,70	0,61	11,18	0,1985
Moela (%)	3,74	4,16	3,46	18,72	0,3295
Fígado (%)	2,08	2,10	2,00	10,36	0,7219
Intestinos (%)	2,70b	3,54a	2,88ab	15,61	0,0374

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 11 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestinos de fetos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas aos 20 dias de incubação.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Feto (g)	36,24b	42,66a	38,46ab	9,44	0,0498
Saco Vitelo (%)	32,63	22,82	29,47	32,16	0,2594
Proventrículo (%)	0,65	0,65	0,58	23,85	0,7110
Moela (%)	3,93	3,95	3,91	18,82	0,9960
Fígado (%)	2,06	2,03	2,03	19,08	0,9907
Intestinos (%)	3,44	3,42	3,51	13,90	0,9548

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Na fase pós-eclosão, pintos de 1 dia provenientes de ovos de matrizes jovens apresentaram maior porcentagem de saco de vitelo quando incubados em 36,5°C em comparação a 38,5°C, ambos não diferindo de 37,5°C (Tabela 12). Estas aves também mostraram menor porcentagem de pâncreas quando incubadas em 36,5°C em comparação as demais temperaturas avaliadas.

Tabela 12 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 1 dia de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	41,00	40,23	41,44	2,18	0,1347
Saco Vitelo (%)	12,42a	9,16ab	8,62b	21,71	0,0366
Proventrículo (%)	0,85	0,92	1,04	18,30	0,2394
Moela (%)	5,56	6,03	6,04	10,21	0,3870
Fígado (%)	2,49	2,72	2,68	7,93	0,2205
Pâncreas (%)	0,15b	0,20a	0,20a	17,79	0,0280
Intestinos (%)	4,27	4,76	4,65	8,98	0,1865

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Nos pintos de 1 dia oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas verificou-se maior porcentagem de saco de vitelo com a incubação em 36,5°C em comparação as demais temperaturas estudadas (Tabela 13).

Não houve efeito das temperaturas de incubação sobre o peso dos pintos ou porcentagem dos órgãos do sistema digestório aos 4 (Tabelas 14 e 15) e 7 dias pós-eclosão (Tabelas 16 e 17).

Tabela 13 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 1 dia de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	50,01	50,10	49,34	1,48	0,2137
Saco Vitelo (%)	13,51a	10,69b	10,13b	13,91	0,0125
Proventrículo (%)	0,82	0,84	0,93	9,55	0,1177
Moela (%)	4,95	5,63	5,78	13,31	0,1967
Fígado (%)	2,44	2,67	2,80	10,15	0,1433
Pâncreas (%)	0,14	0,18	0,18	23,24	0,2243
Intestinos (%)	3,91	4,01	4,66	11,46	0,0922

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

A Figura 2 mostra o desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos provenientes de matrizes de 35 e 55 semanas em função do tempo de incubação. As Figuras 4, 5, 6, 7, 8 e 9 mostram as fotomicrografias referentes aos cortes histológicos obtidos destas aves. Verificou-se menor altura de vilos no duodeno aos 16 dias nos fetos provenientes de ovos incubados em 36,5°C em comparação às temperaturas de 38,5°C e 37,5°C, independentemente da idade da matriz. Aos 18 e 20 dias de incubação observou-se maior altura de vilos no duodeno com a incubação em 37,5°C em comparação 38,5°C e 36,5°C, nos fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 e 55 semanas, respectivamente.

Tabela 14 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 4 dias de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	69,28	72,93	70,07	7,02	0,4963
Saco Vitelo (%)	1,16	1,41	1,20	45,50	0,7598
Proventrículo (%)	1,42	1,19	1,40	20,44	0,3611
Moela (%)	5,90	5,75	6,15	7,62	0,3980
Fígado (%)	4,00	4,16	4,37	14,54	0,6375
Pâncreas (%)	0,44	0,48	0,43	11,99	0,4980
Intestinos (%)	11,57	12,00	11,75	15,42	0,9313

Tabela 15 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 4 dias de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	78,10	82,02	82,43	8,58	0,5673
Saco Vitelo (%)	1,34	1,21	1,24	49,05	0,9453
Proventrículo (%)	1,31	1,30	1,36	9,47	0,7538
Moela (%)	5,83	5,72	6,46	12,52	0,2887
Fígado (%)	4,09	4,52	4,47	11,50	0,3683
Pâncreas (%)	0,40	0,43	0,42	12,51	0,5915
Intestinos (%)	11,65	12,20	11,86	4,85	0,3521

Tabela 16 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas com 7 dias de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	118,61	128,67	122,30	9,62	0,4228
Saco Vitelo (%)	0,29	0,23	0,13	75,79	0,3353
Proventrículo (%)	1,36	1,28	1,26	11,50	0,5701
Moela (%)	4,92	4,78	4,53	11,18	0,5238
Fígado (%)	4,60	4,40	4,27	11,38	0,5913
Pâncreas (%)	0,57	0,58	0,55	18,08	0,8799
Intestinos (%)	12,06	13,18	12,61	10,03	0,4028

Tabela 17 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestinos de pintos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas com 7 dias de vida.

Parâmetros	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5°C	37,5°C	38,5°C		
Pinto (g)	143,25	151,66	154,73	7,98	0,3343
Saco Vitelo (%)	0,14	0,21	0,15	66,63	0,6191
Proventrículo (%)	1,31	1,14	1,11	15,75	0,2304
Moela (%)	4,87	4,66	4,51	10,82	0,5467
Fígado (%)	4,39	4,27	4,39	10,46	0,8961
Pâncreas (%)	0,47	0,56	0,54	17,24	0,3186
Intestinos (%)	11,85	12,86	12,42	8,04	0,3128

Aos 16 dias, observou-se menor altura de vilos no jejuno nos fetos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em 36,5°C em comparação à 38,5°C, ambos não diferindo de 37,5°C. Aos 18 dias, a incubação em 36,5°C

também causou menor altura de vilos no jejuno em relação às demais temperaturas nos fetos oriundos de ovos de matrizes jovens. Aos 20 dias verificou-se que a incubação em 36,5°C resultou em menor altura de vilos no jejuno quando comparados à temperatura de 37,5°C nos fetos oriundos de ovos de matrizes jovens. Nos fetos oriundos de matrizes de 55 semanas a incubação em 36,5°C e 38,5°C resultaram em menor altura de vilos em comparação a 37,5°C. Em relação à altura de vilos no íleo, verificou-se que, aos 16 dias, a incubação em 38,5°C ocasionou menor altura dos vilos em relação às demais temperaturas avaliadas nos fetos provenientes de matrizes de 55 semanas.

A Figura 3 mostra o desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de pintos provenientes de matrizes de 35 e 55 semanas em função do tempo de incubação. As Figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15 mostram as fotomicrografias referentes aos cortes histológicos obtidos destas aves. Pintos de 1 dia de idade provenientes de ovos de matrizes novas incubados nas temperaturas de 36,5°C e 38,5°C apresentaram menor altura de vilos no duodeno em comparação à temperatura de 37,5°C. Pintos de 1 dia provenientes de ovos de matrizes velhas apresentaram menor altura de vilos no duodeno e jejuno quando incubados em temperatura de 36,5°C em relação as demais. Os vilos do jejuno de pintos de 1 dia incubados em 36,5°C apresentaram menor altura em comparação aos incubados em 37,5°C, ambos não diferindo de 38,5°C. A incubação em 36,5°C e 38,5°C resultaram em menor altura de vilos no íleo dos pintos de 1 dia provenientes de ovos de matrizes de velhas em comparação à temperatura de 37,5°C.

Aves oriundas de matrizes jovens, incubadas em temperatura de 37,5°C apresentaram maior profundidade de criptas no jejuno em relação às incubadas em 36,5°C, ambas não diferindo de 38,5°C aos 7 dias de idade (Tabela 18).

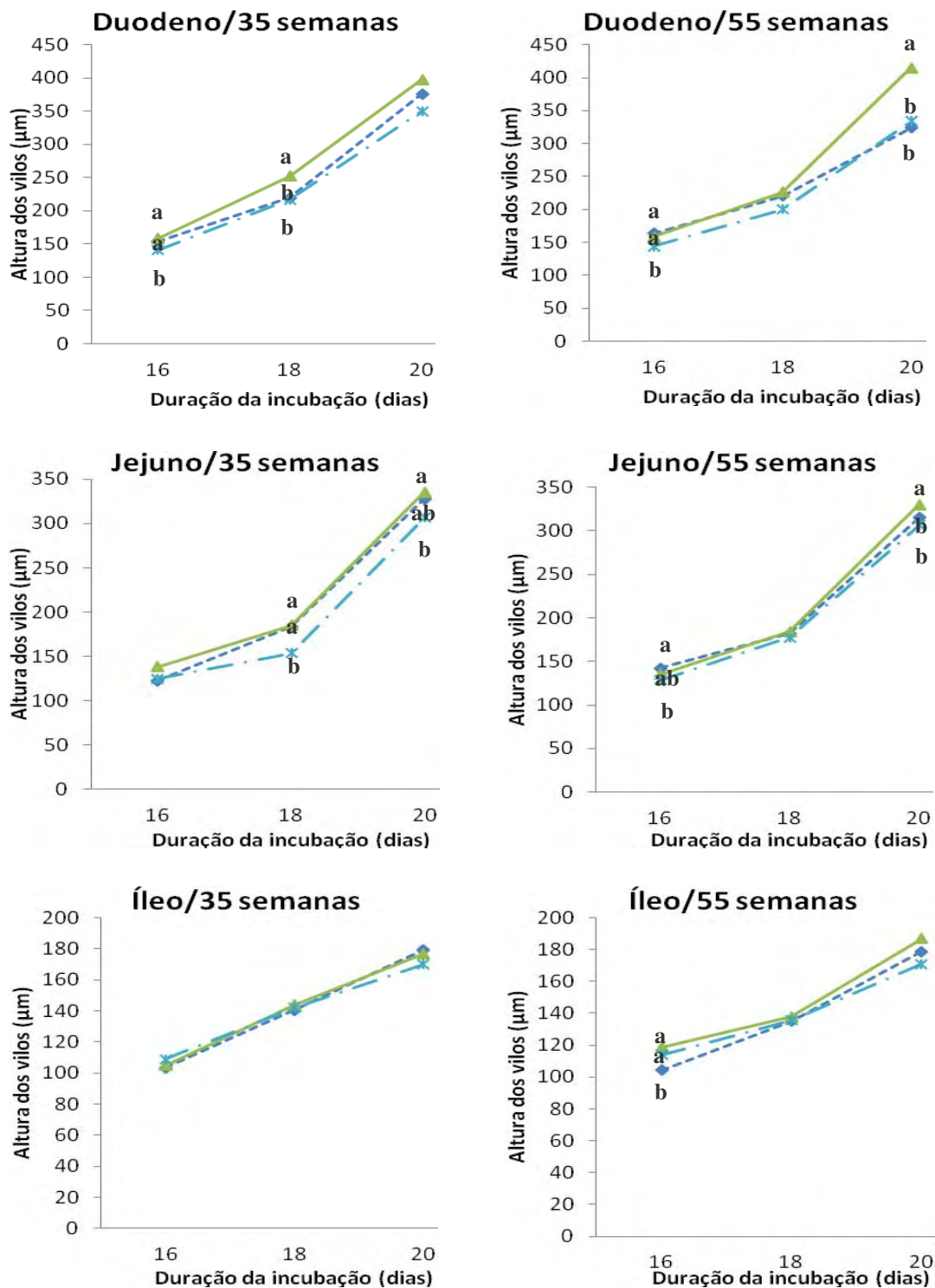


Figura 2 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos de matrizes jovens e velhas incubados em temperatura de 36,5°C —, 37,5°C — e 38,5°C —, aos 16, 18 e 20 dias de incubação. Valores seguidos de letras iguais, na mesma duração da incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

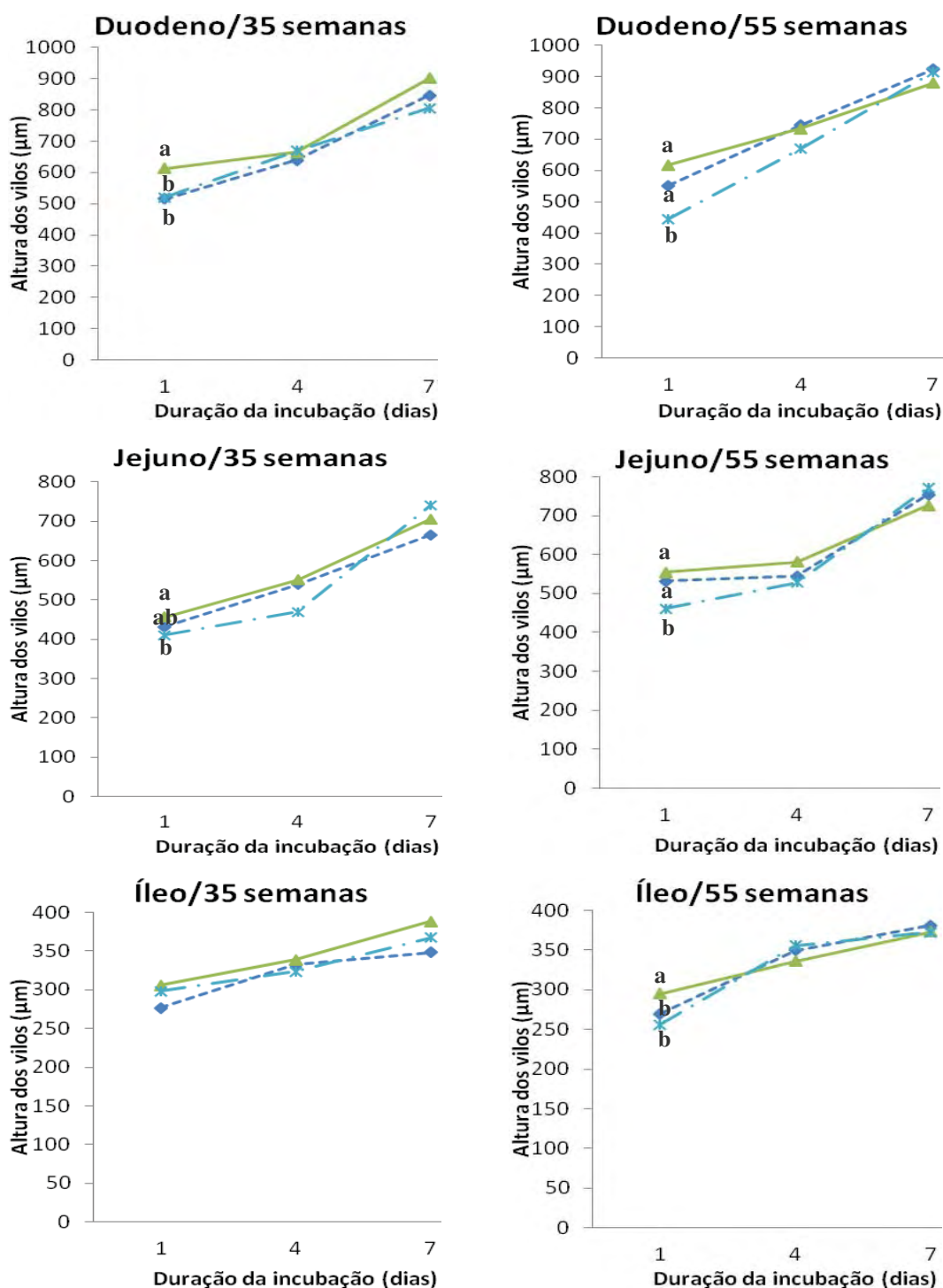


Figura 3 – Desenvolvimento dos vilos intestinais no duodeno, jejuno e íleo de pintos de matrizes jovens e velhas incubados à temperatura de 36,5°C —, 37,5°C — e 38,5°C —, aos 1, 4 e 7 dias de idade. Valores seguidos de letras iguais, na mesma duração da incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

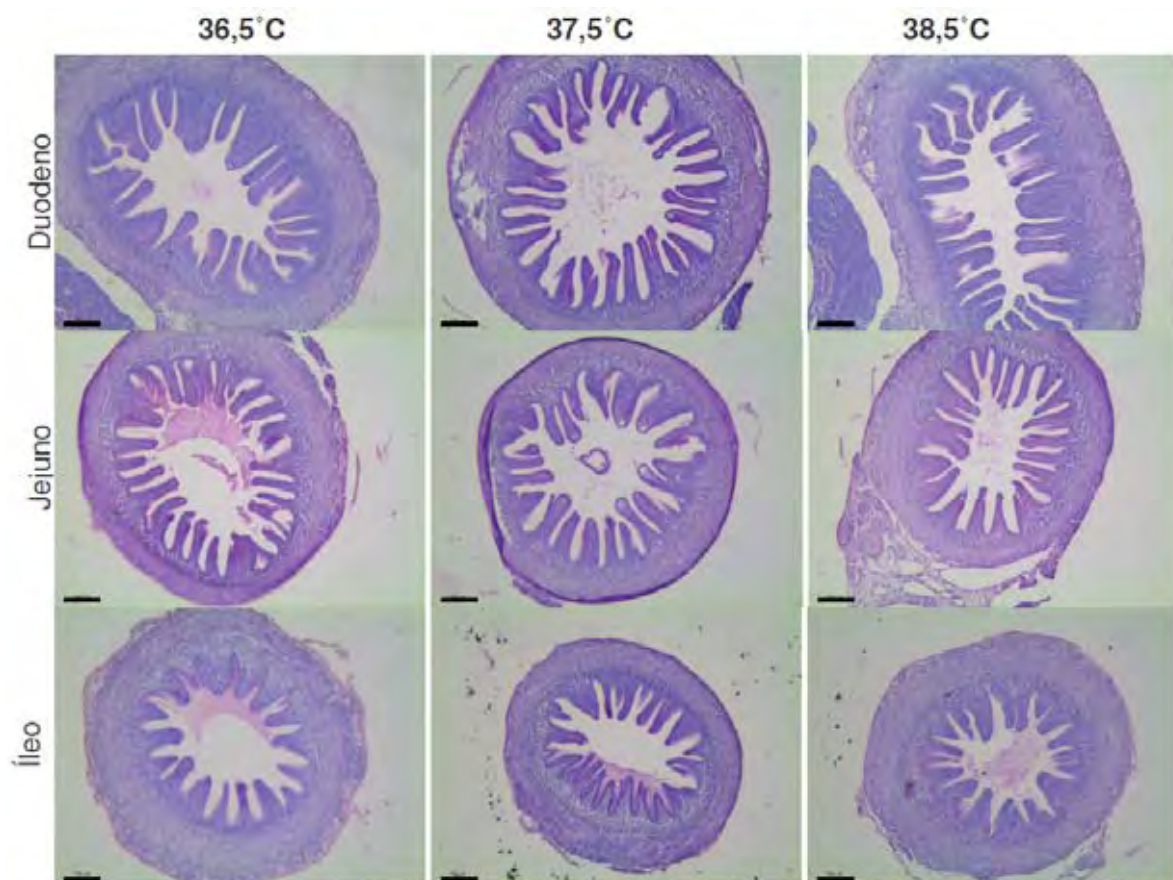


Figura 4 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

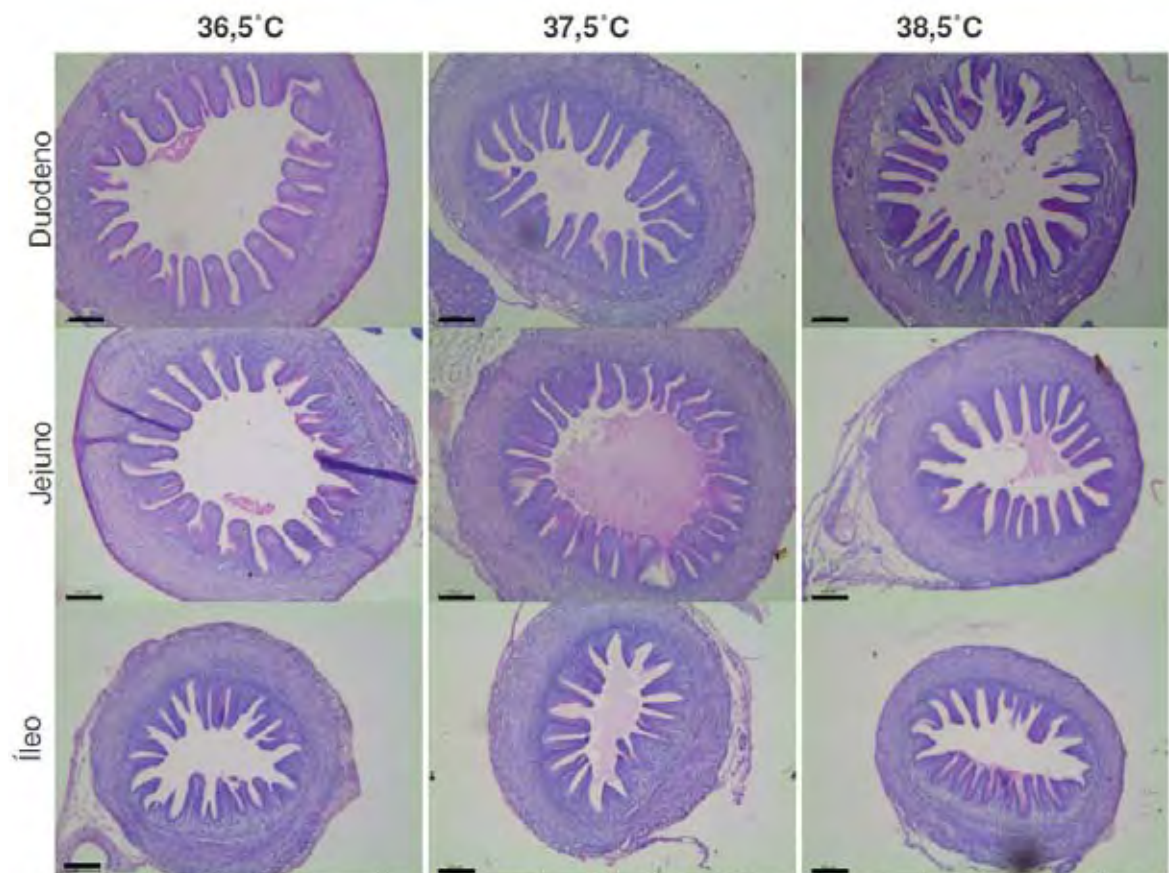


Figura 5 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

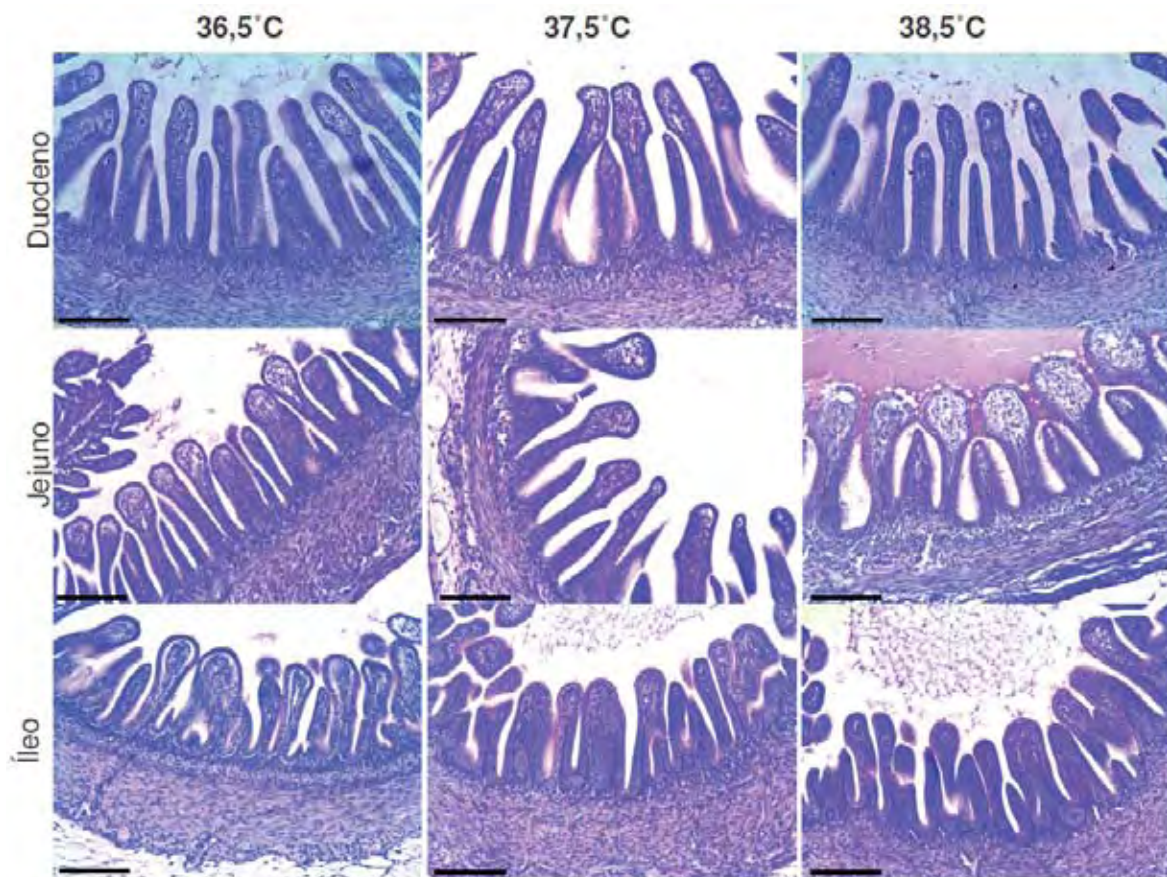


Figura 6 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

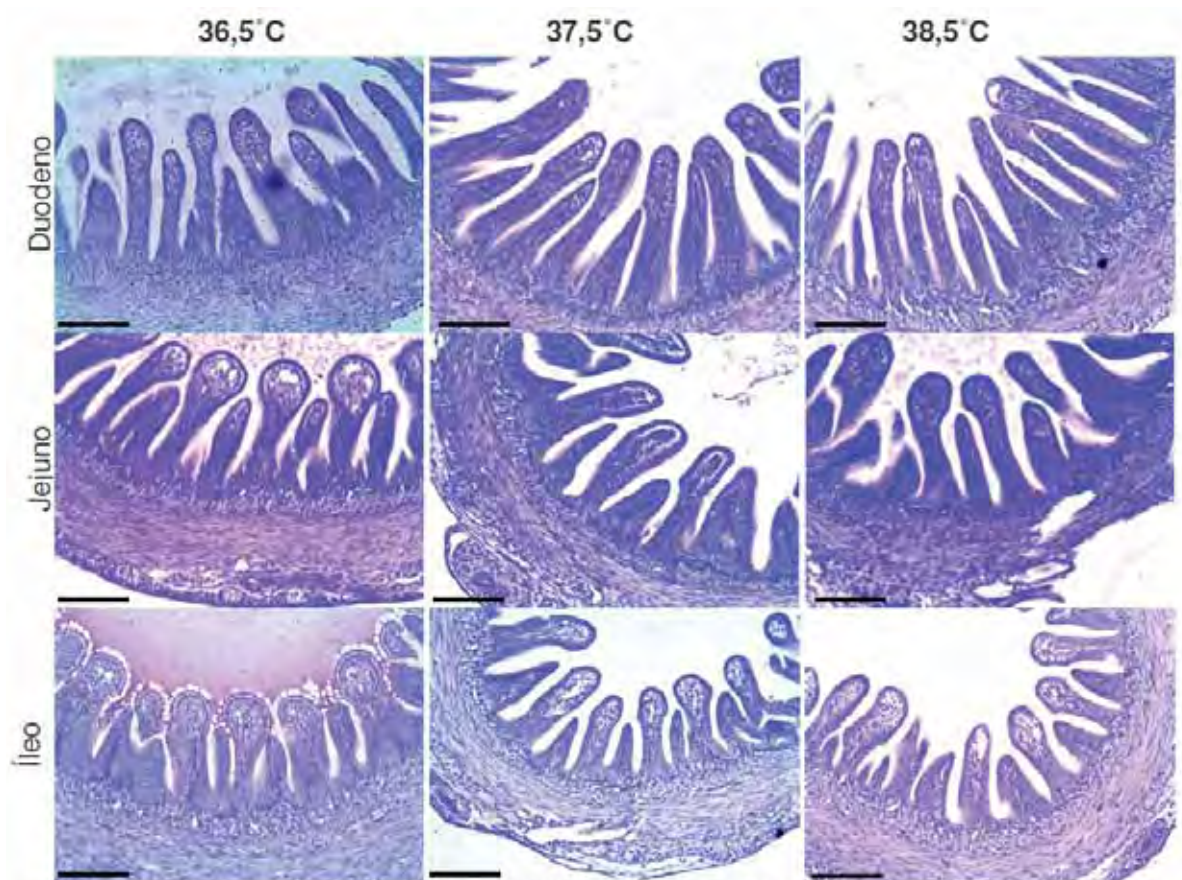


Figura 7 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

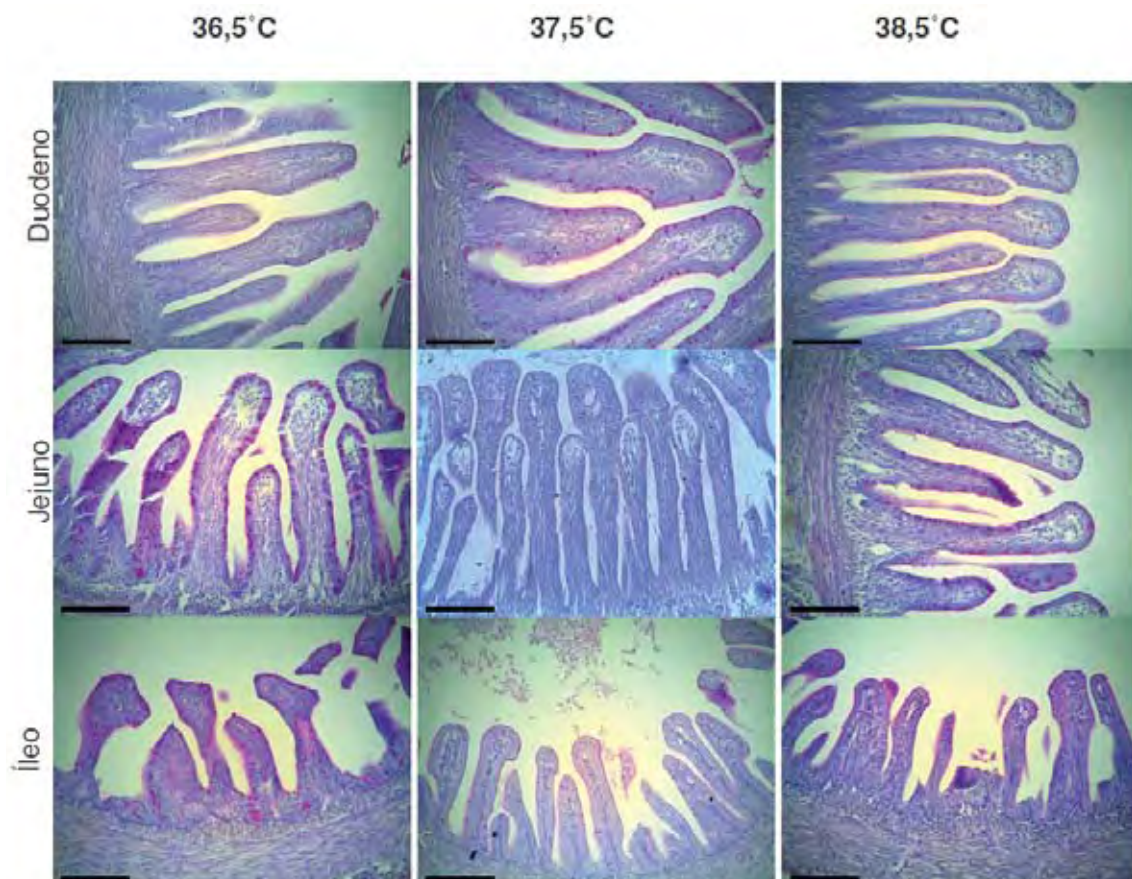


Figura 8 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

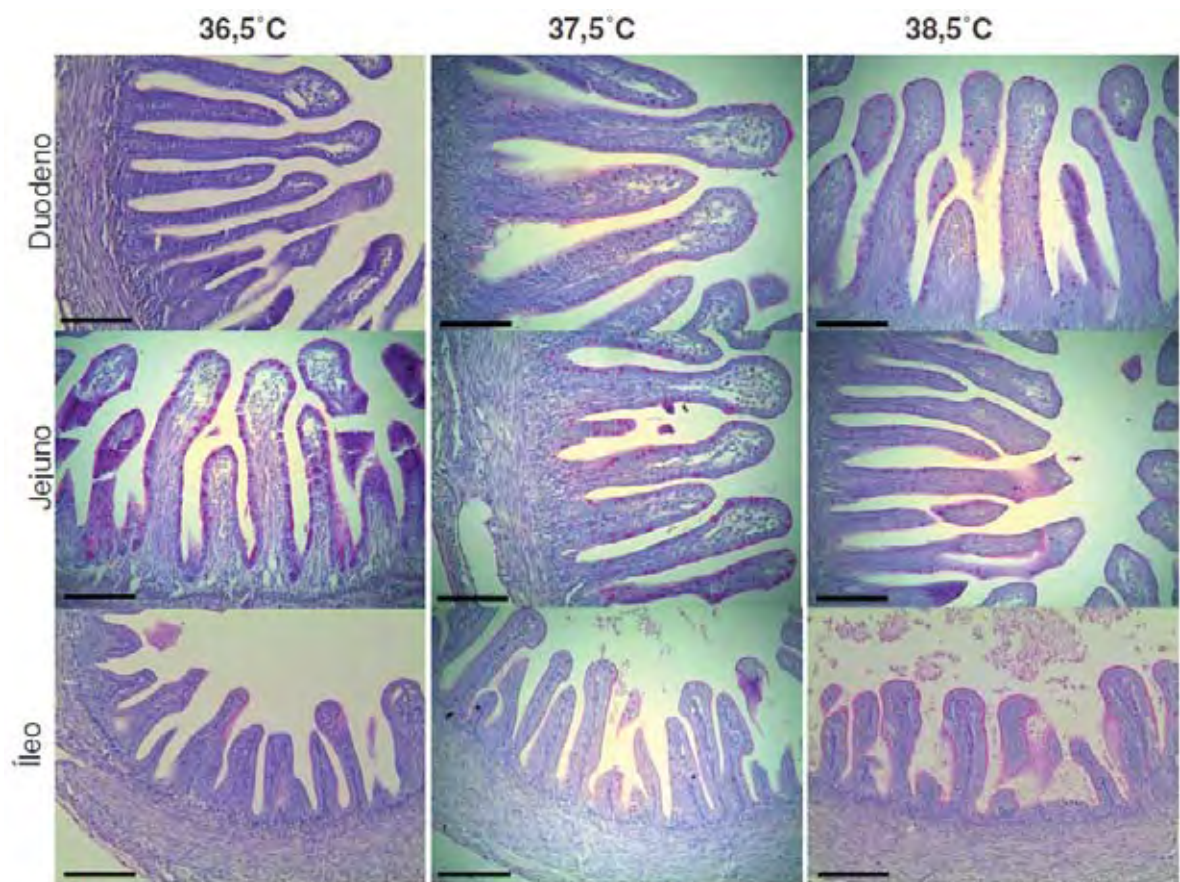


Figura 9 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

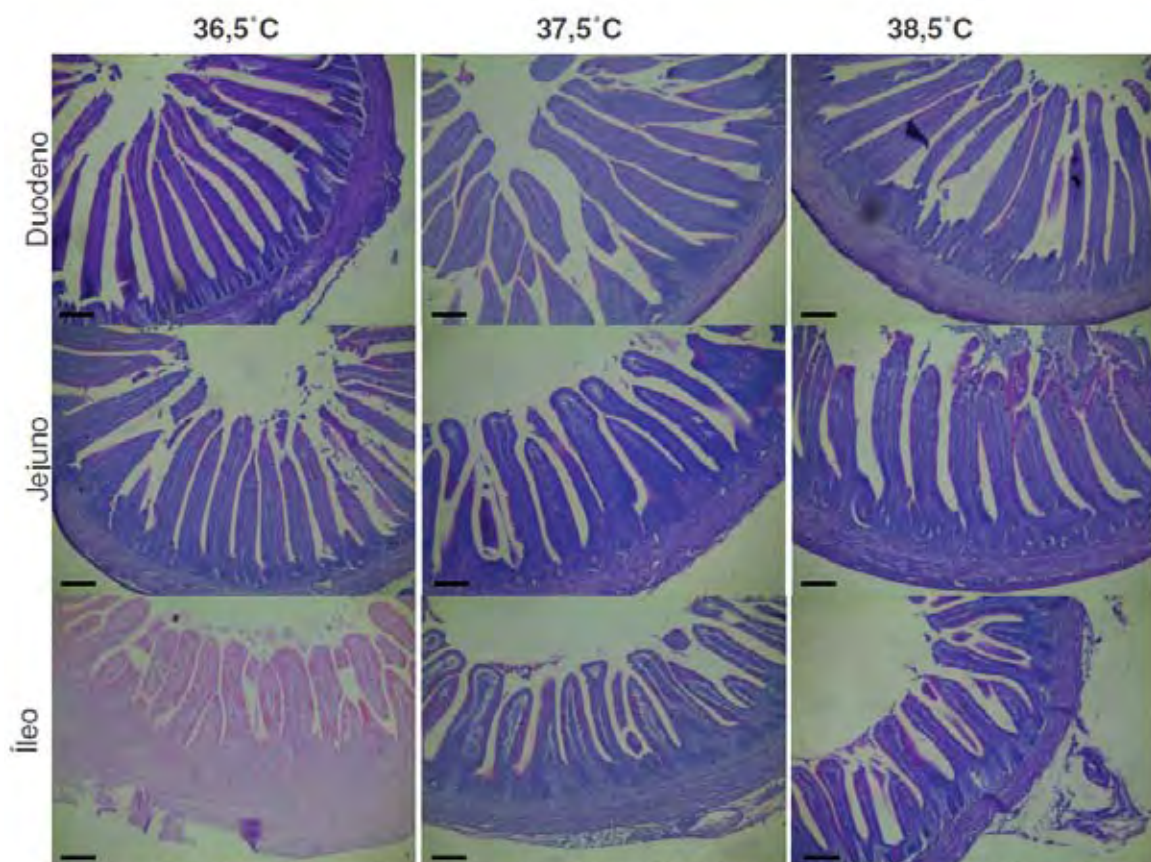


Figura 10 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

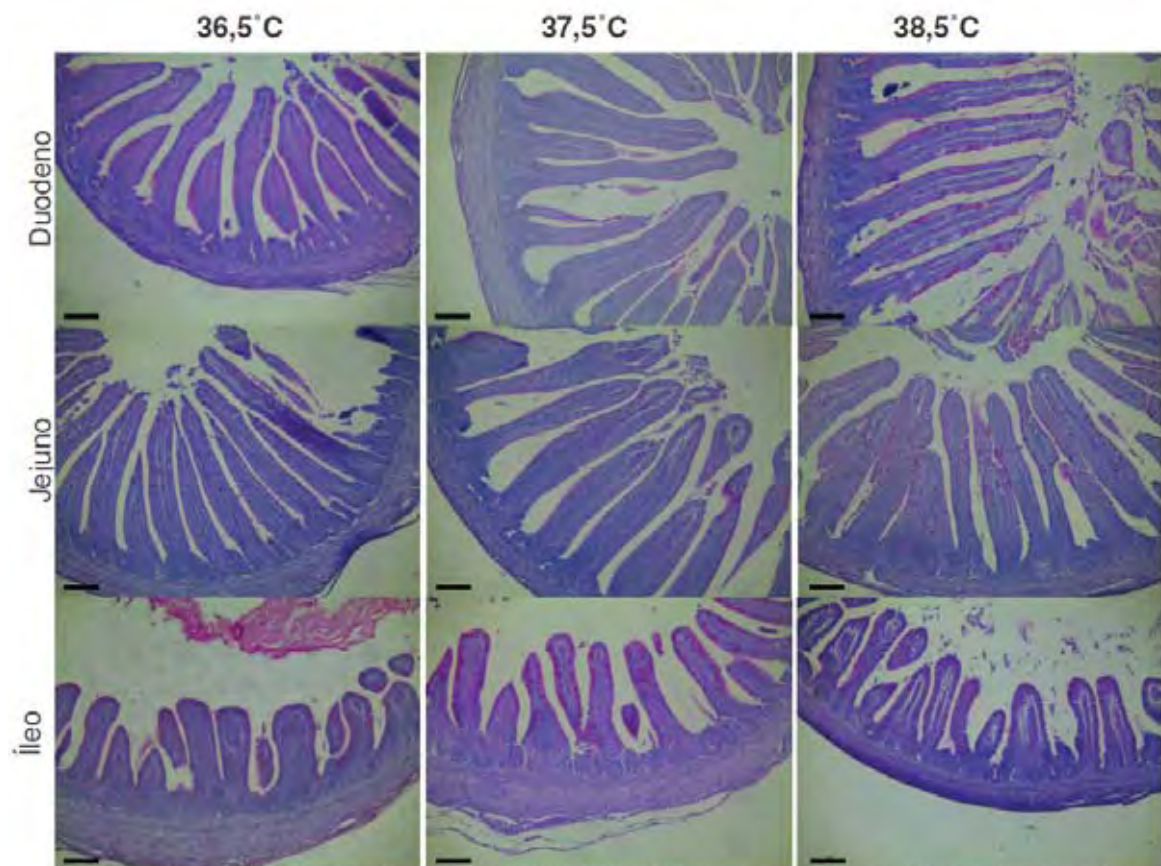


Figura 11 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

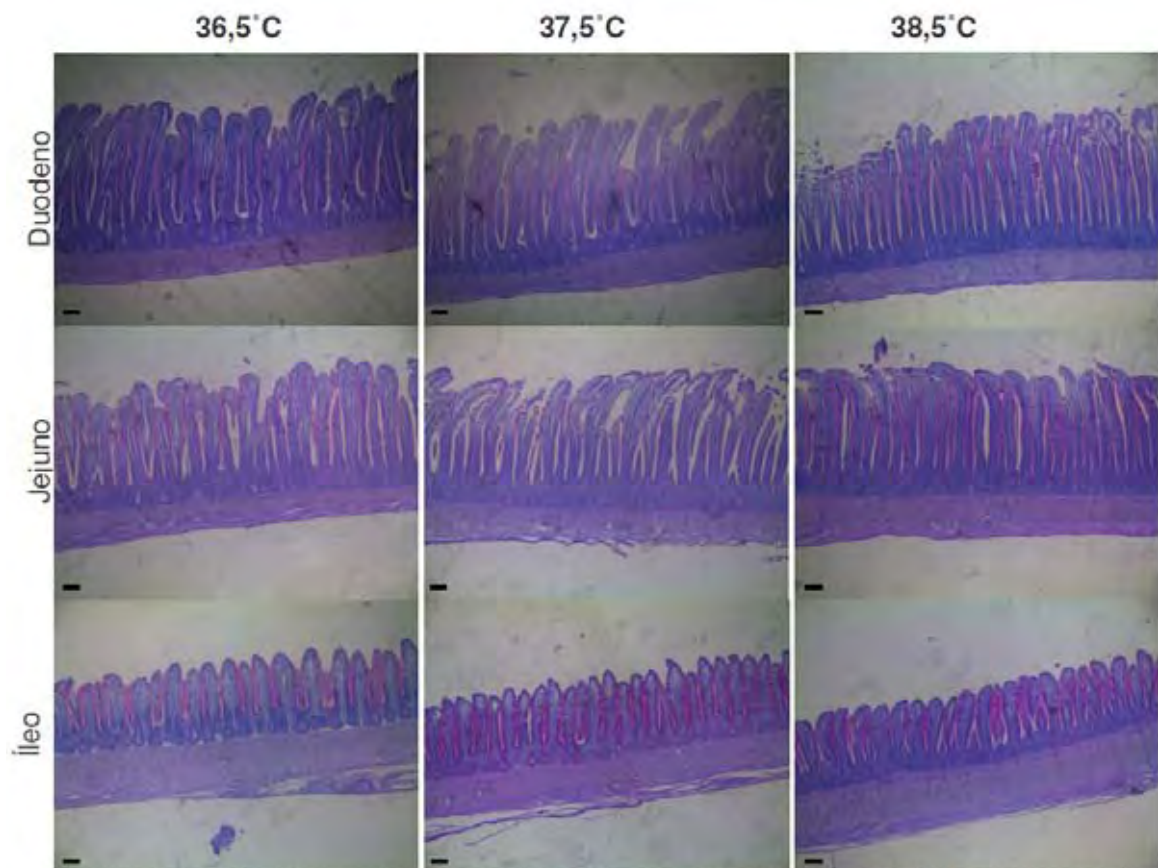


Figura 12 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

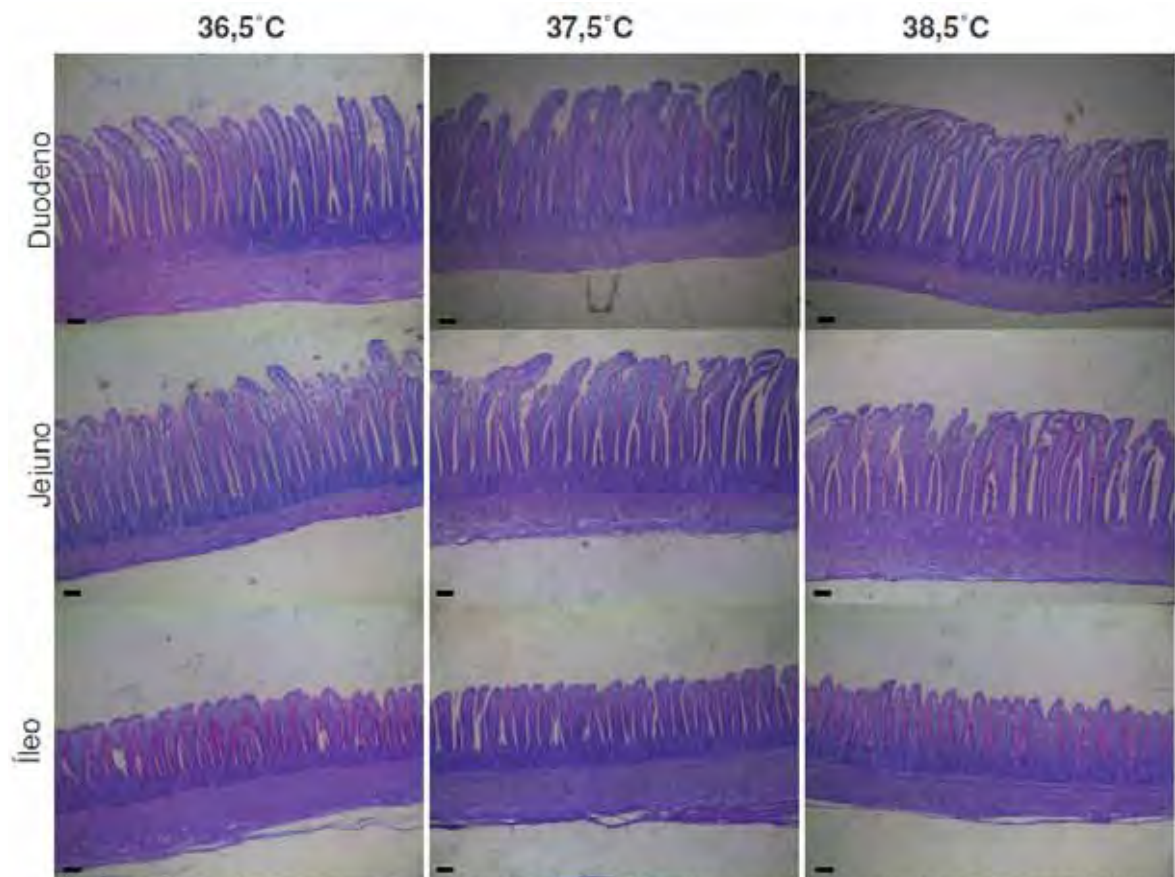


Figura 13 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

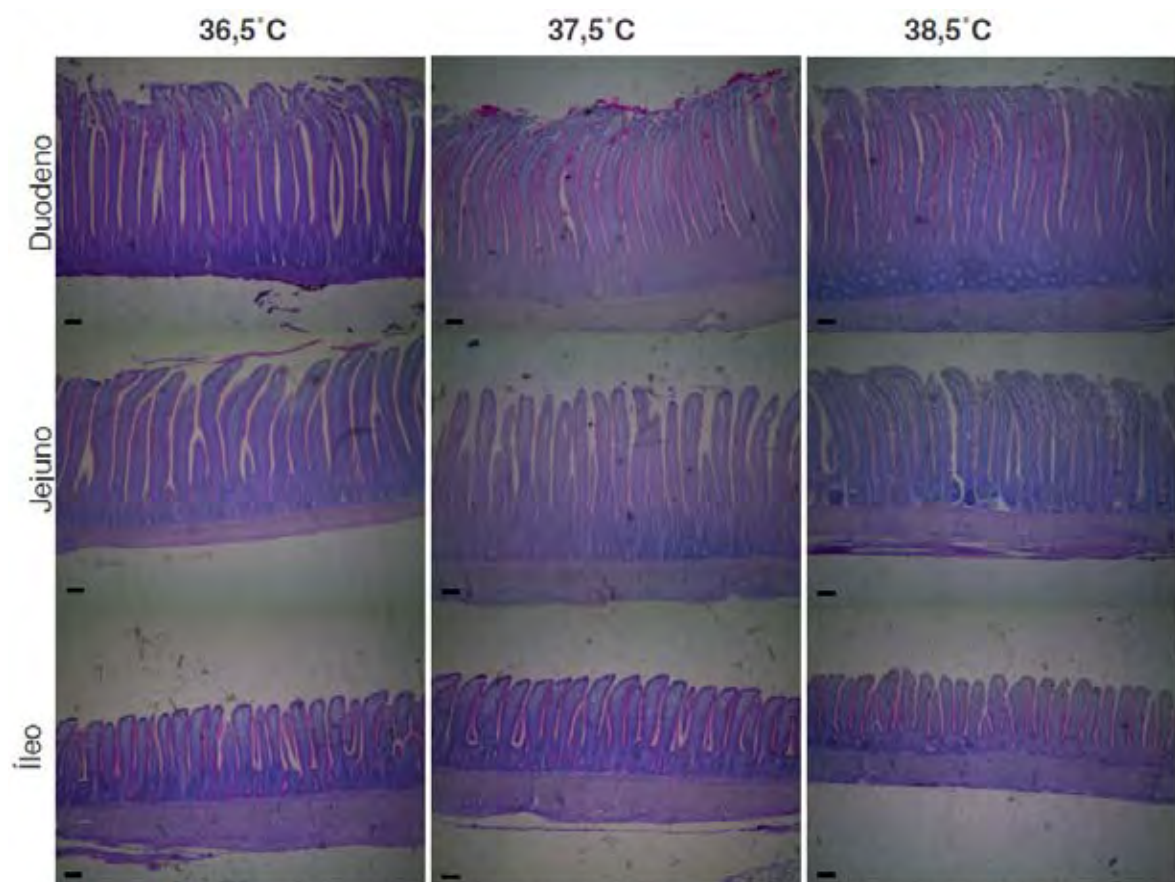


Figura 14 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

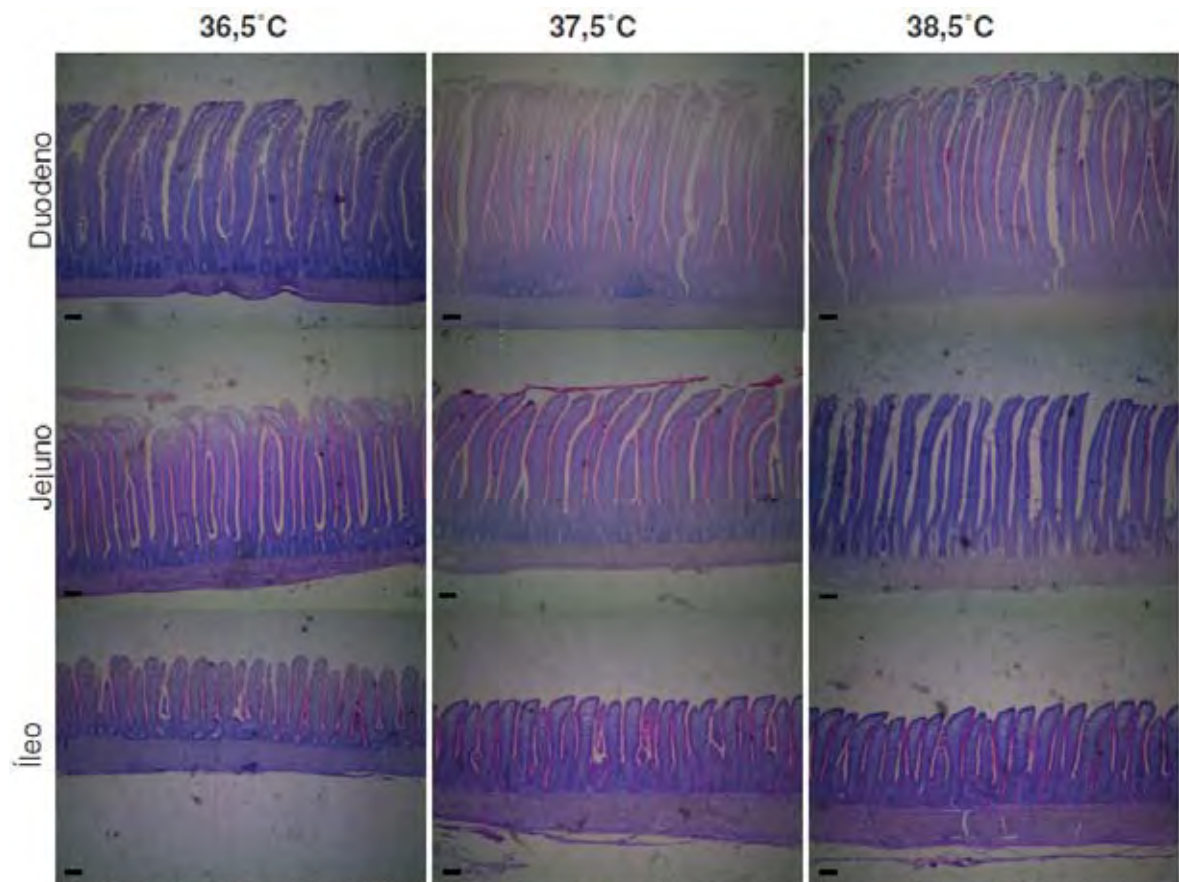


Figura 15 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

Para os pintos de 1 dia provenientes de matrizes velhas, observou-se maior profundidade de criptas no duodeno com a incubação em 37,5°C em relação às demais temperaturas (Tabela 19). Nestas aves, aos 7 dias, verificou-se maior profundidade de criptas no jejuno com a incubação em 37,5°C e 38,5°C em comparação a 36,5°C.

Tabela 18 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes temperaturas.

Segmento	Temperatura			Valor de p	CV (%)
	36,5 °C	37,5 °C	38,5 °C		
1dia					
Duodeno	59,57	55,65	62,28	0,1265	6,68
Jejuno	56,46	56,18	56,19	0,2148	7,61
Ileo	50,34	51,60	49,96	0,4633	7,55
4 dias					
Duodeno	107,14	95,92	102,56	0,4571	12,72
Jejuno	108,95	106,40	111,38	0,1997	10,45
Ileo	92,77	90,97	87,78	0,5387	11,43
7 dias					
Duodeno	169,97	175,32	178,27	0,4796	15,48
Jejuno	134,67b	165,85a	152,32ab	0,0164	13,20
Ileo	112,74	116,96	108,87	0,0668	13,74

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Tabela 19 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes temperaturas.

Segmento	Temperatura			Valor de p	CV (%)
	36,5° C	37,5° C	38,5° C		
1dia					
Duodeno	57,09b	67,73a	56,16b	0,0285	7,93
Jejuno	66,89	68,43	70,57	0,0665	8,33
Íleo	57,52	61,31	53,51	0,2890	8,27
4 dias					
Duodeno	100,83	111,86	105,08	0,0908	12,95
Jejuno	98,44	115,81	116,45	0,2378	11,84
Íleo	101,40	94,45	90,51	0,6120	13,39
7 dias					
Duodeno	124,25	120,11	131,28	0,2823	11,56
Jejuno	104,47b	141,88a	148,65a	0,0020	10,85
Íleo	96,20	102,02	92,25	0,0825	13,95

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

As Tabelas 20 e 21 mostram a densidade dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos de 1, 4 e 7 dias provenientes de matrizes de 35 e 55 semanas, respectivamente. As Figuras 16, 18, 20 e 22 mostram as fotomicrografias referentes às superfícies intestinais internas obtidas das aves oriundas de matrizes jovens. Já as Figuras 17, 19, 21 e 23 são referentes às aves oriundas de matrizes velhas. As temperaturas de incubação afetaram a densidade de vilos intestinais, independentemente da idade da matriz. Aos 20 dias de incubação, as aves provenientes de matrizes de 35 semanas incubadas em 36,5°C apresentaram maior densidade de vilos no duodeno, seguidos pelos fetos incubados em temperatura de 38,5°C, sendo a menor densidade observada para as aves provenientes da temperatura de 37,5°C. No jejuno, verificou-se maior densidade de vilos nos fetos aos 20 dias de incubação oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em 36,5°C em relação à temperatura de 37,5°C, não havendo diferença entre ambos os tratamentos e o grupo incubado em 38,5°C. Para o íleo, também foi observada maior densidade nos fetos aos 20 dias de incubação submetidos a 36,5°C em relação a 38,5°C e 37,5°C. Fetos aos 20 dias oriundos de matrizes de 55 semanas mostraram maior densidade de vilos no duodeno, jejuno e íleo quando incubados em 36,5°C em comparação a 38,5°C e 37,5°C que não diferiram entre si.

Em relação ao primeiro dia de vida, foi observado o mesmo comportamento para a densidade de vilos no duodeno nos pintos de matrizes de 35 e 55 semanas, em que a incubação em 36,5°C resultou em maior densidade de vilos nos pintos incubados em temperatura de 36,5°C, seguidos por 38,5 e de 37,5°C, que apresentaram menor densidade. Nesta idade a incubação em 36,5°C resultou em maior densidade de vilos no jejuno e íleo em comparação às demais temperaturas, independentemente da idade da matriz.

Aos 4 dias de vida, pintos provenientes de ovos de matrizes jovens apresentaram menor densidade de vilos no duodeno quando incubados em 37,5°C em comparação a 36,5°C e 38,5°C. No jejuno e íleo de pintos oriundos de ovos de matrizes jovens observou-se maior densidade de vilos com a incubação em 36,5°C em relação as demais temperaturas que não diferiram entre si. Nos pintos

provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas foi observada maior densidade de vilos no jejuno e íleo com a incubação em 36,5°C, seguido por 38,5°C e por 37,5°C.

Houve maior densidade de vilos duodenais nos pintos de 7 dias, provenientes de matrizes jovens, incubados em 36,5°C, seguidos pela incubação em 38,5°C e 37,5°C, que apresentou menor densidade de vilos. Nos pintos de 7 dias oriundos de matrizes de 55 semanas também foi encontrada maior densidade dos vilos do duodeno com a incubação em temperatura de 36,5°C em comparação a 38,5°C, ambos não diferindo de 37,5°C. No íleo, a incubação em 36,5°C resultou em maior densidade de vilos em comparação a 38,5°C e 37,5°C.

Pintos de 1 dia apresentaram menor atividade de tripsina total com a incubação em 36,5°, independentemente da idade da matriz (Tabelas 22 e 23). Ainda, quando incubados em 36,5°C, pintos de 1 dia provenientes de matrizes jovens e velhas apresentaram menor atividade de amilase específica e total, respectivamente. Aos 4 e 7 dias, pintos provenientes de matrizes velhas apresentaram menor atividade de tripsina total e amilase total, respectivamente.

Tabela 20 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.

Temperatura					
Segmento	36,5°C	37,5°C	38,5°C	CV(%)	Valor de p
20 dias					
Duodeno	1003 ^a	443c	692b	8,58	<0,0001
Jejuno	820 ^a	606b	743ab	11,33	0,0045
Íleo	1247 ^a	654b	601b	25,38	0,0006
1 dia					
Duodeno	891 ^a	325c	697b	10,11	<0,0001
Jejuno	850 ^a	587b	672b	14,29	0,0042
Íleo	896 ^a	514b	580b	9,29	<0,0001
4 dias					
Duodeno	148 ^a	82,8b	157a	24,13	0,0051
Jejuno	200 ^a	78,5b	126b	29,67	0,0015
Íleo	209 ^a	147b	159b	13,00	0,0021
7 dias					
Duodeno	99,8a	59,3c	73,8b	9,7	<0,0001
Jejuno	93,9	90,0	91,3	13,1	0,8775
Íleo	123,7	98,1	98,9	38,9	0,5587

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 21 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.

Temperatura					
Segmento	36,5° C	37,5° C	38,5° C	CV(%)	Valor de p
20 dias					
Duodeno	967 ^a	479b	529b	11,78	<0,0001
Jejuno	1044 ^a	535b	643b	14,65	<0,0001
Íleo	1181 ^a	657b	682b	19,27	0,0004
1 dia					
Duodeno	927 ^a	330c	687b	9,37	<0,0001
Jejuno	932 ^a	423b	585b	20,66	0,0002
Íleo	916 ^a	509b	560b	13,51	<0,0001
4 dias					
Duodeno	108,74a	104,90 ^a	98,93b	15,78	0,0051
Jejuno	198 ^a	115c	145b	9,34	<0,0001
Íleo	203 ^a	102c	145b	14,77	<0,0001
7 dias					
Duodeno	87,9a	74,6ab	61,8b	16,06	0,0167
Jejuno	87,0	86,2	85,7	14,17	0,9859
Íleo	172,3a	90,0b	92,1b	23,21	0,0006

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

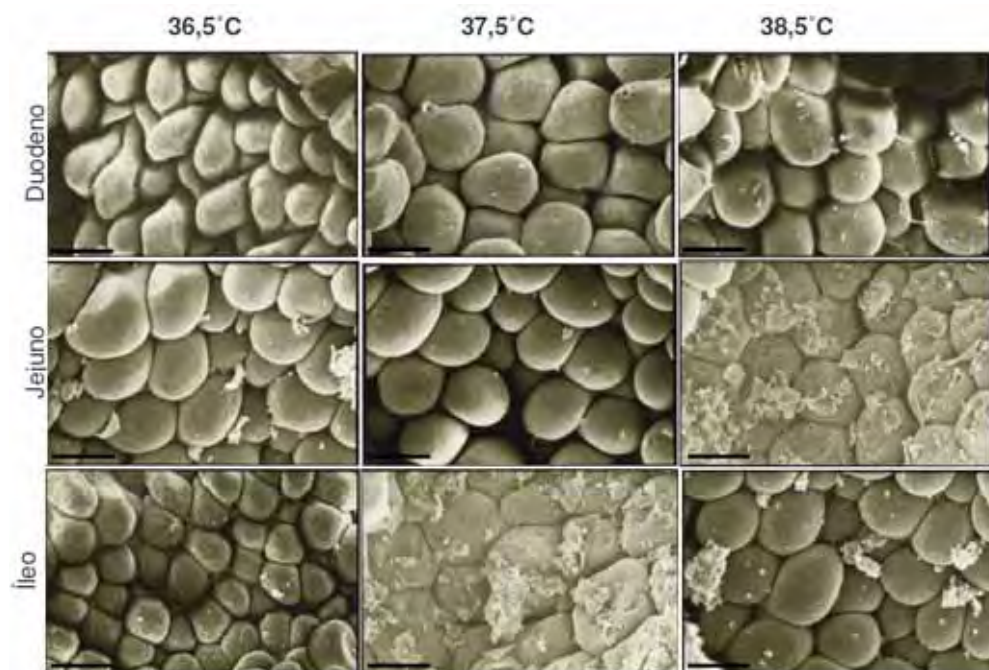


Figura 16 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 50µm).

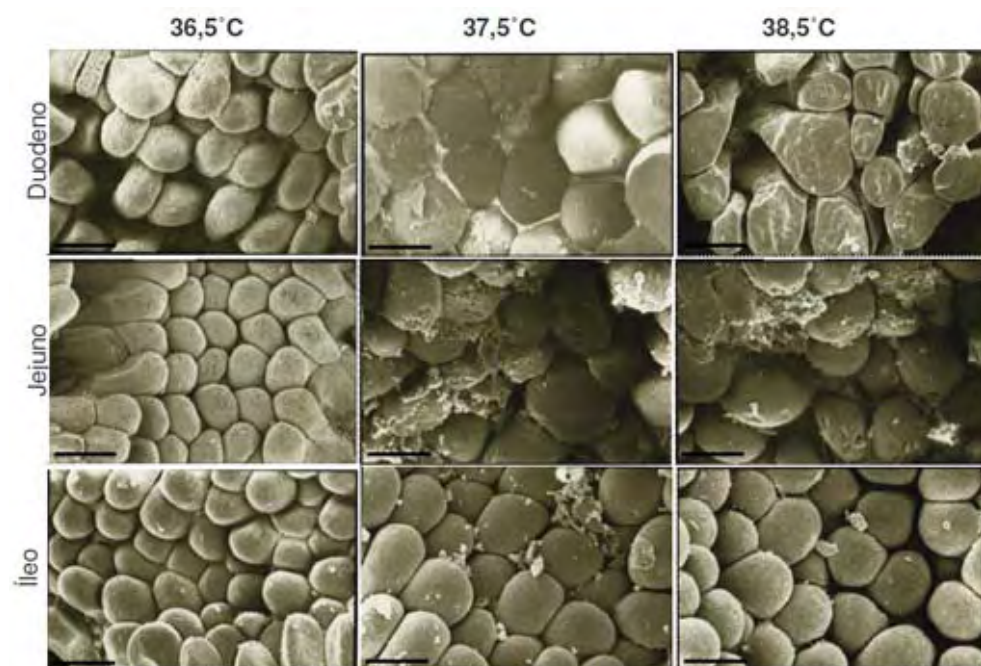


Figura 17 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 50µm).

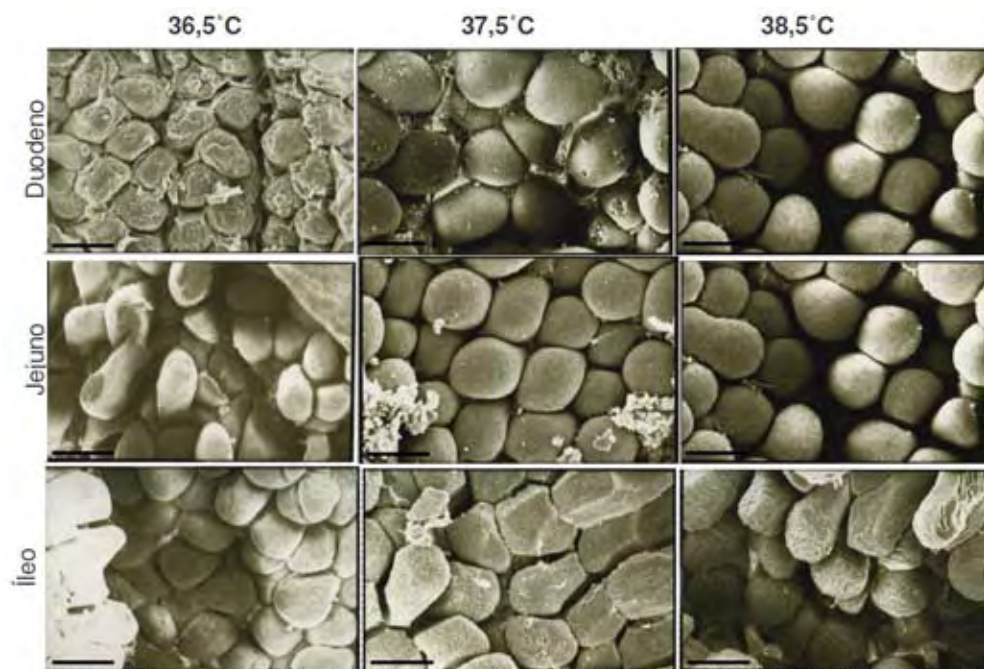


Figura 18 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 50µm).

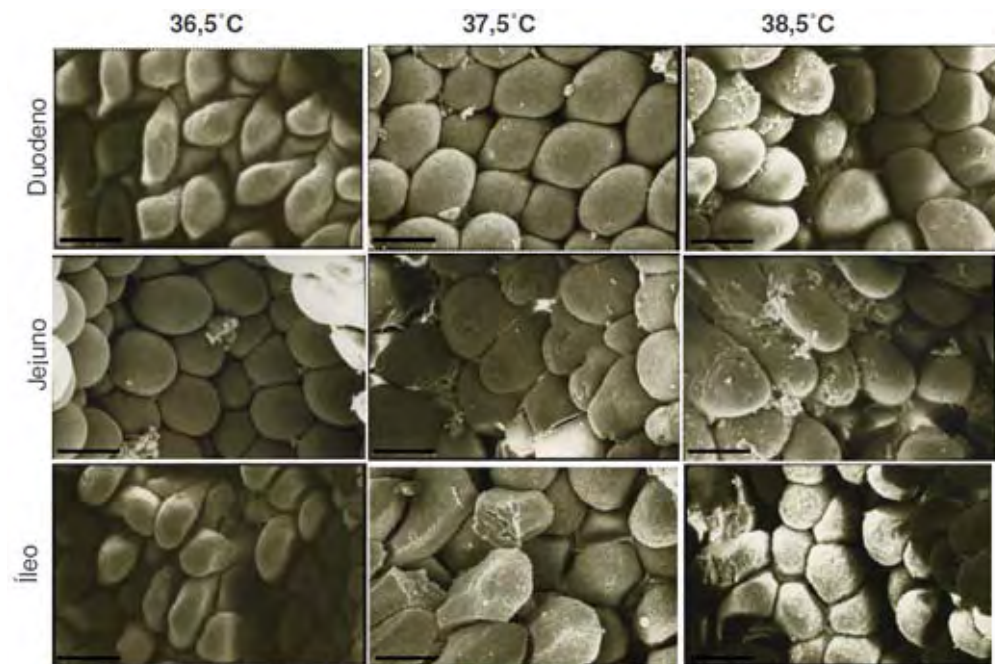


Figura 19 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 50µm).

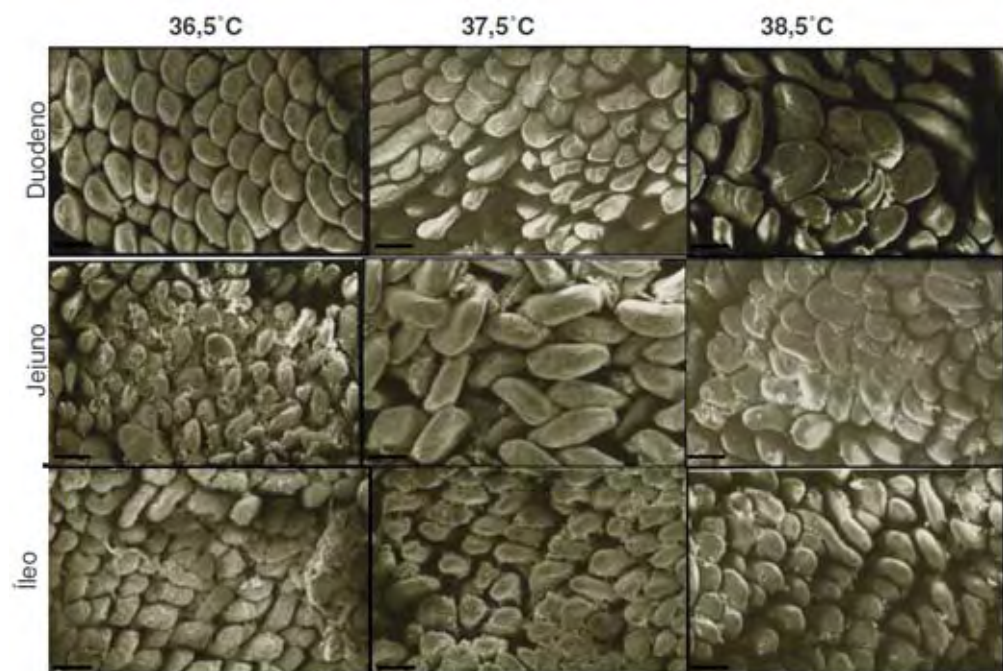


Figura 20 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

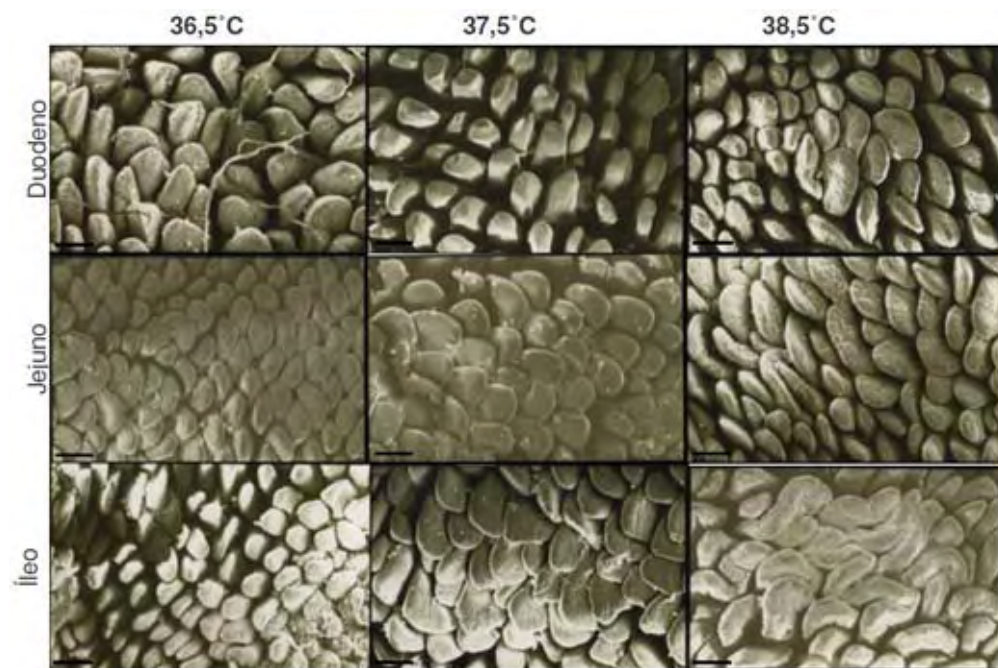


Figura 21 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

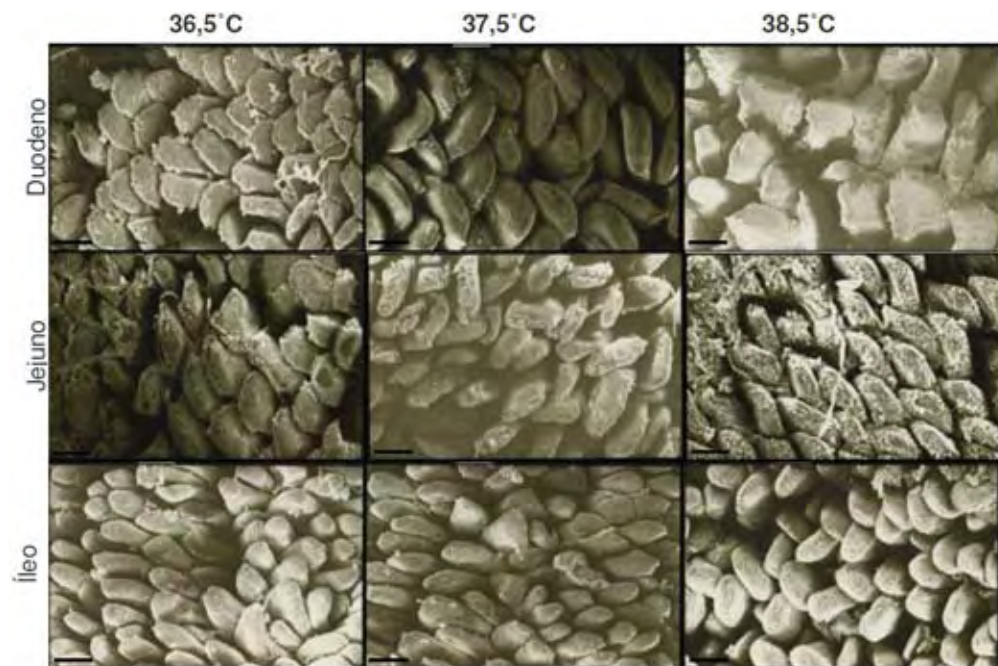


Figura 22 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

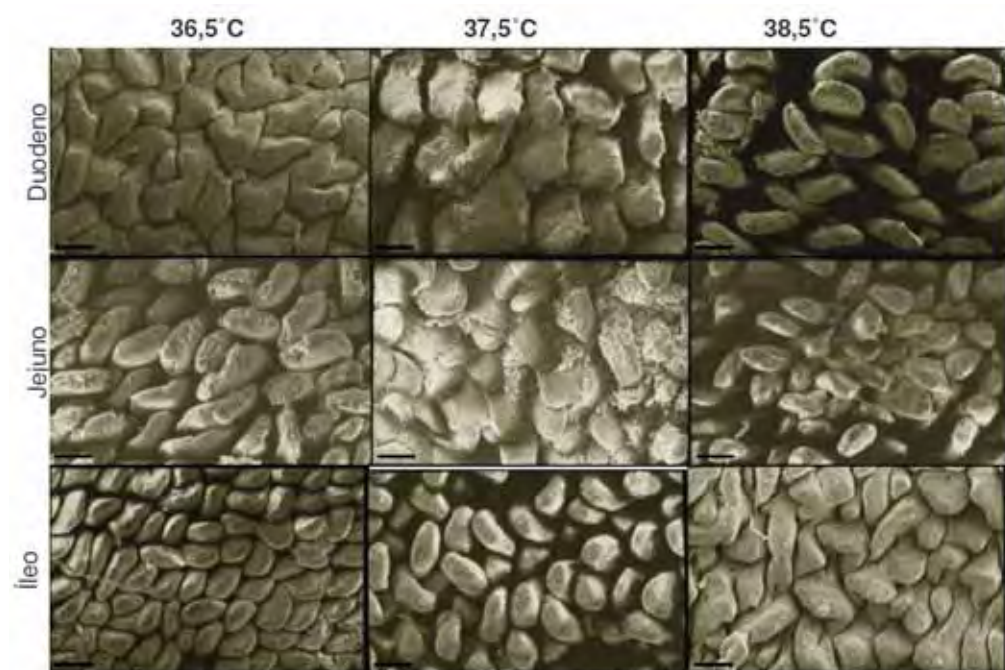


Figura 23 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em temperatura de 36,5°C, 37,5°C e 38,5°C (— = 100µm).

Tabela 22 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.

Enzima	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5 °C	37,5 °C	38,5 °C		
1 dia					
Tripsina específica	4,50	7,35	7,52	30,53	0,0674
Tripsina total	38,31b	74,61a	69,56ab	32,29	0,0330
Amilase específica	60,54b	72,98a	68,99ab	10,19	0,0428
Amilase total	537,24	660,75	663,56	13,30	0,0586
4 dias					
Tripsina específica	6,97	10,32	9,15	29,72	0,1640
Tripsina total	300,85	487,01	403,20	31,16	0,0978
Amilase específica	87,23	102,31	96,46	12,38	0,2150
Amilase total	3726,9	3969,3	3850,6	14,75	0,8182
7 dias					
Tripsina específica	10,42	14,25	14,69	24,37	0,1181
Tripsina total	1022,1	1131,8	1329,6	21,79	0,2284
Amilase específica	72,56	94,62	84,39	21,65	0,2291
Amilase total	7337,4	8309,2	9911,0	23,66	0,1732

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 23 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.

Enzima	Temperaturas			CV(%)	Valor de p
	36,5 °C	37,5 °C	38,5 °C		
1 día					
Tripsina específica	5,66	8,54	6,81	30,44	0,1756
Tripsina total	49,39b	98,89a	81,15a	21,57	0,0038
Amilase específica	59,50	74,37	70,23	16,55	0,1843
Amilase total	504,64b	849,80a	865,19a	15,41	0,0012
4 días					
Tripsina específica	7,77	11,09	10,80	33,24	0,2492
Tripsina total	335,32b	622,68a	536,20a	22,38	0,0045
Amilase específica	97,13	101,84	95,30	28,62	0,9306
Amilase total	3656,1	4211,4	4070,7	37,06	0,8282
7 días					
Tripsina específica	11,46	14,79	13,21	26,20	0,3915
Tripsina total	813,17	1413,8	1373,8	30,51	0,0691
Amilase específica	68,58	89,50	76,28	22,02	0,1931
Amilase total	5519,5b	9965,2a	10981,9a	29,11	0,0128

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

4. DISCUSSÃO

De acordo com French (1997) embriões são mais sensíveis às mudanças na temperatura no início da incubação que no final. Assim, a redução ou elevação em 1°C na temperatura de incubação não foram capazes de influenciar significativamente os parâmetros referentes ao desempenho da incubação como eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos. Entretanto, embora não significativas, observa-se prejuízos aos parâmetros da incubação com as temperaturas de 36,5°C e 38,5°C, com maior intensidade para o aumento da temperatura, principalmente nos parâmetros de eclosão e eclodibilidade. Nesse sentido, Lourens et al. (2005) e Molenaar et al. (2011) verificaram pior eclodibilidade com a exposição a temperatura de 38,9°C na última semana de incubação, e, entre 7 e 19 dias de incubação, respectivamente, e Yalcin et al. (2012) relataram pior eclodibilidade com a exposição à temperatura de 36,6°C por 6 horas por dia no período de 10 a 18 dias de incubação. Os resultados de eclosão e eclodibilidade obtidos com a incubação em temperatura de 37,5°C estão compatíveis com as condições de incubação e idade das matrizes utilizadas. Em relação à qualidade do pinto, os resultados mostram uma boa pontuação, uma vez que o escore máximo de um pinto é 100 (TONA et al., 2003).

O encurtamento e alongamento do período médio de bicagem interna, externa e nascimento em função de aumentos ou reduções na temperatura de incubação, respectivamente, estão bem documentados em pesquisas prévias (DECUYPERE & MICHELS, 1992). Gillooly et al., (2002) desenvolveram um modelo que prediz o tempo de desenvolvimento embrionário abrangendo tamanho do ovo e temperatura de incubação para aves e ectotérmicos aquáticos. A incubação de ovos em altas temperaturas resultou em menor duração da incubação em comparação ao grupo controle (MORITA et al., 2010; MOLENAAR et al., 2011). Christensen et al. (1999) relataram desenvolvimento mais rápido em embriões de perus incubados em alta temperatura no período final de incubação. Já, Yalcin et al. (2012) encontraram maior período de incubação em frangos de corte submetidos a baixa temperatura, de forma intermitente entre 10 e 18 dias de incubação. A redução na temperatura de incubação de 37,8°C para 33,8°C nos últimos cinco dias de incubação também resultou em eclosão tardia (KUHN et al., 1982).

Verificou-se melhor distribuição da janela de nascimento para as aves incubadas em temperatura de 37,5°C. Para analisar a janela de nascimento devemos observar principalmente a base que deve ser mais estreita e o pico mais alto, indicando menor intervalo entre os primeiros e os últimos pintos a eclodir e maior concentração dos nascimentos, respectivamente. Assim, fica evidente que a incubação em temperatura de 36,5°C ou 38,5°C prejudica os pintos no momento da eclosão, já que a janela de nascimento é uma ferramenta importante que está relacionada com a desidratação das aves no nascedouro (TWEED, 2005) e, consequentemente com a mortalidade nas primeiras semanas de vida da ave.

Em relação à temperatura de 37,5°C, a exposição a 36,5°C na segunda metade da incubação resultou em redução do peso dos fetos. Já, os fetos de ovos incubados em 38,5°C apresentaram peso intermediário entre os fetos de ovos incubados em 37,5°C e 36,5°C. No período pós-eclosão os pesos corporais dos pintos foram iguais em todos os tratamentos. Kuhn et al. (1982) também relataram menor peso corporal com a incubação em baixas temperaturas, com posterior ganho compensatório. Menor crescimento inicial com posterior recuperação e até melhoras na massa corporal pós-eclosão resultantes de diferentes tratamentos por frio durante a incubação foram relatadas como uma ferramenta para melhorar o desempenho das aves pós-eclosão por Decuyper e Michels (1992). Segundo Decuyper et al. (1979), a incubação em 35,8°C, 37,8°C e 38,8°C durante os primeiros 10 dias de incubação altera a duração do período de incubação, entretanto a produção de calor é a mesma em todos os tratamentos. Entretanto, Geers et al. (1983) incubaram ovos de galinha nos primeiros 10 dias em temperatura entre 35,8°C e 37,8°C e, subsequentemente, a 37,8°C, e mostraram que a temperatura afeta o consumo de oxigênio por unidade de massa embrionária seca.

A temperatura de incubação é capaz de alterar o metabolismo dos embriões (KUHN et al., 1982; TAZAWA et al., 1989). De acordo com French (1997) a produção de calor embrionária pode ser mensurada através do consumo de oxigênio. Assim, cada litro de oxigênio consumido pelo embrião é equivalente à produção de 4,69 kcal de calor (VLECK et al., 1980). O consumo médio de oxigênio de um ovo de galinha antes da bicagem é de 570 ml/dia (VLECK & VLECK, 1987). Tazawa et al. (1988) relataram que embriões entre 12 e 17 dias de incubação

expostos ao frio apresentam redução vertiginosa no consumo de oxigênio de acordo com a redução na temperatura de incubação. Observando a faixa de redução na temperatura de 1°C no trabalho realizado por Tazawa et al. (1988), equivalente à redução utilizada na presente pesquisa, a redução no consumo de oxigênio é de aproximadamente 5 a 10% em relação ao consumo de oxigênio do grupo controle. Ainda, quando a exposição ao frio ocorre após 17 dias de incubação, os embriões são capazes de manter o consumo de oxigênio com a redução da temperatura até 35°C (TAZAWA et al., 1989). Reduções na temperatura de incubação também resultam em redução da frequência cardíaca embrionária (TAZAWA & NAKAGAWA, 1985).

Sabe-se que os hormônios tireoidianos estão envolvidos com o evento da eclosão (LU et al., 2007) e a temperatura de incubação pode influenciar a concentração plasmáticas desses hormônios. A incubação em baixas temperaturas resulta em aumento nas concentrações plasmáticas de triiodotironina (T3) durante o período de incubação (KUHN et al., 1982; YALCIN et al., 2012), entretanto, essa resposta varia em função da genética das aves (CHRISTENSEN et al., 2002) e da idade da matriz (YALCIN et al., 2012). Por outro lado, a incubação em altas temperaturas, ocasiona reduções nas concentrações de T3, T4 (tiroxina) e corticosterona (PIESTUN et al., 2009).

Kuhn et al. (1982) relataram aumento da concentração sérica de T3 e redução da taxa de desenvolvimento que resultou em menor peso dos pintos de ovos incubados em 33,8°C durante os últimos 5 dias de desenvolvimento. Por outro lado, em pesquisa com diferentes linhagens de perus, dietas e temperaturas de incubação, Christensen et al. (2002) mostraram que a resposta da tireoide à incubação em baixa temperatura é variável, em função da linhagem utilizada. Os autores encontraram piora da eclodibilidade com incubação em temperatura baixa associado a aumento na relação T3:T4 em linhagens selecionadas para alta produção de ovos. Em linhagens selecionadas para ganho de peso, a incubação em baixa temperatura não influenciou a eclodibilidade e reduziu a concentração plasmática de T3, já na linhagem selecionada para produção de ovos houve aumento da concentração de T3. Ainda, aumentos na relação T3:T4 indicam altas taxas de desiodinação de T4 em T3 e, geralmente, elevações nesta variável antes

da eclosão resultam em maior mortalidade (CHRISTENSEN et al., 2002). Yalcin et al. (2012) também observaram aumento de T3 com incubação em baixa temperatura intermitente entre 10 e 18 dias de desenvolvimento de pintos provenientes de matrizes velhas, já nos pintos oriundos de matrizes jovens não foram encontradas diferenças nos níveis de T3 entre os tratamentos, sugerindo diferentes respostas em função também da idade da matriz. Assim, o efeito negativo da incubação em baixas temperaturas sobre o peso do feto parece não estar relacionado à ação dos hormônios tireoidianos, já que as concentrações séricas são aumentadas nestas situações e os órgãos apresentem menor desenvolvimento. Um fator que pode influenciar o desenvolvimento embrionário nessas situações é a concentração de corticosterona. De acordo com Eriksen et al. (2003), aumentos nas concentrações plasmáticas de corticosterona durante o início da incubação resultam em prejuízos ao crescimento dos pintos. Shinder et al. (2002) mostraram que a redução na temperatura de incubação resulta em maiores concentrações plasmáticas de corticosterona.

Atualmente, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas em condições de estresse por calor durante a incubação visando à aquisição de termotolerância pelas aves (PIESTUN et al., 2008; PISTUN et al., 2009; YAHAV, 2009). Esses estudos geralmente são realizados com mudanças na temperatura de incubação de forma intermitente. Lourens et al. (2005) não observaram diferença significativa no peso de fetos aos 18 dias com a incubação em temperatura alta na última semana, entretanto, após a eclosão, o calor na incubação causou menor peso dos pintos. Em perus, a incubação em alta temperatura nos 5 últimos dias não influenciou o peso dos fetos aos 27 dias, entretanto, aos 28 dias, o calor piorou o peso dos mesmos (CHRISTENSEN, et al., 2007).

A incubação em alta temperatura causa efeitos metabólicos e hormonais nas aves (YALCIN et al., 2009). De acordo com Lourens et al. (2007) a incubação em 38,9°C resulta em menor peso do pinto e maior produção de calor pelo embrião. Ainda, segundo, Decuypere et al. (1979) a incubação em alta temperatura nos primeiros 10 dias influencia a taxa de desenvolvimento, entretanto não altera o consumo de oxigênio pelos animais. Já, Piestun et al. (2009) relataram que em ovos incubados em 39,5°C cronicamente de 7 a 16 dias, os fetos apresentaram maior

frequência cardíaca, maior consumo de oxigênio, menor concentração plasmática de T3, T4 e corticosterona, menor peso relativo de embrião e menor peso relativo do fígado durante o período de aquecimento em relação ao controle. Nesse estudo, após 17 dias, observou-se menor frequência cardíaca e menor consumo de oxigênio, mantendo a menor concentração de T3, T4 e corticosterona e o menor peso relativo do embrião. Os autores também observaram pintos de pior qualidade e de cor pálida. Apesar da menor atividade da tireoide, foram encontradas maior frequência cardíaca e maior consumo de oxigênio, indicando maior taxa metabólica durante a fase embrionária. Os autores compararam os embriões com animais ectotérmicos, nos quais a taxa metabólica e a produção de calor parecem ser reguladas independentemente dos níveis plasmáticos de hormônios tireoideanos (LUTTERSCHIMIDT & HUTCHINSON, 2003; DUPRÉ et al., 1986). Yahav et al. (2004b) também encontraram menores níveis de hormônios tireoidianos em pintos quando os ovos foram incubados em temperatura de 38,5 durante os dias 16, 17 e 18 por 3 horas por dia, sugerindo uma redução da taxa metabólica. Yalcin et al. (2010) verificaram menores concentrações plasmáticas de T3 e T4 em frangos com até 28 dias após incubação em 38,5°C por 6 horas de 10 a 18 dias. Desse modo, o menor peso dos fetos incubados em altas temperaturas parece estar relacionado às menores concentrações de hormônios tireoidianos nessas condições.

Outro fator que contribui para o pior desenvolvimento dos fetos em baixa ou alta temperatura de incubação é a taxa de absorção do saco de vitelo. Maior volume de saco de vitelo durante a incubação ou pós-eclosão indicam redução na absorção da estrutura e, conseqüentemente, menor quantidade de nutrientes disponíveis para o desenvolvimento do embrião. No presente estudo foi observada menor absorção do saco de vitelo com a incubação em 36,5°C. Molenaar et al. (2011) observaram menor concentração de glicogênio hepático em fetos aos 18 dias quando os ovos foram submetidos a alta temperatura de incubação, sugerindo menor síntese ou maior utilização do glicogênio hepático como fonte de energia. No presente estudo, apenas aos 20 dias de incubação a 38,5°C causou maior porcentagem de saco de vitelo em ovos provenientes de matrizes jovens. Lourens et al. (2007), Lourens et al. (2005) e Wineland et al. (2006) também não verificaram efeito da incubação em alta temperatura sobre o peso do saco de vitelo. Já Leksrisonpong et al. (2007)

verificaram maior proporção de saco de vitelo com a incubação em alta temperatura no final do desenvolvimento embrionário.

O menor desenvolvimento dos órgãos é um fator que contribui para o menor desenvolvimento dos animais (MOLENAAR et al., 2011). Na presente pesquisa a incubação em 36,5°C resultou em menor porcentagem de moela, pâncreas e intestinos durante a fase fetal até pintos recém- eclodidos. Nas idades de 4 e 7 dias não foram observadas diferenças significativas com as temperaturas de incubação avaliadas e o desenvolvimento alométrico dos órgãos do sistema digestório. A incubação em 38,5°C resultou em valores intermediários entre as menores porcentagens de moela e intestinos, obtidos com a incubação em 36,5°C e os maiores com 37,5°C, sem diferença significativa entre eles.

Em relação ao peso dos órgãos, Wineland et al. (2006) verificaram menor peso relativo do jejuno com incubação em 36°C e 39°C em comparação a 38°C nos últimos 4 dias de incubação, e atribuíram esse efeito à ação da temperatura sobre os hormônios tireoidianos. Molenaar et al. (2011) verificaram mesma proporção de estômago e intestinos e menor proporção de fígado (associado a redução no glicogênio hepático total) em comparação ao peso do feto com a incubação em alta temperatura entre 7 e 19 dias. Lourens et al. (2007) não observaram efeito da incubação em alta temperatura sobre o peso relativo do fígado. Em perus, a incubação em altas temperaturas nos últimos dias de desenvolvimento resultou em menor peso do jejuno, menor atividade da maltase e da fosfatase alcalina (CHRISTENSEN et al., 2004a). Leksrisompong et al. (2007) relataram piora do peso relativo do proventrículo, moela e intestino delgado com exposição alta temperatura no período final da incubação.

Decuypere e Michels (1992) alertam que o desenvolvimento dos sistemas funcionais não é idêntico durante a embriogênese, havendo tecidos com desenvolvimento mais precoces ou mais tardios, indicando que o período no qual as variações na temperatura são impostas pode influenciar de forma diferente tais órgãos ou sistemas. A maioria das pesquisas avalia diferentes períodos de mudanças na temperatura de incubação, resultando em variações nos resultados obtidos. Ainda, a fase da incubação, na qual a alteração na temperatura é aplicada deve ser considerada, já que na primeira metade da incubação os ovos ganham

calor do ar ambiente, enquanto durante a segunda metade os ovos perdem calor (FRENCH, 1997). Por exemplo, no trabalho realizado por Leksrisompong et al. (2007) os autores observaram redução no desenvolvimento de órgãos vitais para o embrião como: coração, proventrículo, moela e intestino delgado com a incubação em alta temperatura no final do período de desenvolvimento. Apenas o fígado apresentou maior desenvolvimento com o calor e os autores atribuíram tal fenômeno à alta taxa de crescimento mitótico do fígado antes de 12 dias de incubação (DUMM & LEAVY, 1949) fora da fase de incubação, em que a mudança na temperatura foi aplicada.

O desenvolvimento da mucosa intestinal foi avaliado na presente pesquisa através da altura e densidade dos vilos nos três segmentos do intestino delgado. De acordo com Coulombre e Coulombre (1958), até o oitavo dia de incubação não existem evidências de vilos ou seus precursores no duodeno de embriões de pintos, e a partir do oitavo dia surgem vilos rudimentares que por volta de 16 dias começam a apresentar aparência de vilos e por volta de 18 a 19 dias se alongam rapidamente. Os vilos rudimentares se formam a partir de microfilamentos intracelulares (BURGESS, 1975). Durante seu desenvolvimento os vilos apresentam crescimento em altura e largura, determinando aumento da superfície de absorção (GEYRA et al., 2001) e, conseqüentemente, redução da densidade dos vilos na superfície intestinal.

Nota-se que as mudanças na temperatura utilizadas no presente experimento ocorreram durante o período de morfogênese dos vilos intestinais. A exposição às temperaturas de 36,5°C e 38,5°C prejudicaram o desenvolvimento da mucosa intestinal observadas através da menor altura dos vilos e maior densidade dos vilos intestinais no duodeno, jejuno e íleo principalmente nos fetos e pintos de 1 dia. Maior densidade de vilos indica maior número de vilos por unidade de área, sugerindo vilos de menor tamanho. A incubação em 36,5°C mostrou maior intensidade de efeito que 38,5°C. Aos 4 e 7 dias não observou-se o efeito da temperatura de incubação sobre a altura dos vilos, indicando um ganho compensatório das aves nestas idades. Alta temperatura durante o período final de incubação causou menor peso relativo do intestino delgado em pintos de 1 dia (LEKSRIOMPONG et al., 2007). Wineland et al. (2006) encontraram supressão da maturação da mucosa intestinal com a

incubação em alta temperatura a partir de 18 dias sem influenciar o peso corporal e do peso do saco de vitelo dos pintos.

Independentemente da idade da matriz, a incubação em 36,5°C resultou em menor atividade enzimática da amilase e tripsina e esse efeito foi mais evidente para atividade enzimática total, que leva em consideração o peso do pâncreas. Pintos de 1 dia incubados em 36,5°C apresentaram menor proporção de peso de pâncreas, significativo para pintos oriundos de matrizes jovens e apenas numérico para pintos provenientes de matrizes velhas. Os efeitos negativos da incubação em baixa temperatura sobre o pâncreas pode estar associado à menor taxa metabólica dos embriões (TAZAWA et al., 1988; 1989) e maiores concentrações plasmáticas de corticosterona (SHINDER et al., 2002), verificados nessas condições. No final do período de incubação observa-se incremento da atividade de enzimas pancreáticas apresentando diferentes taxas de incremento de acordo com a enzima (MARCHAIM & KULKA, 1967) e que a idade da matriz influencia a atividade de enzimas pancreáticas em embriões (MAIORKA et al., 2004).

Os resultados da presente pesquisa mostram que mudanças crônicas na temperatura de incubação, mesmo pequenas (apenas 1°C) prejudicam o desenvolvimento das aves nas fases pré e pós-eclosão, ajudando a explicar o pior desempenho de aves ao abate observado com aumento e redução de 1°C na temperatura nos últimos 5 dias de incubação (HULET et al., 2007).

Os dados obtidos não mostraram grandes diferenças entre as idades de matriz avaliadas, entretanto, sugerem maior sensibilidade ao estresse por frio em fetos provenientes de ovos de matrizes jovens do que de matrizes velhas. Ovos maiores são mais sensíveis a altas temperaturas que ovos menores (FRENCH, 1997). French (1994) obtiveram melhor eclodibilidade quando a temperatura foi reduzida em 1°C durante a segunda metade da incubação e esses resultados positivos não foram encontrados em ovos menores. Por outro lado, Morita et al. (2010) evidenciaram que ovos de matrizes jovens apresentam menor mortalidade embrionária quando incubados em temperaturas mais baixas.

5. CONCLUSÃO

A redução ou aumento de 1°C na temperatura de incubação em relação a 37,5°C nos últimos 10 dias afetam negativamente o desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório principalmente durante a fase fetal.

6. REFERÊNCIAS

BERNFELD, P. Amylases α and β . In: COLOWICK, S.B.; KAPPLAN, N.O. (Ed.) **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, v. 1, p. 143-153, 1955.

BLACK, B.L. Morphological development of the epithelium of the embryonic chick intestine in culture: Influence of thyroxine and hydrocortisone. **American Journal of Anatomy**, v. 153, n. 4, p. 573-600, 1978.

BROCKMAN, H.L. Triglyceride lipase from porcine pancreas. In: BOYER, P.D. (Ed.) **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, 1981, v. 71, p. 619-627.

BURGESS, D.R. Morphogenesis of intestinal villi: II. Mechanism of formation of previllous ridges. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v. 34, n.3, p. 723-740, 1975.

BURGUESS, D. Morphogenesis of intestinal villi II. Mechanism of formation of previllous ridges, **Journal of Embryology Experimental Morphology**, v. 34 , n. 3, p. 723-740, 1975.

CHRISTENSEN, V.L.; DONALDSON, W.E.; NESTOR, K.E. Length of plateau and pipping stages of incubation affects the physiology and survival of turkeys. **British Poultry Science**, v. 40, n. 2, p. 297–303, 1999.

CHRISTENSEN, V.L.; DAVIS, G.S.; NESTOR, K.E. Environmental incubation factors influence embryonic thyroid hormones. **Poultry Science**, v. 81, n. 4, p. 442-450, 2002.

CHRISTENSEN, V.L.; WINELAND, M.J.; YILDRUM, D.T. ORT, D.T.; MANN, K.M. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affects intestinal maturation of turkey embryos. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 6, p. 378-385, 2004a.

CHRISTENSEN, V.L.; WINELAND, M.J.; YILDRUM, B.D.; FAIRCHILD, B.D.; ORT, D.T.; MANN, K.M. Incubator temperature and oxygen concentration during the plateau stage in oxygen uptake affect turkey embryo plasma T4 and T3 concentrations. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 5, p. 268-273, 2005.

CHRISTENSEN, V.L.; WINELAND, M.J.; GRIMES, J.L.; OVIEDO, E.O.; MOZDZIAK, P.S.; ORT, D.T.; MANN, K.M. Effect of incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage in oxygen consumption on turkey embryo muscle growth and development. **International Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 6, p. 406-412, 2007.

COULOMBRE, A.J.; COULOMBRE, J.L. Intestinal development: I. Morphogenesis of the villi and musculature. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v. 6, n. 3, p. 403-411, 1958.

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

DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 48, n. 1, p. 28-38, 1992.

DUPRE, R.K.; JUST, J.; RITCHART, J.P. Thyroid hormones and behavioral thermoregulation by *Xenopus laevis*: Differential effects of thyroxine and triiodothyronine. **Canadian Journal of Zoology**, v. 64, n. 5, p. 1076–1079, 1986.

DUMM, M.E.; LEVY, M. Chemistry of the chick embryo. VII. The accumulation of solids in nitrogens, lipids, and peptidase by the gizzard and liver of the chick embryo. **Journal of Cellular and Comparative Physiology**, v. 33, n. 3, p. 373–382, 1949.

ERIKSEN, M.S.; HAUG, A.; TORJESEN, P.A.; BAKKEN, M. Prenatal exposure to corticosterone impairs embryonic development and increases fluctuating asymmetry in chickens (*Gallus gallus domesticus*). **British Poultry Science**, v. 44, n.5, p. 690-697, 2003.

FRENCH, N.A. Effect of incubation temperature on the gross pathology of turkey embryos. **British Poultry Science**, v. 35, n. 3, p. 363–371, 1994.

FRENCH, N.A. modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. **Poultry Science**, v. 76, n. 1, p. 124-133, 1997.

GEERS, R.; MICHELS, H.; NACKAERTS, G.; KONINGS, F. Metabolism and growth of chickens before and after hatch in relation to incubation temperatures. **Poultry Science**, v. 62, n. 9, p. 1869–1875, 1983.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick, **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 776-782, 2001.

GILLOOLY, J.F.; CHARNOV, E.L.; WEST, G.B.; SAVAGE, V.M.; BROWN, J.H. Effects of size and temperature on developmental time. **Nature**, v. 417, p. 70-73, 2002.

HAVENSTEIN, G.B.; FERKET, P.R.; QURESHI, M.A. Growth, livability and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, v. 82, n. 10, p. 1500-1508, 2003.

HULET, R.; GLADYS, G.; HILL, D.; MEIJERHOF, R.; EL-SHIEKH, T. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. **Poultry Science**, v. 86, n.2, p. 408-412, 2007.

KUHN, E.R.; DECUYPERE, E.; COLEN, L.M.; MICHELS, H. Posthatch Growth and Development of a Circadian Rhythm for Thyroid Hormones in Chicks Incubated at Different Temperatures. **Poultry Science**, v. 61, n. 3, p. 540-549, 1982.

LEKSRINSOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, P.W.; BRANNAN, K. E.; BRAKE, J. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. **Poultry Science**, v. 86, n. 12, p. 2685-2691, 2007.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. **Poultry Science**, v. 84, n. 6, p. 914-920, 2005.

LOURENS, A.; HEETKAMP, M.J.W.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during Incubation. **Poultry Science**, v. 86, n. 10, p. 2194-2199, 2007.

LUTTERSCHMIDT, D.I.; HUTCHISON, V.H. Influence of thyroid hormones on the thermal selection of African house snakes (*Lamprophis fuliginosus*). **Journal of Thermal Biology**, v.28, n. 2, p. 167–173, 2003.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A.V.F.; ROUTMAN, K.S.; PIZAULO JUNIOR, J.M.; MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2004.

MARCHAIM, U.; KULKA, R.G. The non-parallel of amylase, chymotrypsinogen and procarboxypeptidase in the developing chick pancreas. **Biochimica et biophysica acta**, v. 146, n. 2, p. 553-559, 1967.

MEIJERHOF, R.; VAN BEED, G. Mathematical modeling of temperature and moisture loss of hatching eggs. **Journal of Theoretical Biology**, v. 165, n. 1, p. 27-43, 1993.

MOLENAAR, R.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period. **Poultry Science**, v. 90, n. 6, p. 1257-1266, 2011.

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

PIESTUN, Y.; SHINDER, D.; RUZAL, M.; HALEVY, O.; BRAKE, J.; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: effect on the acquisition of thermotolerance. **Poultry Science**, v. 87, p. 1516-1525, 2008.

PIESTUN, Y.; HALEVY, O.; YAHAV, S. Thermal manipulations of broiler embryos – the effect on thermoregulation and development during embryogenesis. **Poultry Science**, v. 88, p. 2677-2688, 2009.

PIZAURO, J.M.; FERRO, J.A.; LIMA, A.C.F.; ROUTMAN, K.S.; PORTELLA, M.C. The zymogen-enteropeptidase system: A practical approach to study the regulation of enzyme activity by proteolytic cleavage. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, USA, v. 32, n.1, p. 45-48, 2004.

RASBAND, W.S. Image J, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 2004. Disponível em: <<http://rsb.info.nih.gov/ij/>> Acesso em: 22 de fevereiro de 2011.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, L. S. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª Edição. Viçosa, 2011, p. 120.

SMITH, M. W.; MITCHELL, M. A.; PEACOCK, M. A. Effects of genetic selection on growth rate and intestinal structure in the domestic fowl (*Gallus Domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology**, v. 97A, n. 1, p. 57–63, 1990.

TAZAWA, H.; NAKAGAWA, S. Response of egg temperature, heart rate and blood pressure in the chick embryo to hypothermal stress. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 155, n. 2, p. 195-200, 1985.

TAZAWA, H.; WAKAYAMA, H.; TURNER, J.S.; PAGANELLI, C.V. Metabolic compensation for gradual cooling in developing chick embryo. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 89A, n. 2, p. 125-129, 1988.

TAZAWA, H.; WHITTOW, G.C.; TURNER, J.S.; PAGANELLI, C.V. Metabolic responses to gradual cooling in chicken eggs treated with thiourea and oxygen. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 92A, n. 4, p. 619-622, 1989.

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

TWEED, S. **The hatch window**. Cobb-Vantress Technical Focus. Vol. 2. Siloam Springs, AR, 2005.

UNI, Z.; TAKO, E.; GAL-GARBER, O.; SKLAN, D. Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of late term-embryo. **Poultry Science**, v. 82, n. 11, p. 1747-1754, 2003.

VIEIRA, S. L.; MORAN JR, E. T. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, n. 2, p. 126-192, 1999.

VLECK, C.M.; VLECK, D.; HOYT, D.F. Patterns of metabolism and growth in avian embryos. **American Zoologist**, v. 20, n. 2, p. 405-416, 1980.

VLECK, C.M.; VLECK, D. Metabolism and energetics of avian embryos. **Journal of Experimental Zoology – The Supplement**, v. 1, p. 111–126, 1987.

WINDHORST, H. W. Changes in poultry and trade worldwide. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 4, p. 584–602, 2006.

WINELAND, M.W.; CHRISTENSEN, V.L.; YILDRUM, I.; FAIRCHILD, B.D.; MANN, K.M.; ORT, D.T. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage in oxygen consumption affects intestinal maturation of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 3, p. 229-240, 2006.

YAHAV, S.; COLLIN, A.; SHINDER, D.; PICARD, M. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. **Poultry Science**, v. 83, n. 12, p. 1959-1963, 2004b.

YAHAV, S. Alleviating heat stress in domestic fowl: different strategies. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 4, p. 719-732, 2009.

YALCIN, S.; BRUGGEMAN, V.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E.; CABUK, M.; SIEGEL, P.B. Acclimation to heat during incubation: 4. Blood hormones and metabolites in broilers exposed to daily high temperatures. **Poultry Science**, v. 88, n. 9, p. 2006-2013, 2009.

YALCIN, S.; OZKAN, S.; SIEGEL, P.; YENISEV, C.; AKSIT, M. Manipulation of Incubation Temperatures to Increase Cold Resistance of Broilers: Influence on Embryo Development, Organ Weights, Hormones and Body Composition. **The Journal of Poultry Science**, v. 49, n. 2, p. 133-139, 2012.

CAPÍTULO 3 – Concentrações de CO₂ durante a incubação no desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de fetos e pintos oriundos de ovos de matrizes de diferentes idades

RESUMO - O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de CO₂ sobre o desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de fetos e pintos na fase pré-inicial oriundos de ovos de matrizes de diferentes idades. Foram utilizados 1296 ovos férteis de matrizes Cobb, sendo 648 de 35 semanas e 648 de 55 semanas. Os ovos foram distribuídos em delineamento inteiramente causalizado em três incubadoras: uma mantida sem injeção de CO₂ durante todo o período de incubação e as outras receberam injeções gradativas e contínuas de CO₂ até atingir 1% e 1,5% de CO₂ cada uma, até o décimo dia de incubação. Todas as incubadoras foram mantidas em condições normais de ventilação durante todo o período de incubação. Foram avaliados a eclosão, eclodibilidade, qualidade do pinto, período médio e duração de bicagem interna, bicagem externa e nascimento, o crescimento alométrico dos órgãos do sistema digestório dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida), o desenvolvimento da mucosa intestinal dos fetos (16, 18 e 20 dias de incubação) e dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida) e a atividade de enzimas pancreáticas dos pintos (1, 4 e 7 dias de vida). A concentração de 1,5% de CO₂ prolongamento o período médio de bicagem interna, externa e nascimento em relação aos grupos controle e em concentração de 1% de CO₂. Aos 16 dias de incubação, observou-se maior peso dos fetos de matrizes de 35 semanas incubados em 1% de CO₂ em comparação ao controle, ambos não diferindo de 1,5%. Aos 20 dias de incubação, observou-se menor porcentagem de saco de vitelo nos fetos incubados em 1,5% de CO₂. Pintos de 1 dia oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas incubados em 1,5% de CO₂ apresentaram maior proporção de vitelo e menor porcentagem de moela, pâncreas e intestino. Aos 7 dias, a incubação em 1,5% de CO₂ reduziu a porcentagem de intestino em pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas em comparação ao grupo controle e ao concentração de 1% de CO₂. Independentemente da idade da matriz, a incubação em 1% de CO₂ estimulou o desenvolvimento dos vilos intestinais em fetos e pintos após a eclosão por meio de aumento na altura dos vilos e menor densidade de vilos no intestino delgado, enquanto a concentração de 1,5% prejudicou esses parâmetros. Pintos de 1 dia provenientes de matrizes jovens incubados em concentração de CO₂ de 1% apresentaram maior atividade de amilase total e tripsina total em relação aos pintos incubados em 1,5%, ambos não diferindo do controle. Independentemente da idade da matriz, aos 7 dias, a incubação em 1,5% resultou em menor atividade de amilase específica e total em relação ao controle e à concentração de 1%. Assim, a incubação em concentração de 1% de CO₂ nos primeiros 10 dias influenciou positivamente o desenvolvimento do sistema digestório em fetos e pintos, enquanto a concentração de 1,5% provocou o efeito contrário.

Palavras-chave: digestão, eclodibilidade, frangos de corte, hipercapnia

CHAPTER 3 – CO₂ concentrations during incubation on digestive system development of fetuses and chicks from eggs of broiler breeders of different ages

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effect of different CO₂ concentrations on morphophysiological development of digestive system of fetuses and chicks in the pre-starter of eggs from heavy broiler breeders of different ages. It was used 1296 fertile eggs from Cobb broiler breeders, half with 35 weeks and half with 55 weeks. The eggs were divided into three incubators in completely randomized design: one was maintained without CO₂ injection during the whole incubation period and the other received crescent and continuous injections of CO₂ until concentration reached 1% and 1.5%, until the tenth day of incubation. All incubators were kept under normal conditions of ventilation during the entire incubation period. Was evaluated: hatching, hatchability, chick quality, period and duration of internal and external pipping and birth, allometric growth of the organs of fetuses organs of digestive system (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks (1, 4 and 7 days of life), the intestinal mucosa development of the fetuses (16, 18 and 20 days of incubation) and chicks (1, 4 and 7 days old) and the pancreatic enzymes activity of chicks (1, 4, and 7 days of life). The 1.5% CO₂ concentration caused a stretching in the average period of internal and external pipping and birth in relation to the control groups and the 1% CO₂ concentration group. At 16 days of incubation, there was a increase in fetuses weight from 35 weeks breeders, incubated in 1% CO₂ concentration, when compared to control group, neither of differing 1.5%. 1 day old chicks coming from eggs of 35 weeks breeders, incubated in 1.5% CO₂ concentration, had higher percentage of yolk sac and lowest gizzard, pancreas and intestine. At 7 days, the incubation in 1.5% CO₂ concentration caused a reduction in the rate of intestine in chicks from eggs of 35 weeks breeders compared to the control group and the 1% CO₂ concentration group. Regardless of broiler breeders age, the incubation in 1% CO₂ stimulated intestinal villi development in fetuses and post-hatch chicks by increasing the villous height and lower density of small intestine villi, while the concentration of 1.5% decreased these parameters. 1 day old chicks from young breeders, incubated in 1% CO₂ concentration, had higher activity of total amylase and trypsin in total chicks hatched at 1.5%, both not different from control. Regardless of breeders age at 7 days the incubation in 1.5% resulted in lower activity of specific and total amylase compared to control group and to the concentration of 1% group. Thus, the incubation in 1% CO₂ concentration within 10 days can positively influence digestive system development in fetuses and chicks, while the 1.5% CO₂ concentration caused the opposite effect.

Keywords: broilers, digestion, hatchability, hypercapnia

1. INTRODUÇÃO

Para garantir o crescimento de produção de carne de frango nas últimas décadas (WINDHORST, 2006), a incubação artificial atuou com destaque, permitindo a produção de pintos em escala. Nesse sentido, técnicas de manejo vêm sendo utilizadas durante o processo de incubação com o objetivo de melhorar a eclodibilidade, qualidade do neonato e, atualmente, efeitos epigenéticos.

Estudos mostram que a hipercapnia durante a incubação pode estar associada à aspectos negativos como piora na eclodibilidade (TAYLOR et al., 1956; TAYLOR & KREUTZIGER 1965, 1966) ou positivos como aumento do peso dos embriões e pintos, redução do tempo de incubação e melhora da eclodibilidade (BUYS et al., 1998; DE SMIT et al., 2006; BRUGGEMAN et al., 2007) dependendo da fase de desenvolvimento embrionário e da concentração de CO₂ utilizado (DECUYPERE et al., 2006). Decuypere e Bruggeman (2007) relatam o aumento no interesse pelas investigações a respeito do ambiente gasoso envolvendo condições de hipóxia e hipercapnia, sugerindo que práticas de manejo podem melhorar o desempenho da incubação.

Os efeitos da hipercapnia durante a incubação sobre a função cardiovascular (DECUYPERE et al., 2006) e respiratória (BRUGGEMAN et al., 2006) são bem conhecidos. Entretanto, pouco se sabe se esta condição atua sobre o sistema digestório. Estímulos à vasculogênese durante a incubação em função da hipercapnia (VERHOELST et al., 2011b) poderiam afetar indiretamente o sistema digestório. Após a eclosão, quando as reservas provenientes do vitelo se esgotam, o fornecimento de nutrientes é dependente desse sistema (VIEIRA & MORAN JR, 1999) que está diretamente relacionado à alta taxa de crescimento do frango de corte atual (SMITH et al. 1990).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de concentrações crescentes de CO₂ durante os primeiros 10 dias de incubação sobre o desenvolvimento morfofisiológico dos órgãos do sistema digestório de fetos e pintos durante a fase pré-inicial oriundos de ovos de matrizes pesadas de diferentes idades.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp/Jaboticabal, utilizando três incubadoras verticais com capacidade para 600 ovos equipadas com controladores de umidade e temperatura (Premium Ecológica). Foram utilizados 1296 ovos férteis, sendo 648 de matrizes com idade de 35 semanas e 648 de matrizes com idade de 55 semanas. Os ovos foram pesados, numerados e distribuídos em três incubadoras, sendo mantidos à temperatura de 37,5°C, umidade de 60% e viragem dos ovos em 45° a cada 1 hora durante todo o período de incubação. Cada incubadora contou com 216 ovos de matrizes jovens e 216 ovos de matrizes velhas distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (concentrações de CO₂). Do primeiro ao décimo dia de incubação, duas incubadoras receberam injeções gradativas e contínuas de CO₂ de acordo com a Figura 1 e após esse período as incubadoras foram mantidas em condições normais de ventilação. A quantidade de CO₂ nas incubadoras foi regulada com controladores de CO₂ (Vaisala).

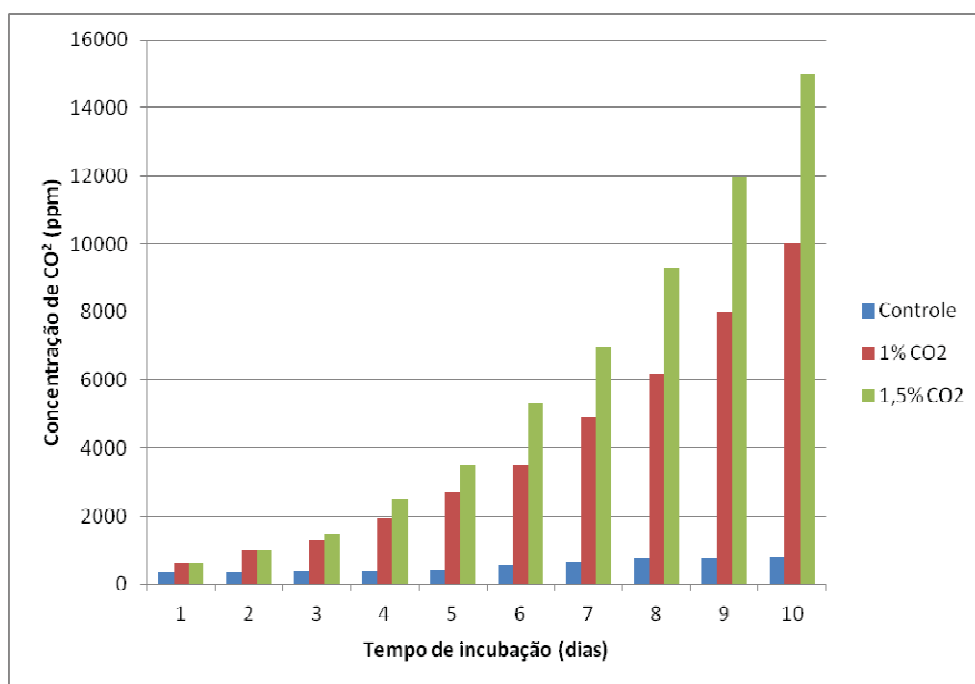


Figura 1 – Concentrações de CO₂ durante o processo de incubação.

No nono dia de incubação foi realizada ovoscopia e os ovos inférteis foram retirados. A umidade do ar das incubadoras foi mantida em 60% até a eclosão dos pintos e a viragem dos ovos em 45° a cada 1 hora até o 18° dia de incubação. Cada incubadora foi abastecida com 216 ovos de matrizes jovens e 216 ovos de matrizes velhas. Após a eclosão, os pintos foram criados até 7 dias. As aves foram alojadas em gaiolas em câmara climatizada com temperatura de 32°C com programa de luz contínua, recebendo água e ração com 22,48% de proteína bruta e 2960 kcal de energia metabolizável/kg, segundo Rostagno et al. (2011) à vontade.

2.1 Características avaliadas:

2.1.1 Parâmetros da Incubação

Para avaliação da eclosão, eclodibilidade e qualidade dos pintos foram utilizadas 5 repetições de 30 ovos para cada idade de matriz utilizada, totalizando 150 ovos de matrizes jovens e 150 ovos de matrizes velhas. A eclosão foi avaliada através da relação entre o número de pintos eclodidos e o número de ovos incubados. A eclodibilidade foi calculada por meio da relação entre o número de ovos eclodidos e o número de ovos férteis incubados. Após a eclosão foi realizada a classificação dos pintos de acordo com Tona et al. (2003). A Tabela 1 mostra a classificação dos escores de acordo com os parâmetros observados.

Para avaliação da bicagem interna, externa e o nascimento os ovos foram colocados em sacos de tule aos 18 dias de incubação. Foram utilizados 5 repetições de 24 ovos para cada idade de matriz utilizada, totalizando 120 ovos de matrizes jovens e 120 ovos de matrizes velhas. O monitoramento da bicagem interna, externa e do nascimento iniciou-se às 444 horas de incubação e terminou às 532 horas e foi realizado a cada 2 horas. A bicagem interna foi avaliada através de ovoscopia. A bicagem externa e o nascimento foram avaliados a olho nu, observando-se o rompimento da casca do ovo pelo bico do pinto e a saída completa do pinto da casca do ovo, respectivamente. O tempo médio de bicagem interna é representado pelo período entre o início da incubação e a visualização da bicagem interna. O tempo médio de bicagem externa é representado como o período entre o início da

incubação e a visualização da bicagem externa. O tempo médio de nascimento é ocorre entre o início da incubação e a visualização do nascimento.

Tabela 1 – Atribuição dos escores a diferentes parâmetros observados.

Parâmetros	Características	Escore
Atividade	Boa	6
	Fraca	0
Penas e aparência	Limpas e secas	10
	Úmidas	8
	Sujas e úmidas	0
Retração da gema	Interiorização normal da gema	12
	Interiorização de gema grande e difícil ao toque	0
Olhos	Abertos e brilhantes	16
	Abertos e sem brilho	8
	Fechados	0
Pernas	Pernas e dedos normais	16
	Uma perna afetada	8
	Duas pernas afetadas	0
Umbigo	Completamente fechado e limpo	12
	Parcialmente aberto e cor semelhante à pele	6
	Aberto e cor diferente da pele	0
Membrana remanescente	Sem membrana	12
	Membrana pequena	8
	Membrana grande	6
	Membrana muito grande	0
Gema remanescente	Sem gema	16
	Gema pequena	12
	Gema grande	8
	Gema muito grande	0

(TONA et al., 2003)

A duração da bicagem interna foi calculada subtraindo-se o horário de início da bicagem externa do início da bicagem interna de cada ovo monitorado. A duração da bicagem externa foi calculada subtraindo-se o horário de início do nascimento do horário de início da bicagem externa. A duração do nascimento foi calculada somando-se a duração da bicagem interna e a duração da bicagem externa, considerando-se que o processo de nascimento iniciou-se no momento em que o pinto perfurou a câmara de ar até ao momento da saída da casca.

2.1.2 Crescimento Alométrico dos Órgãos do Sistema Digestório

O crescimento alométrico dos órgãos do sistema digestório foi avaliado nos fetos e nos pintos. Para tanto, foram utilizadas cinco ovos de cada tratamento em cada idade. Nos fetos foi mensurado aos 16, 18 e 20 dias de incubação e nos pintos com 1, 4 e 7 dias de idade após jejum alimentar de 12 horas. Os ovos e os pintos através do peso médio do grupo ($\pm 10\%$). Os fetos e os pintos foram abatidos por decapitação. Os protocolos experimentais estão de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da FCAV-UNESP. O sistema digestório dos fetos foi separado em: saco de vitelo, proventrículo, moela (ventrículo muscular), intestino e fígado e dos pintos em saco de vitelo, proventrículo, moela, intestino, fígado e pâncreas, sendo cada órgão lavado e pesado individualmente. O peso dos fetos e pintos foi registrado descontando-se o peso do saco de vitelo para o cálculo da porcentagem de cada órgão do sistema digestório que foi calculado através da relação entre o peso do órgão e o peso do feto ou pinto em porcentagem.

6.1.3 Desenvolvimento da Mucosa Intestinal

2.1.3.1 Microscopia de Luz

As análises dos parâmetros morfométricos intestinais foram realizadas nas mesmas aves utilizadas para coleta dos órgãos do sistema digestório, ou seja, fetos aos 16, 18 e 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias de vida, após jejum de 12 horas. Foram extraídas amostras de cada uma das regiões do intestino delgado: duodeno, jejuno e íleo. Foram coletadas amostras do duodeno na porção proximal descendente da alça duodenal, do jejuno na região posterior à porção distal da alça duodenal e do íleo na região cranial aos cecos. Foram coletadas amostras de 1 cm aos 16 e 18 dias de incubação, de 1,5 cm aos 20 dias de incubação e 1 dia de vida e de 2 cm aos 4 e 7 dias de vida. As amostras foram fixadas imediatamente em solução de Bouin por 24 horas. Em seguida foram lavadas em álcool 70% para

retirada do fixador e, posteriormente, desidratadas em série crescente de etanol (70%, 80%, 90% e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram feitos 5 cortes histológicos por amostra, com cinco micrômetros cada, corados com hematoxilina e eosina. As imagens dos cortes histológicos foram obtidas utilizando-se um sistema de captura de imagem (Leica). As imagens foram fotografadas em aumento de 10 vezes (16 dias de incubação e 1 dia de idade), 20 vezes (18 e 20 dias de incubação) e 5 vezes (4 e 7 dias de idade). As análises foram feitas pelo programa Image J® (RASBAND, 2004). Foi mensurada a altura de vilos aos 16, 18 e 20 dias nos fetos e aos 1, 4 e 7 dias nos pintos e a profundidade das criptas nos pintos aos 1, 4 e 7 dias, sendo realizadas 30 leituras/segmento intestinal.

2.1.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para o estudo da microscopia eletrônica de varredura foram utilizadas amostras intestinais coletadas das mesmas aves utilizadas na microscopia de luz (20 dias de incubação e 1, 4 e 7 dias de idade), seguindo a mesma metodologia de coleta. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% e tampão fosfato, por 24 horas a 4°C. Após fixação, os fragmentos foram lavados com o mesmo tampão e pós-fixados com tetróxido de ósmio 1% em tampão fosfato por 2 horas. As amostras foram lavadas novamente na mesma solução tampão e desidratadas em série crescente de etanol. Após obtenção do ponto crítico de secagem, utilizando CO₂, os fragmentos foram metalizados em ouro e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (modelo JEOL JSM 25SII). As amostras intestinais dos fetos aos 20 dias de incubação e pintos de 1 dia de idade foram fotografadas em aumento de 500 vezes e as amostras de pintos aos 4 e 7 dias em aumento de 150 vezes, assim, a área de cada fotomicrografia correspondeu a 0,039287 e 0,468843 mm² da mucosa de cada amostra, respectivamente. A densidade de vilos por área foi expressa como o número de vilos/mm².

2.1.4 Atividade de enzimas pancreáticas

Para análise da atividade de enzimas pancreáticas foram coletados amostras aos 1, 4 e 7 dias. Nos pintos de 1 dia foram coletadas 5 repetições de 5 pâncreas cada. Nos pintos de 4 dias foram coletadas 5 repetições de 3 pâncreas cada. Nos pintos de 7 dias foram coletadas 5 repetições de 1 pâncreas cada. O material coletado foi congelado imediatamente em nitrogênio líquido para posteriores análises.

Para obtenção do extrato bruto, o pâncreas foi homogeneizado em tampão tipo Tris-HCl 5 mM com CaCl_2 50 mM (1:20). Os extratos brutos assim obtidos foram centrifugados, filtrados, aliquotados, congelados em nitrogênio líquido, armazenado a -80°C e utilizados, posteriormente, para a determinação da atividade enzimática de amilase e tripsina e dosagem da concentração de proteína. As determinações foram realizadas em triplicatas.

2.1.4.1 Determinação da atividade de tripsina pancreática

A atividade da tripsina foi determinada pelo método descrito por Pizauro et al. (2004).

Primeiramente, foi efetuada a ativação do zimogênio em tampão Tris-HCl 0,5M pH 8,0 contendo CaCl_2 (50mM). Cada dosagem de 0,4 mL do extrato pancreático foi incubada com 0,08 unidades de enteroquinase (SIGMA®) a 37°C por 5 minutos. A reação foi iniciada pela adição de 1mL do substrato N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA, SIGMA®) ao meio de reação contendo o extrato ativado. Depois de 20 minutos, a reação foi interrompida pela adição de 0,2 mL de ácido acético 30% (v/v). Após centrifugação em microcentrífuga SPIN I durante 2 minutos a 4°C , a absorbância foi determinada a 410nm. Em cada determinação foram incluídos controles sem adição de enzimas.

Uma unidade de atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 nmol de p-nitroanilida por minuto por miligrama de proteína nas condições padrões do teste e uma unidade de atividade enzimática total (U.g^{-1}) foi definida e expressa como a quantidade de

enzima que libera 1 μmol de p-nitroanilida por minuto por grama de tecido pancreático nas condições padrões do teste.

2.1.4.2 Determinação da atividade da α -amilase pancreática

A atividade da α -amilase foi determinada a 37°C, através da dosagem de maltose liberada a partir da hidrólise do amido pela enzima de acordo com Bernfeld (1955), com adaptações.

As condições padrão de ensaio foram: tampão fosfato (20 mM, pH 6,9) contendo NaCl 7 mM, extrato pancreático e amido solúvel a 1%, volume final de 1ml. A reação foi iniciada pela adição do amido ao meio de reação e interrompida com adição de 1ml de solução contendo 1% de ácido 3,5-dinitrosalisílico, 8% de NaOH e 30% de tartarato duplo de sódio e potássio. As amostras foram mantidas em banho-maria em ebulição por 6 minutos, então foram resfriadas e diluídas em 10ml de água destilada. A absorbância foi determinada a 530nm.

Uma unidade de atividade enzimática específica ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$) da α -amilase foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de maltose por minuto por miligrama de proteína nas condições padrões do teste e uma unidade de atividade enzimática total ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$) da α -amilase foi definida e expressa como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de maltose por minuto por grama de tecido pancreático nas condições padrões do teste.

2.1.4.3 Dosagem de proteína

A concentração de proteína foi determinada pelo uso do kit de dosagem de proteína por fluorescência no aparelho QubitTM fluorometer da marca InvitrogenTM, seguindo as especificações do protocolo fornecido pelo fabricante.

2.2 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento *General Linear Model* (GLM) do programa SAS[®] e em caso de diferença

estatisticamente significativa ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

As diferentes concentrações de CO₂ utilizadas não influenciaram a eclosão, eclodibilidade e a qualidade do pinto, independentemente da idade da matriz (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Eclosão	82,91	87,19	79,42	7,27	0,1687
Eclodibilidade	90,51	93,75	85,94	5,03	0,0542
Qualidade dos pintos	97,56	98,44	97,68	1,23	0,4756

Tabela 3 – Porcentagem de eclosão (%) e eclodibilidade (%) e escore médio de qualidade dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Eclosão	76,67	84,92	82,73	9,52	0,2584
Eclodibilidade	89,61	91,01	89,29	6,12	0,8727
Qualidade dos pintos	97,08	97,02	97,14	1,68	0,9933

De acordo com as Tabelas 4 e 5, ovos incubados em concentração de 1,5% de CO₂ apresentaram atraso no período médio de bicagem interna e nascimento em relação ao grupo controle e ao grupo em concentração de 1% de CO₂, independentemente da idade da matriz. O mesmo comportamento foi observado para a duração da bicagem externa nos ovos de matrizes velhas, entretanto, nos ovos oriundos de matrizes velhas observou-se menor duração da bicagem interna com a incubação em 1% de CO₂, seguido pelo grupo controle e pelo grupo incubado em 1,5% que apresentou maior duração.

A concentração de 1,5% de CO₂ aumentou a amplitude da janela de nascimento em relação ao controle e à concentração de 1% de CO₂ nas duas idades de matrizes avaliadas (Figura 2). Ainda, observa-se pico mais alto com a incubação controle.

Aos 16 dias de incubação, verificou-se maior peso dos fetos nos ovos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de 1% de CO₂ em comparação ao controle, não havendo diferença significativa entre o grupo 1,5% e os demais

(Tabela 6). Nesta idade e nos pintos com 1 dia, as aves do grupo incubado em concentração de 1,5% de CO₂ apresentaram menor porcentagem de moela em relação às aves incubadas no controle e 1% de CO₂ (Tabelas 6 e 12). Ainda, aos 16 e 18 dias, não houve efeito das concentrações de CO₂ sobre o peso do feto e porcentagem dos órgãos do sistema digestório nos fetos provenientes de matrizes de 55 semanas (Tabela 7) e 35 semanas (Tabela 8), respectivamente.

Tabela 4 – Tempo médio de bicagem interna (h), bicagem externa (h), nascimento (h), duração da bicagem interna (h), duração da bicagem externa (h) e duração do nascimento (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Bicagem Interna	467,57b	463,98b	476,11a	0,56	<0,0001
Bicagem Externa	476,66b	471,02c	484,05a	0,69	0,0002
Nascimento	490,27b	486,81b	499,22a	0,57	<0,0001
Duração da Bicagem Interna	9,10	7,04	7,95	21,28	0,2024
Duração da Bicagem Externa	13,60	15,79	15,17	8,74	0,0536
Duração do Nascimento	22,70	22,83	23,11	8,09	0,9385

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 5 – Tempo médio de bicagem interna (h), bicagem externa (h), nascimento (h), duração da bicagem interna (h), duração da bicagem externa (h) e duração do nascimento (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Bicagem Interna	467,92b	463,47b	474,41a	0,73	0,0010
Bicagem Externa	475,87b	471,18b	482,92a	0,76	0,0008
Nascimento	490,97b	486,57b	499,26a	0,70	0,0003
Duração da Bicagem Interna	7,96	7,72	8,52	14,47	0,5548
Duração da Bicagem Externa	15,10	15,38	16,33	8,44	0,3347
Duração do Nascimento	23,05	23,10	24,85	6,83	0,1779

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Aos 18 dias, observou-se maior saco de vitelo nos ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de 1,5% em relação ao grupo controle, ambos não diferindo de 1% de CO₂ (Tabela 9). Aos 20 dias, a incubação dos ovos provenientes de matrizes de 55 semanas em concentração de 1,5% de CO₂ também resultou em fetos com maior porcentagem de saco de vitelo em comparação ao controle e 1% de CO₂ (Tabela 11). Não houve efeito das diferentes

concentrações de CO₂ sobre o peso do feto e porcentagem dos componentes do sistema digestório para os fetos provenientes de matrizes de 35 semanas (Tabela 10).

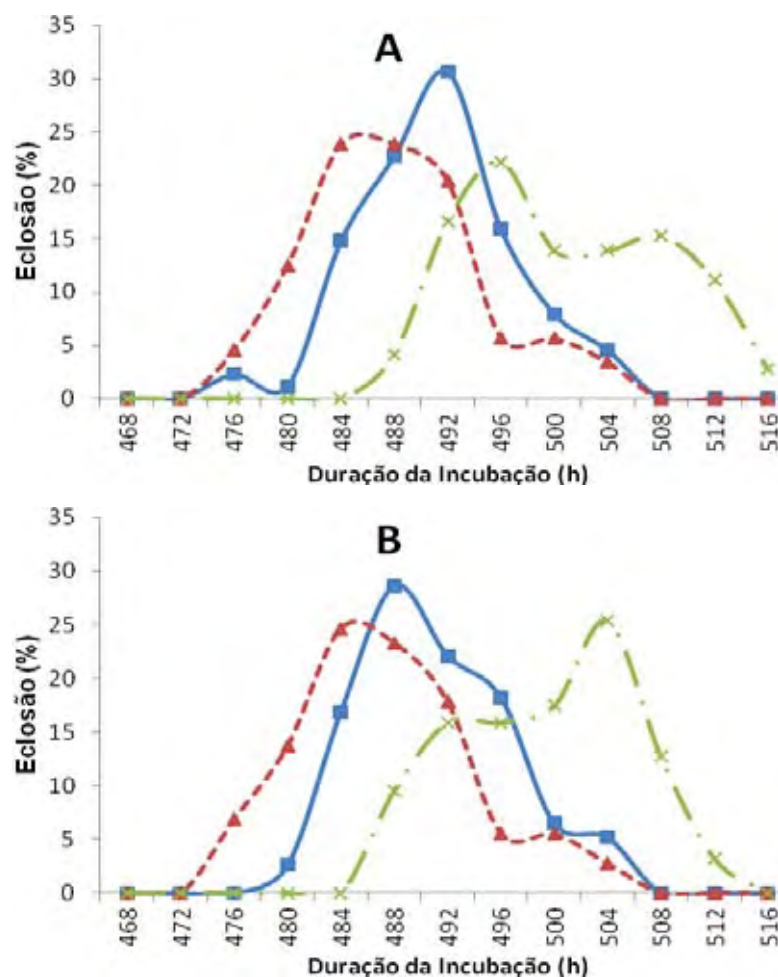


Figura 2 - Distribuição da eclosão (%) em relação à duração da incubação (h) de pintos provenientes de ovos de matrizes novas (A) e velhas (B) incubados em concentração de CO₂ controle —■—, 1% - -▲- e 1,5% - ·×-.

Além da menor porcentagem de moela, a incubação em concentração de 1,5% de CO₂ também reduziu a porcentagem de pâncreas e intestinos nos pintos de 1 dia provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas (Tabela 12). Nos pintos de 1 dia provenientes de ovos de matrizes de 55 semanas não houve influência da concentração de CO₂ sobre o peso das aves e porcentagem dos componentes do sistema digestório (Tabela 13).

Tabela 6 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 16 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	19,22b	21,62a	20,54ab	5,62	0,0209
Saco Vitelo (%)	57,27	54,93	60,60	10,95	0,3904
Proventrículo (%)	0,62	0,63	0,55	25,26	0,7299
Moela (%)	2,41a	2,55a	2,03b	8,00	0,0024
Fígado (%)	2,18	2,09	1,95	6,87	0,0835
Intestinos (%)	2,08	1,92	1,87	13,23	0,4342

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 7 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 16 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	21,34	21,67	20,30	4,62	0,1059
Saco Vitelo (%)	67,65	68,32	69,06	10,23	0,9507
Proventrículo (%)	0,59	0,57	0,52	15,65	0,4390
Moela (%)	2,27	2,26	2,11	7,62	0,2750
Fígado (%)	2,24	2,05	2,07	5,12	0,0540
Intestinos (%)	2,26	2,10	2,21	24,17	0,8767

Tabela 8 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 18 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	29,01	28,67	27,66	3,76	0,1574
Saco Vitelo (%)	36,77	37,87	39,82	12,57	0,6076
Proventrículo (%)	0,66	0,64	0,55	16,45	0,2304
Moela (%)	2,78	3,05	3,13	16,42	0,5143
Fígado (%)	2,09	2,24	2,24	11,43	0,5706
Intestinos (%)	1,66	2,30	2,34	14,83	0,1160

Tabela 9 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 18 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	30,49	29,98	27,71	7,31	0,1355
Saco Vitelo (%)	47,67ab	40,23b	50,41a	12,62	0,0439
Proventrículo (%)	0,63	0,62	0,61	15,24	0,9008
Moela (%)	3,15	2,84	2,76	10,19	0,1335
Fígado (%)	2,28	2,18	2,34	12,20	0,6737
Intestinos (%)	2,24	2,19	2,31	7,21	0,5385

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 10 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 20 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	35,88	34,74	35,85	8,79	0,8100
Saco Vitelo (%)	23,52	25,85	24,79	25,83	0,8484
Proventrículo (%)	0,62	0,63	0,63	15,01	0,9645
Moela (%)	3,64	3,79	3,46	12,63	0,5317
Fígado (%)	2,14	2,17	1,96	11,18	0,3336
Intestinos (%)	2,73	3,02	2,77	15,02	0,5318

Tabela 11 – Peso do feto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ aos 20 dias de incubação.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Feto (g)	36,58	38,72	36,40	4,62	0,1007
Saco Vitelo (%)	24,14b	25,16b	29,67a	11,96	0,0425
Proventrículo (%)	0,66	0,66	0,57	11,73	0,1156
Moela (%)	3,91	3,89	3,51	7,08	0,0611
Fígado (%)	2,19	2,12	2,13	9,85	0,8412
Intestinos (%)	2,90	3,10	2,97	8,36	0,4661

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Aos 4 dias de vida, as condições de incubação utilizadas não influenciaram o peso dos pintos e a porcentagem dos componentes do sistema digestório, independentemente da idade da matriz (Tabelas 14 e 15).

Tabela 12 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 1 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	41,10	41,60	42,10	3,87	0,6285
Saco Vitelo (%)	7,03b	6,34b	9,47 ^a	13,25	0,0009
Proventrículo (%)	0,92	0,92	0,77	11,99	0,0638
Moela (%)	6,08a	6,50 ^a	5,15b	8,97	0,0051
Fígado (%)	2,71	2,97	2,64	7,41	0,0659
Pâncreas (%)	0,25a	0,23 ^a	0,17b	13,26	0,0013
Intestinos (%)	4,90a	4,80 ^a	4,14b	6,31	0,0027

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 13 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 1 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	44,04	44,58	45,01	3,39	0,6117
Saco Vitelo (%)	7,54	7,79	9,60	25,91	0,2918
Proventrículo (%)	0,82	0,84	0,83	15,58	0,9888
Moela (%)	5,79	5,77	5,17	6,68	0,0354
Fígado (%)	2,97	3,00	2,80	6,41	0,2378
Pâncreas (%)	0,22	0,20	0,19	13,99	0,3366
Intestinos (%)	4,82	4,66	4,29	6,89	0,0556

Tabela 14 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 4 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	60,25	60,93	59,05	2,02	0,0816
Saco Vitelo (%)	0,93	0,96	0,99	29,91	0,9542
Proventrículo (%)	1,33	1,27	1,17	11,14	0,2190
Moela (%)	6,65	7,06	6,41	6,19	0,0770
Fígado (%)	3,63	3,77	3,57	5,71	0,3294
Pâncreas (%)	0,42	0,39	0,41	17,88	0,8880
Intestinos (%)	8,79	8,82	8,12	9,43	0,3396

Tabela 15 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 4 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	65,67	66,49	64,44	2,18	0,1137
Saco Vitelo (%)	0,76	0,89	0,86	45,51	0,8591
Proventrículo (%)	1,20	1,14	1,15	8,83	0,6545
Moela (%)	6,50	6,37	6,03	6,97	0,2484
Fígado (%)	3,83	3,72	3,62	6,82	0,4413
Pâncreas (%)	0,41	0,48	0,44	11,83	0,1711
Intestinos (%)	8,27	8,43	8,03	6,83	0,5213

Aos 7 dias, observou-se apenas menor porcentagem de intestinos nos pintos provenientes de ovos de matrizes de 35 semanas (Tabela 16), não havendo nenhum efeito para as matrizes de 55 semanas (Tabela 17).

Tabela 16 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 7 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	112,82	111,72	113,17	3,25	0,8110
Saco Vitelo (%)	-	-	-	-	-
Proventrículo (%)	1,18	1,23	1,21	12,47	0,8905
Moela (%)	4,65	4,80	4,72	9,06	0,8500
Fígado (%)	3,78	3,89	3,47	7,09	0,0710
Pâncreas (%)	0,45	0,41	0,45	9,95	0,3647
Intestinos (%)	9,33a	10,53 ^a	7,64b	8,13	0,0002

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

A Figura 3 mostra o desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos provenientes de matrizes de 35 e 55 semanas em função do tempo de incubação. As Figuras 5, 6, 7, 8, 9 e 10 mostram as fotomicrografias referentes aos cortes histológicos obtidos destas aves. Aos 16 dias de incubação, os fetos provenientes de ovos de matrizes de 35 e 55 semanas incubados em concentração de 1% de CO₂ mostraram aumento na altura de vilos no jejuno em relação ao grupo controle. No íleo observou-se maior altura de vilos para os fetos de matrizes de 35

semanas incubados em 1%, seguido pela concentração de 1,5% e do grupo controle.

Aos 18 dias, os fetos de matrizes de 55 semanas incubados em 1% de CO₂ apresentaram maior altura de vilos no duodeno em relação aos demais tratamentos.

Aos 20 dias, aves incubadas em 1% de CO₂ apresentaram aumento na altura de vilos no duodeno em relação a 1,5%, não havendo diferença entre ambos os tratamentos e o grupo controle, nos fetos de matrizes de 35 semanas. Nos fetos de matrizes de 55 semanas, também foi observado maior altura de vilos segmento duodenal quando incubados em 1% de CO₂ em relação a 1,5%, entretanto o grupo controle apresentou valor intermediário entre os dois tratamentos com CO₂.

Tabela 17 – Peso do pinto e porcentagem do saco de vitelo, proventrículo, moela, fígado, pâncreas e intestino de ovos provenientes de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO₂ com 7 dia de vida.

Parâmetros	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
Pinto (g)	119,26	119,68	115,14	5,16	0,4517
Saco Vitelo (%)	-	-	-	-	-
Proventrículo (%)	1,16	1,16	1,16	7,99	0,9985
Moela (%)	4,98	4,61	4,71	8,19	0,3229
Fígado (%)	3,56	3,62	3,48	10,77	0,8552
Pâncreas (%)	0,40	0,40	0,43	15,14	0,7702
Intestinos (%)	9,03	8,84	8,92	6,61	0,8796

A Figura 4 mostra o desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de pintos provenientes de matrizes de 35 e 55 semanas em função do tempo de incubação. As Figuras 11, 12, 13, 14, 15 e 16 mostram as fotomicrografias referentes aos cortes histológicos obtidos destas aves. No primeiro dia de vida os pintos de matrizes jovens e velhas apresentaram maior altura de vilos no duodeno quando incubados em 1% de CO₂ em relação a 1,5%, ambos não diferindo do controle (Figura 4).

De acordo com a Tabela 18, pintos de 4 dias oriundos de matrizes jovens apresentaram menor profundidade de criptas no duodeno com a incubação em 1,5% de CO₂ em comparação ao grupo controle, ambos não diferindo de 1%. Nas aves oriundas de matrizes velhas, pintos de um dia incubados em 1% de CO₂

apresentaram maior profundidade de criptas no duodeno em relação ao controle e 1,5% (Tabela 19).

Aos 20 dias de incubação, fetos provenientes matrizes de 35 semanas incubadas em ambiente com 1,5% de CO₂ apresentaram maior densidade de vilos no duodeno em relação a 1% e o grupo controle (Tabela 20). Ainda, nesta idade, esses fetos apresentaram maior densidade de vilos no jejuno e íleo quando incubados em condição de 1,5% de CO₂, em relação a 1%, ambos não diferindo do grupo controle. Os fetos provenientes de matrizes de 55 semanas apresentaram maior densidade de vilos no jejuno e íleo quando incubados em 1,5% de CO₂ em comparação às aves incubadas em 1% (Tabela 21). As Figuras 16, 18, 20 e 22 mostram as fotomicrografias referentes às superfícies intestinais internas obtidas das aves oriundas de matrizes jovens. Já as Figuras 17, 19, 21 e 23 são referentes às aves oriundas de matrizes velhas.

Com 1 dia de vida, pintos de matrizes de 35 semanas mostraram menor densidade de vilos no duodeno quando incubados em 1% de CO₂ em relação ao grupo controle e 1,5% de CO₂. Para os pintos de matrizes de 55 semanas, a incubação em concentração de 1,5% de CO₂ resultou em aumento da densidade de vilos no duodeno em comparação a 1%, ambos não diferindo do grupo controle. No jejuno (matrizes de 35 e 55 semanas) e íleo (matrizes de 35 semanas) também observou-se maior densidade de vilos nos pintos incubados em 1,5% de CO₂ em relação a 1% e o grupo controle.

Aos 4 dias, aves oriundas de matrizes de 35 semanas incubadas em 1,5% de CO₂ apresentaram maior densidade de vilos no jejuno em comparação à incubação em 1%, ambas não diferindo do controle. Pintos de matrizes de 55 semanas apresentaram maior densidade de vilos no íleo em relação a 1% de CO₂, ambos não diferindo do grupo controle aos 4 e 7 dias. Ainda, aos 7 dias de idade verificou-se maior densidade de vilos no duodeno para pintos oriundos de matrizes velhas e jejuno nos pintos oriundos de matrizes jovens incubados em concentração de 1,5% em comparação ao grupo controle e 1% de CO₂.

Pintos de 1 dia provenientes de matrizes jovens, incubados em concentração de 1,5% de CO₂ apresentaram menor atividade de tripsina e amilase total em comparação a 1% de CO₂, ambos não diferindo do controle (Tabela 22). Aos 7 dias,

os pintos provenientes de matrizes jovens e velhas (Tabela 23) apresentaram menor atividade de amilase total e específica com a incubação em 1,5% em comparação a 1% e controle, que não diferiram entre si.

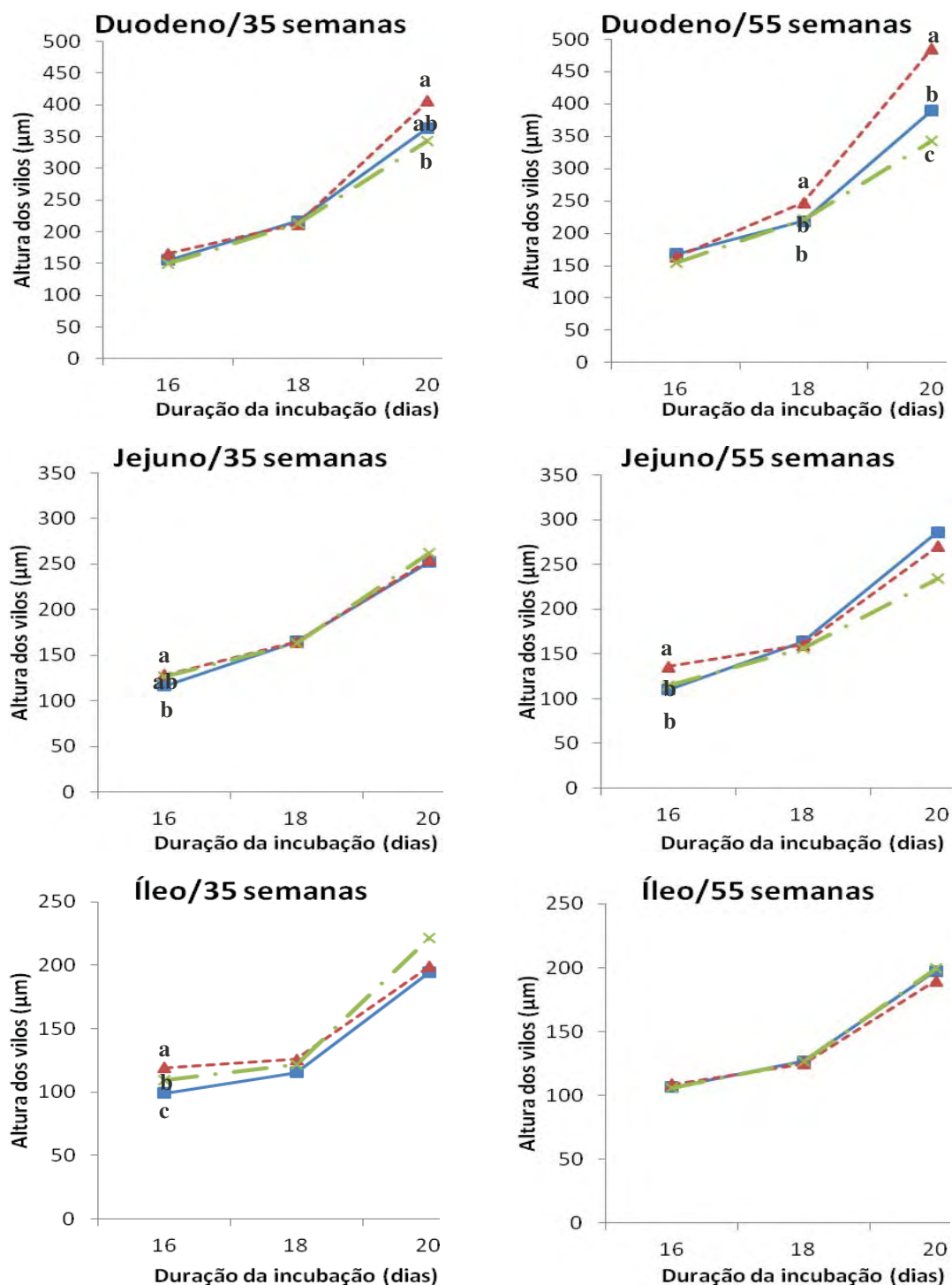


Figura 3 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de fetos de matrizes jovens e velhas incubados em concentração de CO₂ controle —, 1% — e 1,5% — aos 16, 18 e 20 dias de incubação. Valores seguidos de letras iguais, na mesma duração da incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

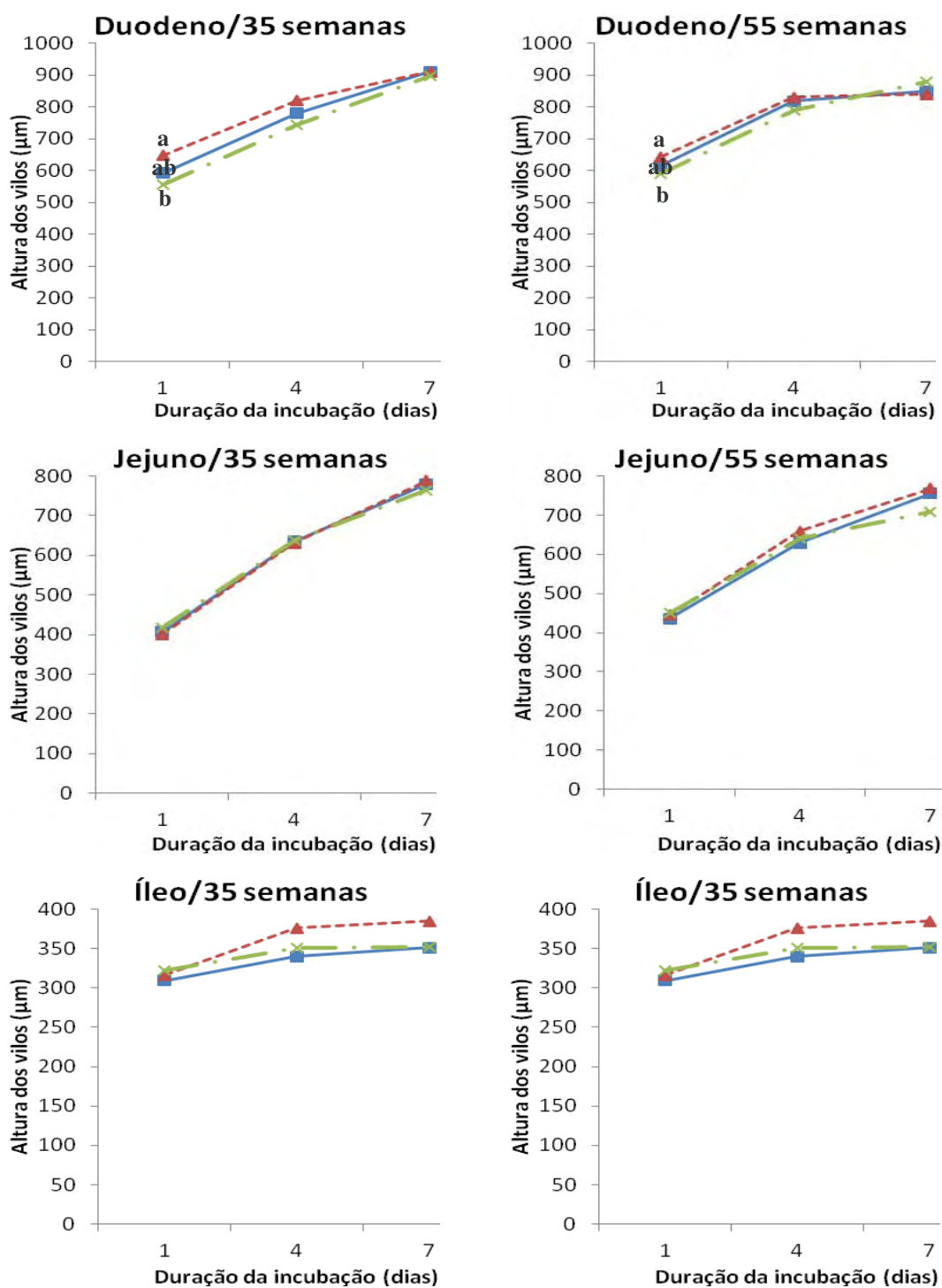


Figura 4 – Desenvolvimento dos vilos intestinais do duodeno, jejuno e íleo de pintos de matrizes jovens e velhas incubados em concentração de CO₂ controle —■—, 1% —▲— e 1,5% —×— aos 1, 4 e 7 dias de idade. Valores seguidos de letras iguais, na mesma duração da incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

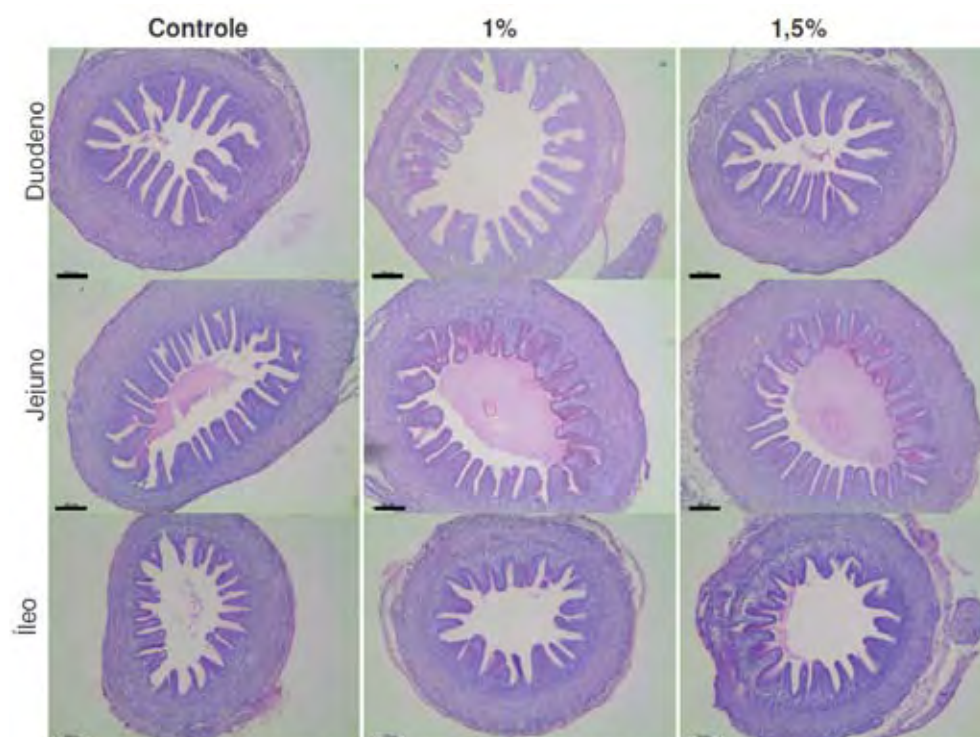


Figura 5 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

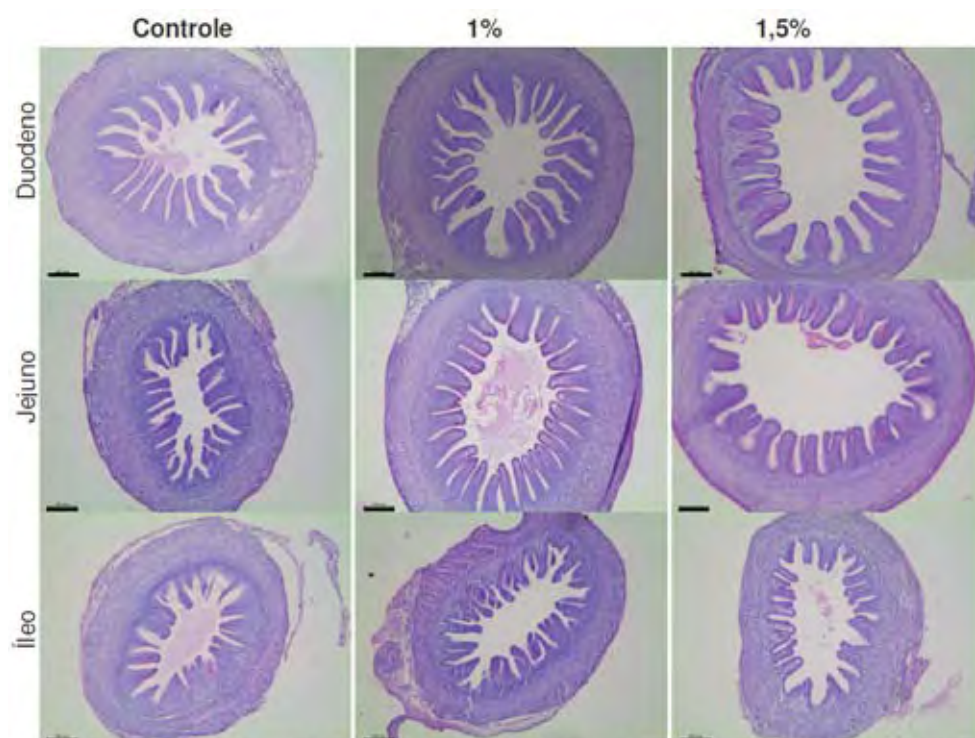


Figura 6 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 16 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

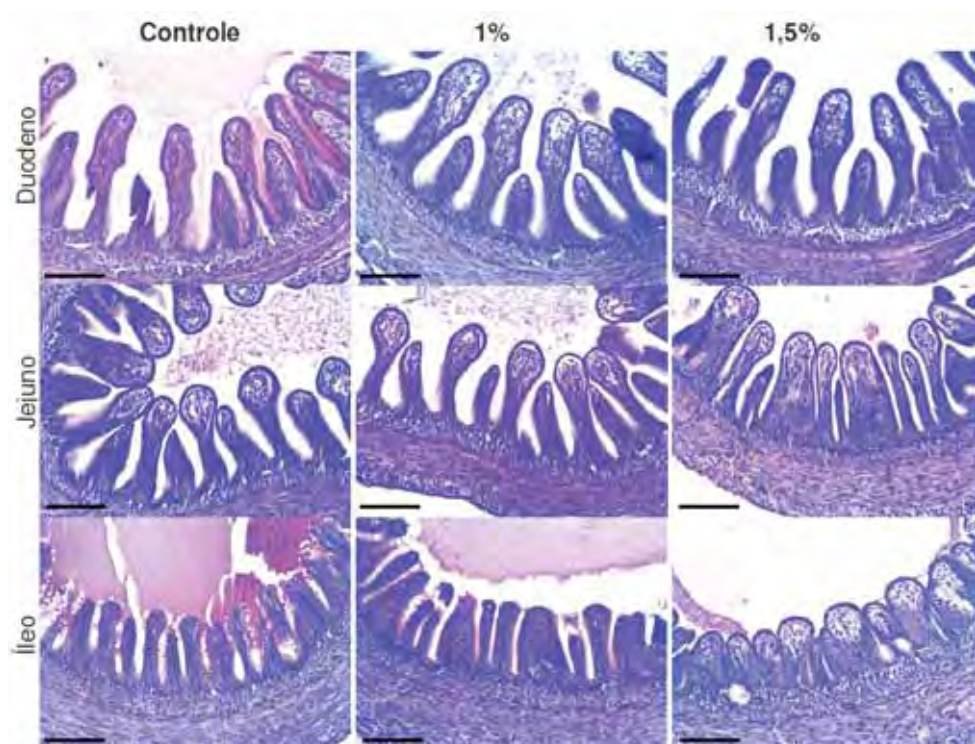


Figura 7 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

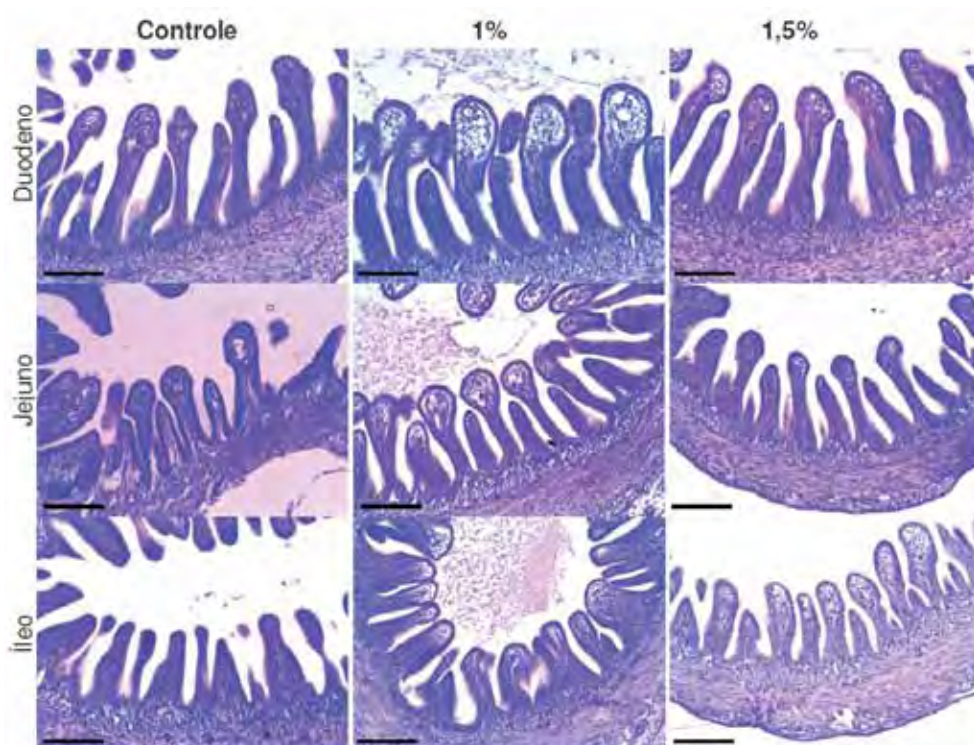


Figura 8 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 18 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100μm).

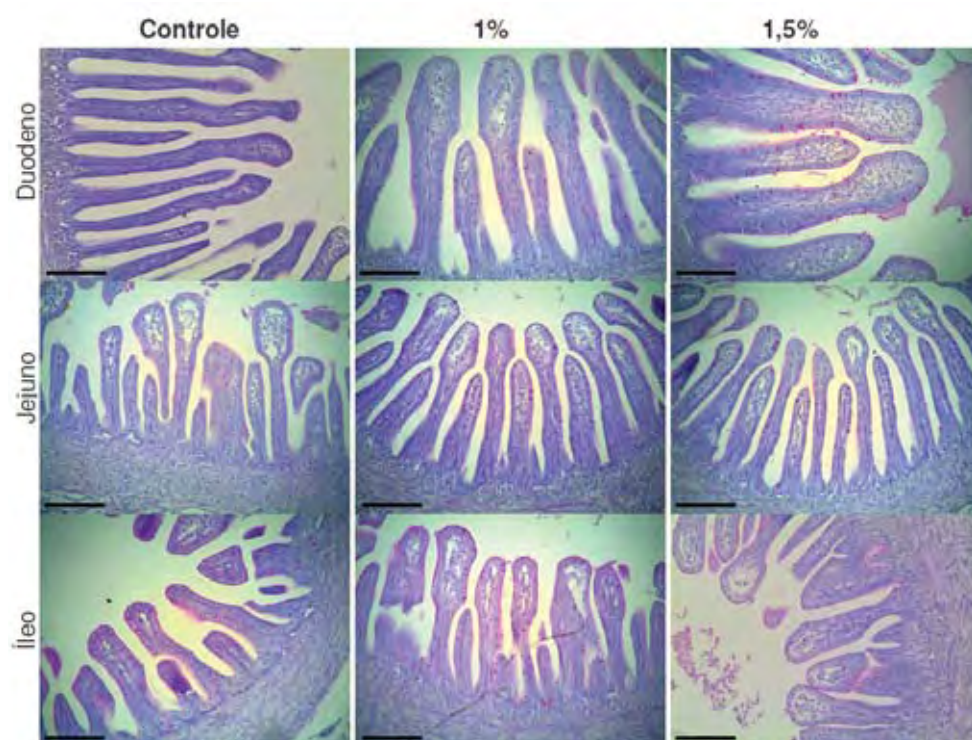


Figura 9 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

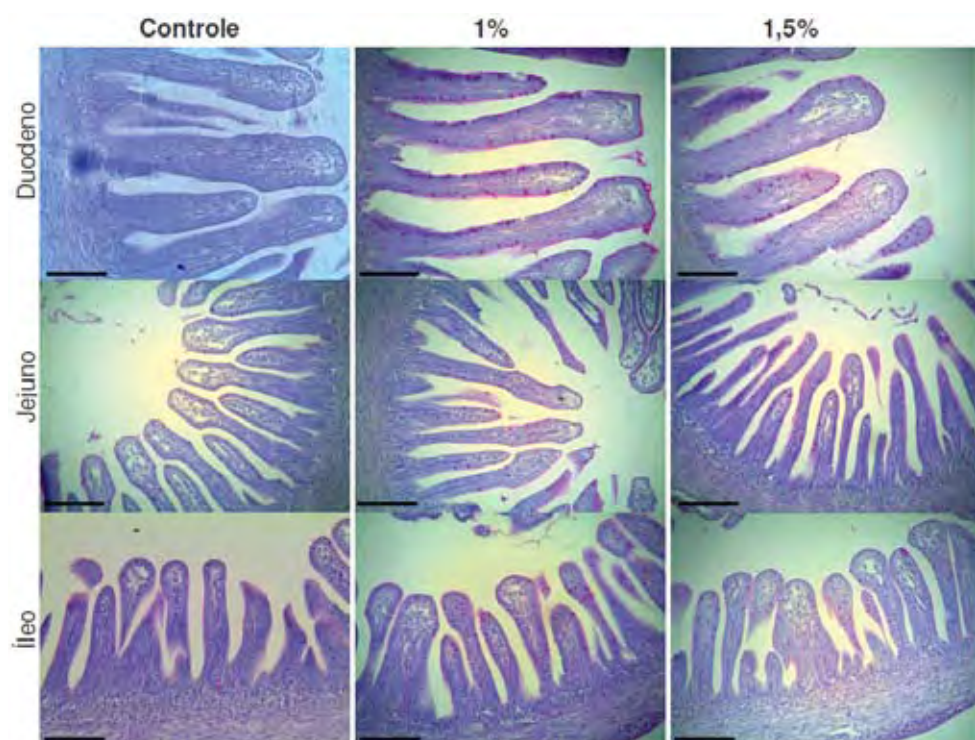


Figura 10 – Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

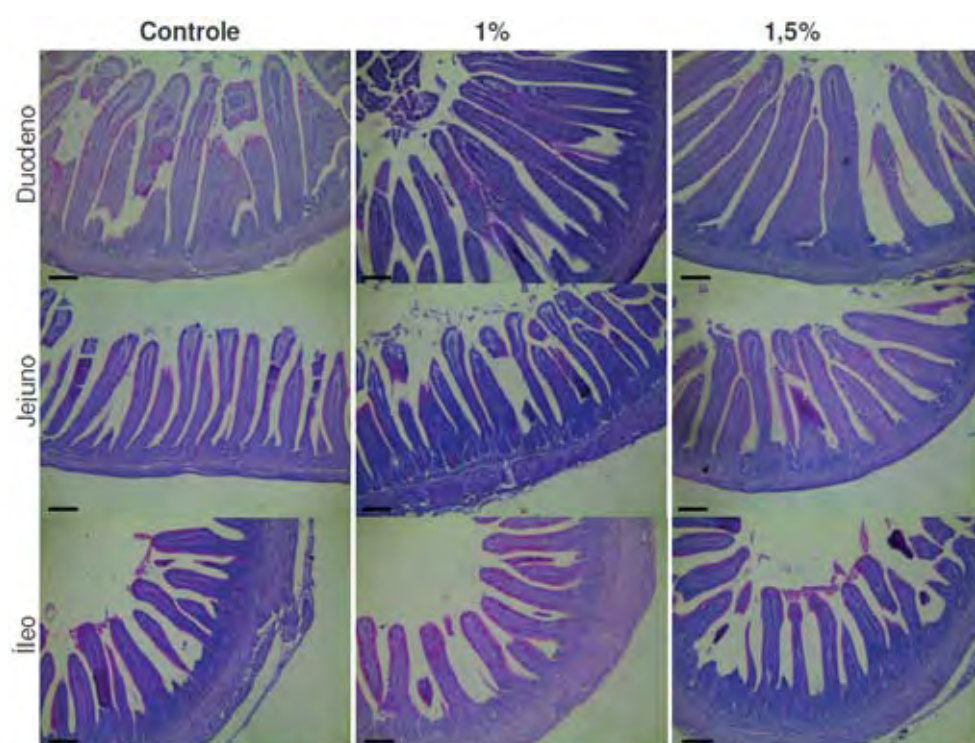


Figura 11 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

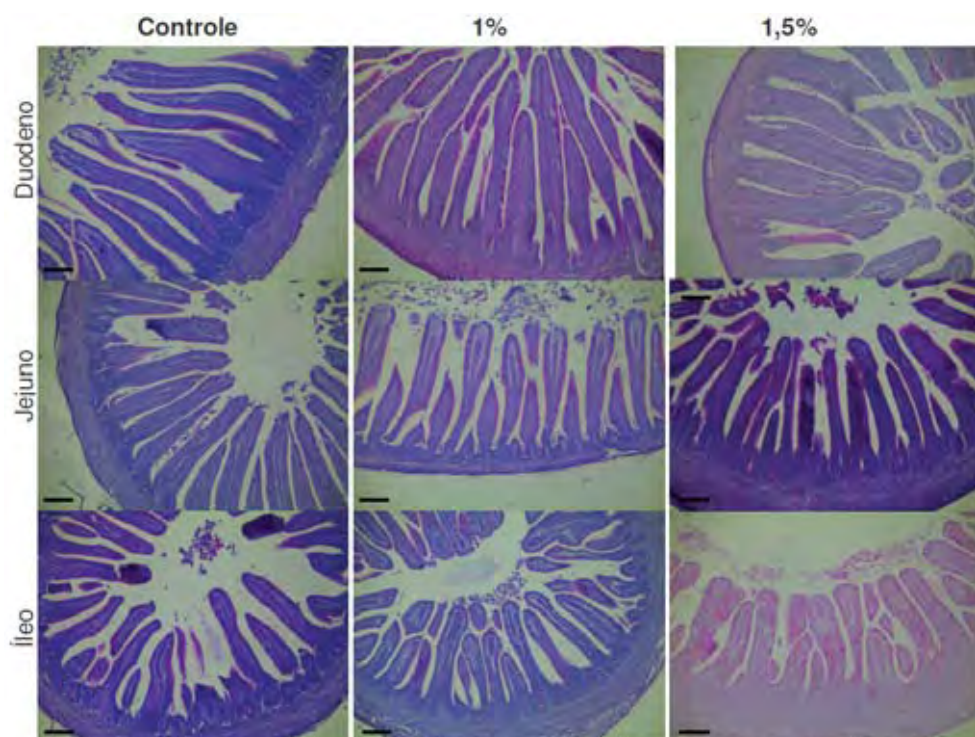


Figura 12 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100μm).

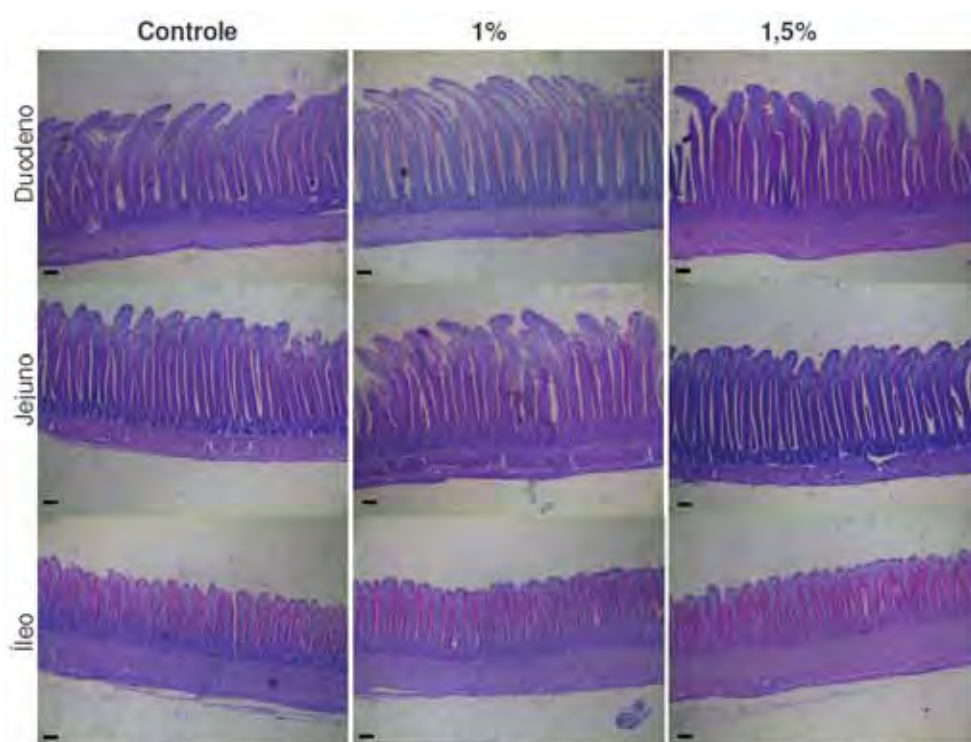


Figura 13 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100μm).

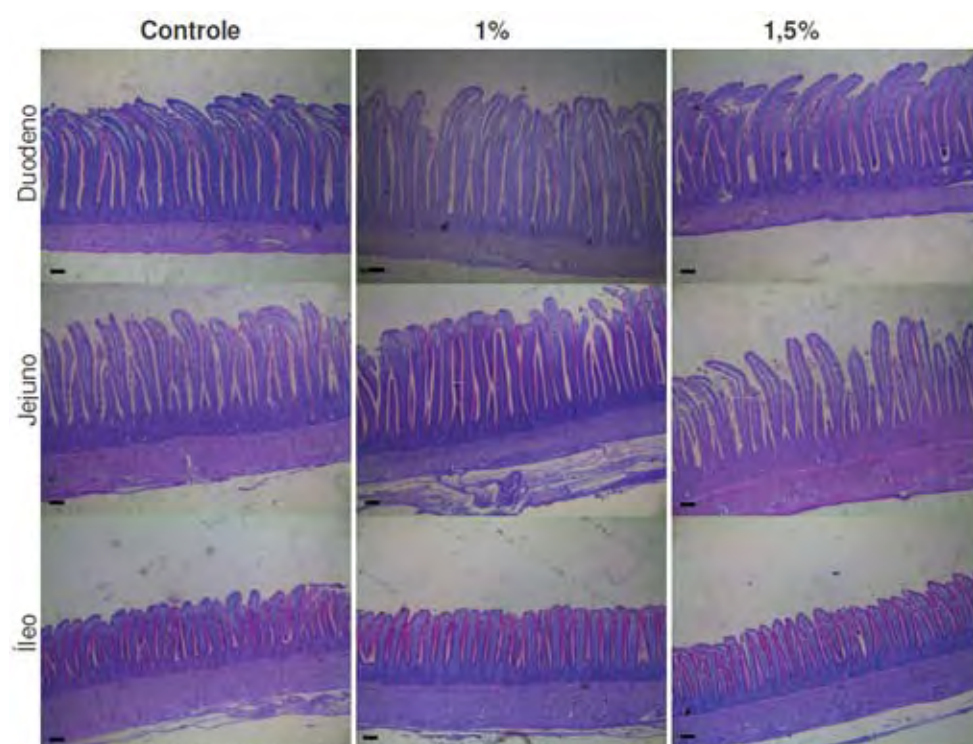


Figura 14 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

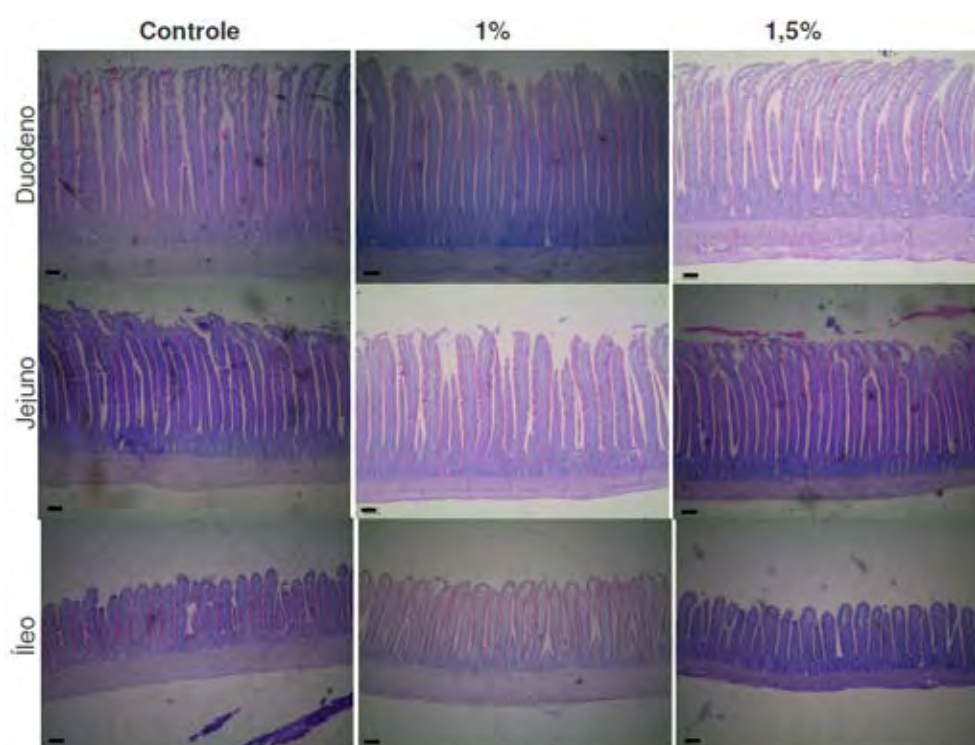


Figura 15 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100μm).

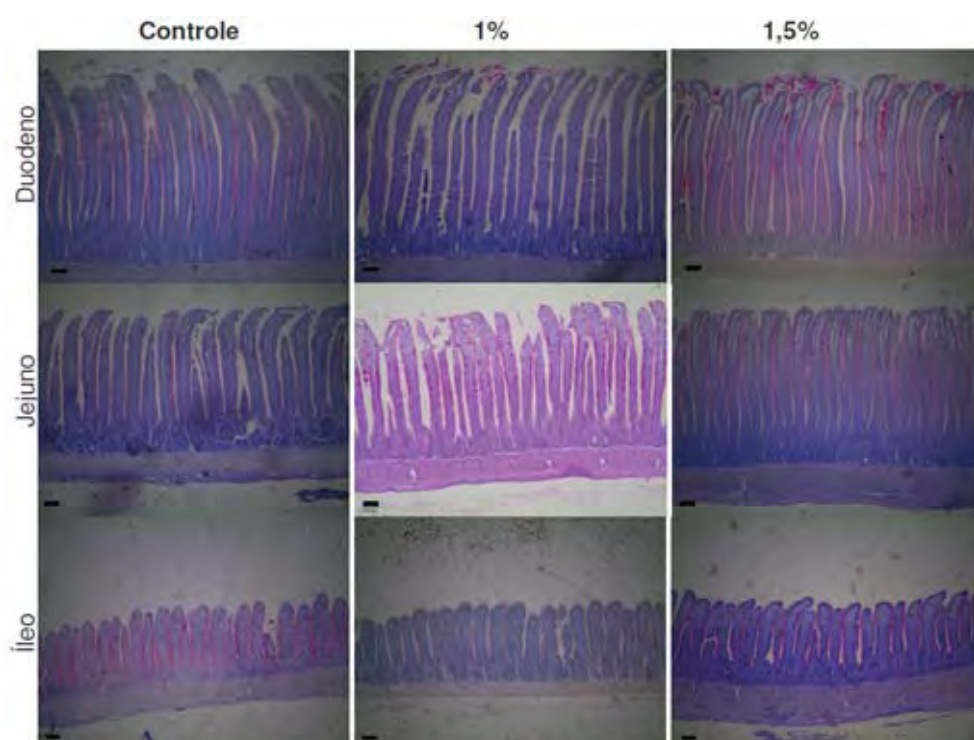


Figura 16 - Fotomicrografias dos cortes histológicos transversais do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 100µm).

Tabela 18 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em diferentes concentrações de CO_2 .

Segmento	Concentração de CO ₂			Valor de p	CV (%)
	Controle	1%	1,5%		
1dia					
Duodeno	56,40	59,04	56,81	0,8188	8,45
Jejuno	45,07	48,89	45,11	0,5859	8,79
Íleo	41,94	44,48	46,61	0,5740	7,93
4 dias					
Duodeno	106,99 ^a	91,80ab	98,90b	0,0092	10,95
Jejuno	108,18	97,02	93,25	0,0591	12,35
Íleo	86,48	80,07	78,44	0,5992	12,66
7 dias					
Duodeno	166,54	154,7	153,34	0,5572	16,41
Jejuno	122,47	117,08	128,33	0,7569	13,42
Íleo	95,85	107,01	82,74	0,1931	15,63

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 19 – Profundidade de criptas (μm) do duodeno, jejuno e íleo de pintainhos de 1, 4 e 7 dias de idade oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em diferentes concentrações de CO_2 .

Segmento	Concentração de CO ₂			Valor de p	CV (%)
	Controle	1%	1,5%		
1dia					
Duodeno	55,09b	73,42 ^a	56,77b	0,0322	6,98
Jejuno	61,26	56,18	55,17	0,1248	7,12
Ileo	51,92	52,37	56,01	0,9976	7,59
4 dias					
Duodeno	111,86	102,97	106,68	0,0659	13,93
Jejuno	102,59	110,02	104,69	0,1116	12,75
Ileo	77,89	76,23	83,47	0,4520	11,85
7 dias					
Duodeno	173,92	160,54	150,65	0,1691	14,38
Jejuno	148,82	146,65	152,40	0,2780	13,28
Ileo	85,90	94,65	100,50	0,9518	12,43

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 20 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas.

Concentração de CO₂					
Segmento	Controle	1%	1,5%	CV(%)	Valor de p
20 dias					
Duodeno	738,16b	697,43b	860,34a	8,37	0,0045
Jejuno	936,70ab	789,07b	1099,60a	11,02	0,0018
Íleo	814,52ab	753,43b	916,33a	9,61	0,0218
1 dia					
Duodeno	483,62a	305,44b	509,07a	11,52	<0,0001
Jejuno	514,16b	473,44b	722,89a	11,61	0,0001
Íleo	677,07b	656,71b	814,52a	10,05	0,0092
4 dias					
Duodeno	155,28	151,01	180,02	30,45	0,6167
Jejuno	130,11ab	95,98b	143,76a	21,15	0,0357
Íleo	144,00	154,85	148,82	31,84	0,9649
7 dias					
Duodeno	83,18	68,25	92,99	21,20	0,1153
Jejuno	75,93b	63,13b	171,91a	48,06	0,0091
Íleo	104,94	102,38	101,53	23,98	0,9745

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 21 – Densidade de vilos intestinais (número de vilos/mm²) no duodeno, jejuno e íleo de fetos aos 20 dias de incubação e pintos aos 1, 4 e 7 dias oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas.

Concentração de CO₂					
Segmento	Controle	1%	1,5%	CV(%)	Valor de p
20 dias					
Duodeno	789,07	763,61	860,34	9,17	0,1417
Jejuno	911,24b	804,34b	1074,15a	9,77	0,0018
Íleo	834,88ab	646,52b	946,88a	14,32	0,0049
1 dia					
Duodeno	529,44ab	376,71b	580,34a	18,78	0,0123
Jejuno	544,71b	498,89b	758,52a	12,31	0,0003
Íleo	641,40	498,91	809,40	28,58	0,0634
4 dias					
Duodeno	136,08	128,83	147,17	32,39	0,8091
Jejuno	105,37	107,07	109,21	8,65	0,8095
Íleo	237,87ab	154,02b	321,64a	21,37	0,0008
7 dias					
Duodeno	64,41b	55,46b	130,53a	24,62	0,0002
Jejuno	104,94	87,02	130,11	32,03	0,1806
Íleo	157,41ab	125,42b	189,83a	21,52	0,0346

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

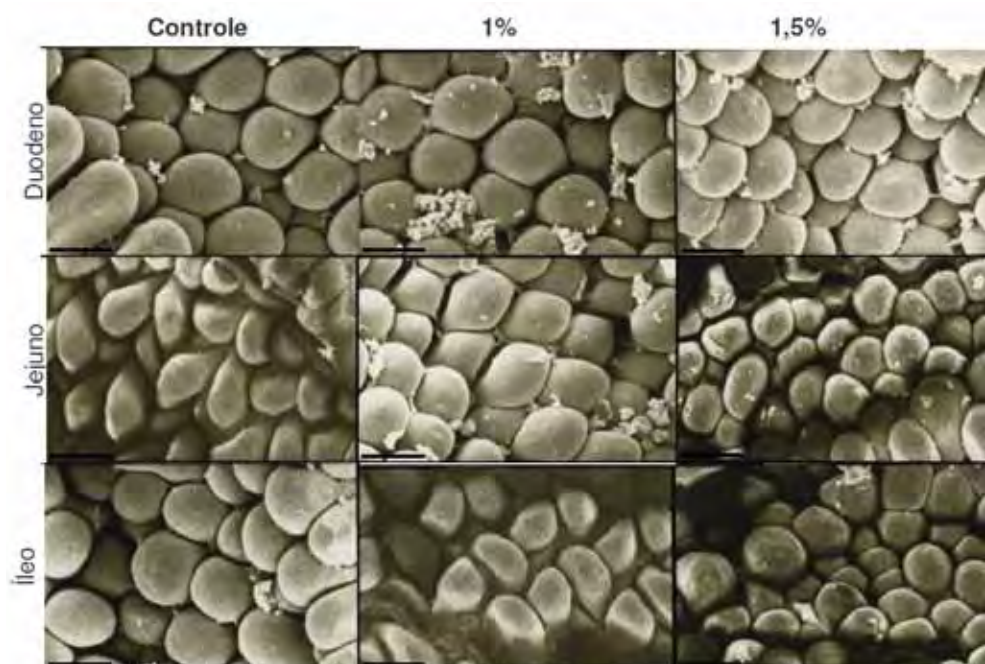


Figura 17 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 50μm).

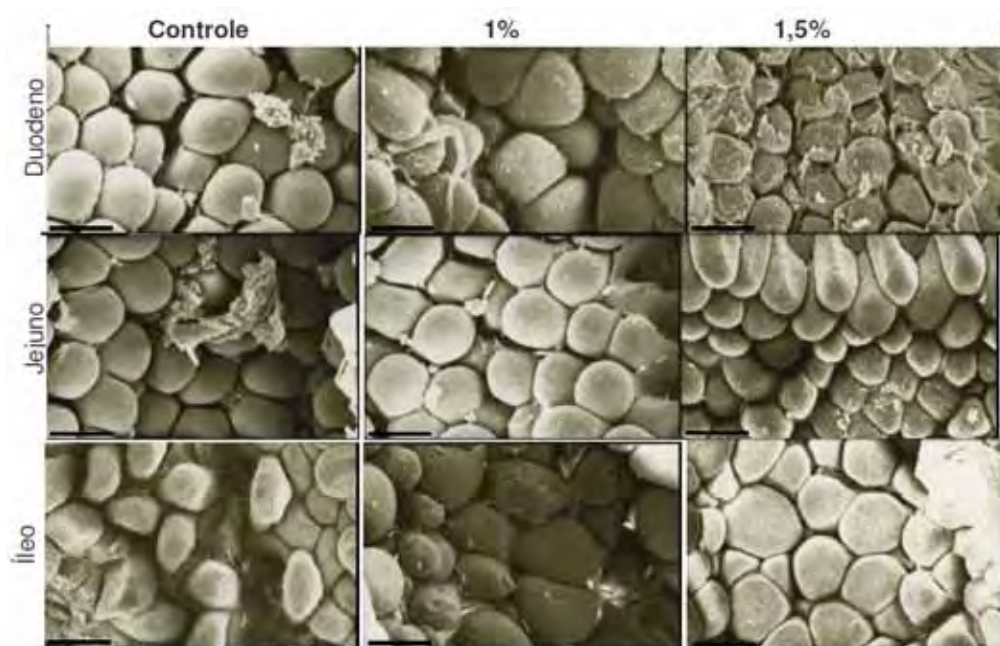


Figura 18 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de fetos com 20 dias de incubação, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (— = 50µm).

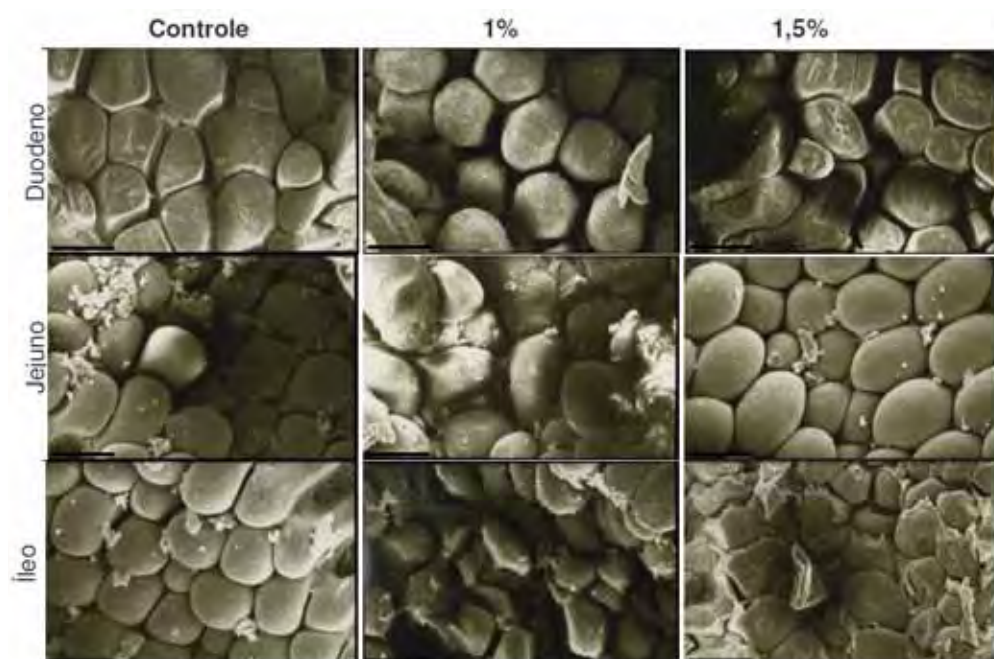


Figura 19 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 50µm).

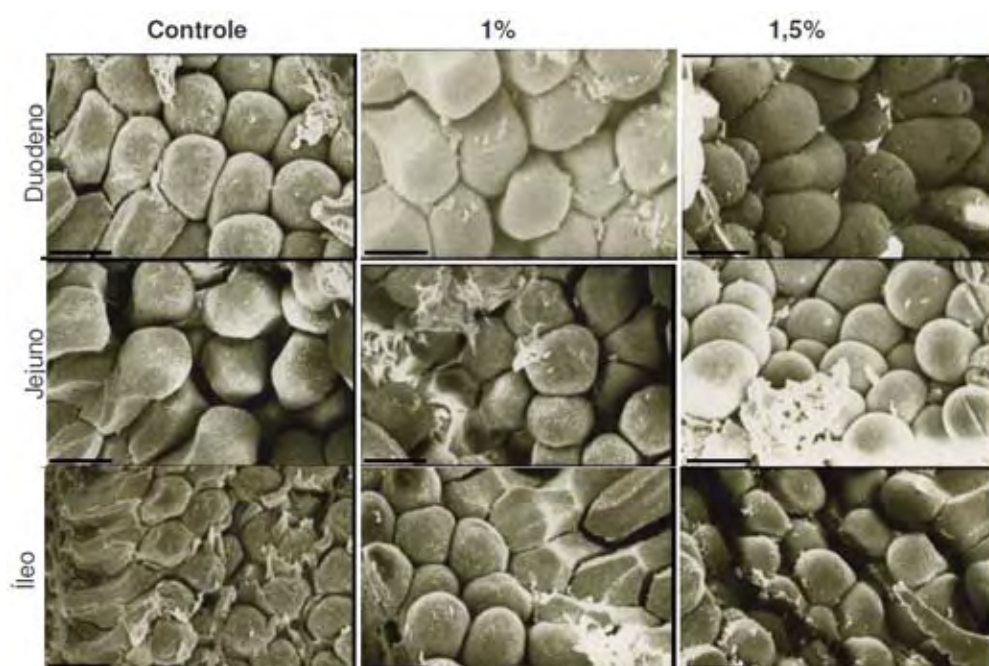


Figura 20 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 1 dia de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 50µm).

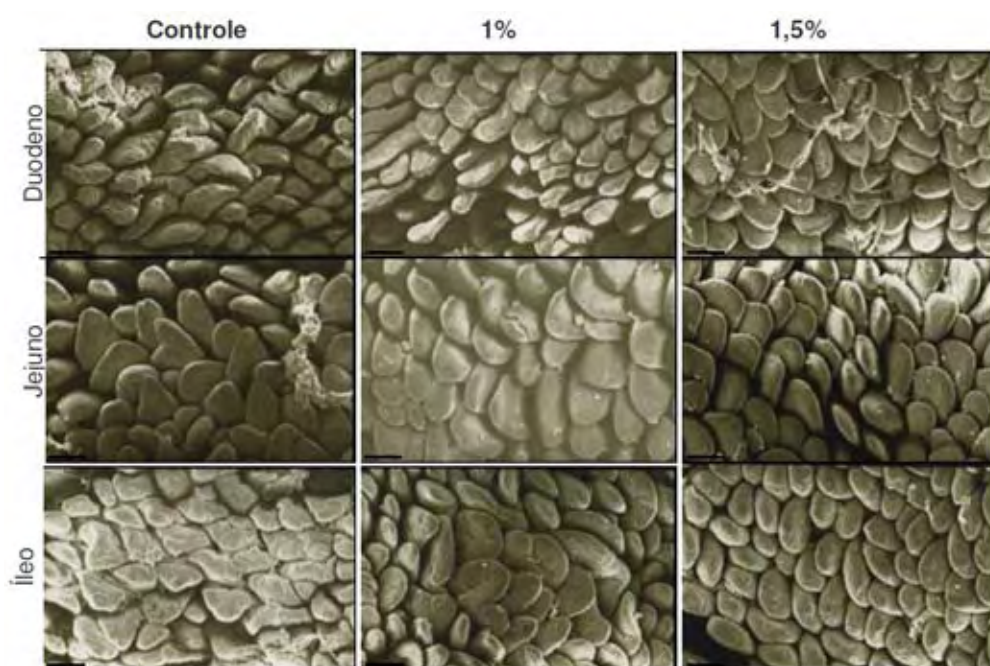


Figura 21 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 100μm).

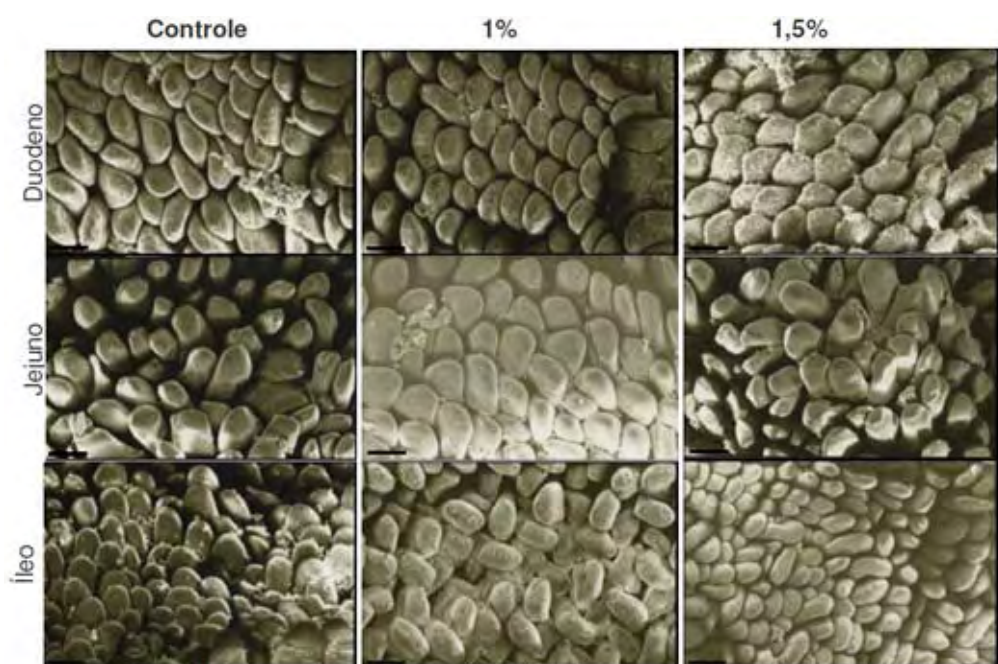


Figura 22 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 4 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 100μm).

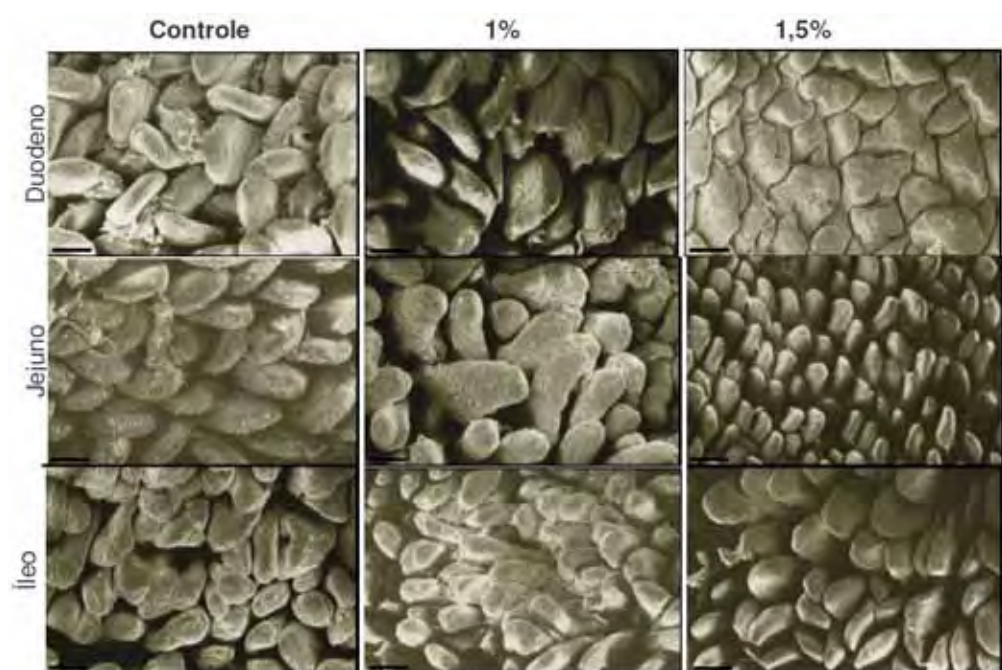


Figura 23 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 35 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 100μm).

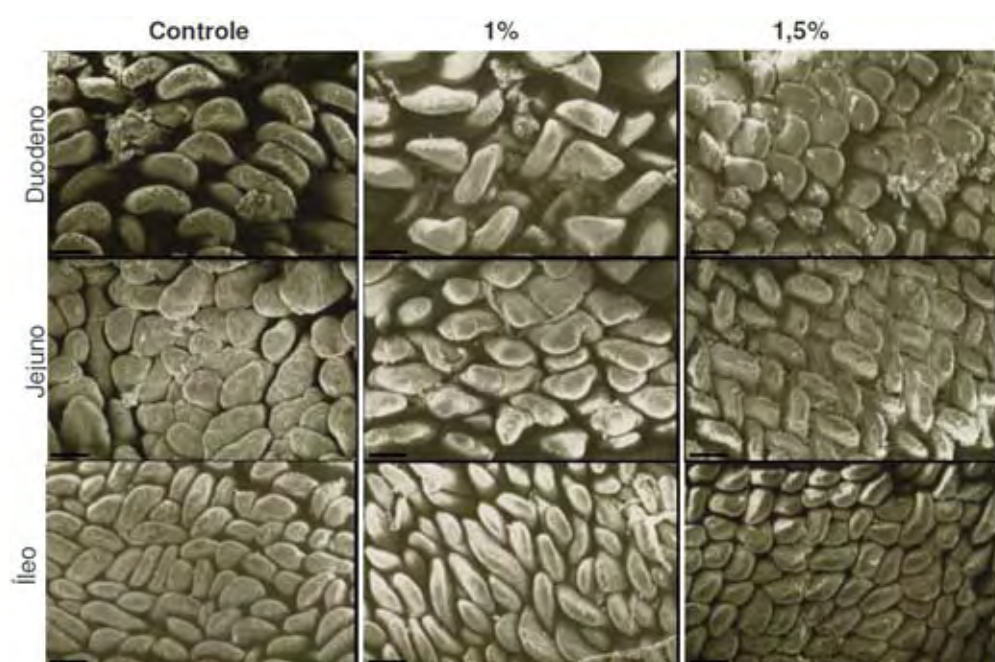


Figura 24 - Fotomicrografias da superfície intestinal do duodeno, jejuno e íleo de pintos com 7 dias de idade, oriundos de matrizes de 55 semanas incubados em concentração de CO₂ controle, 1% e 1,5% (—= 100µm).

Tabela 22 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 35 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.

Enzima	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
1 dia					
Tripsina específica	7,06	7,20	6,59	23,59	0,8600
Tripsina total	88,99ab	98,34a	62,48b	17,86	0,0172
Amilase específica	66,14	72,89	70,37	15,77	0,6903
Amilase total	667,14ab	703,66a	516,28b	15,83	0,0363
4 dias					
Tripsina específica	6,62	8,79	6,88	19,43	0,1220
Tripsina total	181,76	285,29	170,85	28,91	0,0509
Amilase específica	96,98	105,45	78,53	20,94	0,1894
Amilase total	3705,2	3937,7	3065,20	26,38	0,4278
7 dias					
Tripsina específica	7,77	7,79	7,07	49,45	0,9440
Tripsina total	599,6	587,3	540,8	58,77	0,9595
Amilase específica	151,70a	174,51a	83,37b	19,17	0,0014
Amilase total	10862,11a	9653,76a	5647,82b	18,42	0,0025

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Tabela 23 – Atividade enzimática específica (U.mg^{-1}) e total (U.g^{-1}) da tripsina e amilase pancreáticas dos pintos oriundos de ovos de matrizes de 55 semanas aos 1, 4 e 7 dias de vida.

Enzima	Concentração de CO ₂			CV(%)	Valor de p
	Controle	1%	1,5%		
1 dia					
Tripsina específica	5,99	6,08	4,95	17,16	0,2156
Tripsina total	63,49	74,81	74,14	15,78	0,2496
Amilase específica	75,12	84,59	64,67	22,76	0,3021
Amilase total	844,48	795,3	731,9	35,55	0,2951
4 dias					
Tripsina específica	8,44	8,24	7,15	26,14	0,5866
Tripsina total	224,82	271,72	244,09	22,43	0,4334
Amilase específica	101,25	102,23	81,43	22,67	0,3246
Amilase total	4069,5	4805,8	3526,3	24,22	0,2074
7 dias					
Tripsina específica	11,37	12,82	11,67	24,31	0,7378
Tripsina total	836,0	990,4	738,9	26,30	0,2898
Amilase específica	157,07a	177,08a	104,09b	22,55	0,0119
Amilase total	10195,6a	9428,7 ^a	6149,4b	19,22	0,0051

Médias seguidas de letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

4. DISCUSSÃO

A eclodibilidade, a eclosão e a qualidade dos pintos não foram influenciadas pela concentração de CO₂. Bruggeman et al. (2007) também não encontraram diferenças na porcentagem de eclosão com a incubação em concentração crescente de CO₂ do primeiro ao quarto dia de incubação e manutenção constante do concentração de 1,5% do quarto ao décimo dia. Por outro lado, De Smit et al. (2006) obtiveram melhora da eclodibilidade com a incubação em máquinas não ventiladas que também resultaram em concentrações crescentes de CO₂ até 1%, sem efeito com a incubação em concentração crescente até 1,5%.

O período médio de bicagem interna e nascimento não foram influenciados pela incubação em concentração de 1% de CO₂, entretanto foram aumentados pela concentração de 1,5%. O período médio de bicagem externa foi menor com a incubação em 1% de CO₂ nos ovos de matrizes jovens. As concentrações de CO₂ não afetaram a duração desses eventos. A incubação em concentração de 1,5% resultou em valores opostos aos obtidos por outros autores. Assim, Bruggeman et al., (2007) observaram redução do período médio de nascimento com a incubação em concentrações crescentes de CO₂ nos primeiros 10 dias de incubação. Em condições semelhantes, De Smit et al., (2006) e De Smit et al., (2008) também relataram diminuição do tempo médio para eclosão com o aumento gradual do CO₂, semelhante à redução no período médio de bicagem externa observado nos ovos oriundos de matrizes jovens.

Os autores citados acima trabalharam com incubadoras não ventiladas e essa condição resultou em problemas no controle da umidade causando aumento (BRUGGEMAN et al., 2007) e redução (DE SMIT et al., 2006) da umidade em comparação ao grupo mantido na incubadora ventilada. A maior umidade relatada por Bruggeman et al. (2007) resultou em menor perda relativa de peso dos ovos durante o período de aumento da concentração de CO₂. Por outro lado, De Smit et al. (2006) relataram maior perda relativa de peso dos ovos. Na presente pesquisa a umidade do ar foi mantida em 60% em todas as incubadoras, não havendo diferença significativa na perda relativa de peso dos ovos (9,19% e 9,91% para ovos de matrizes jovens e velhas, respectivamente). Bruzual et al. (2000) relataram que a umidade pode interferir na taxa de eclodibilidade, entretanto, não afeta o tempo de

eclosão. Robertson (1961) utilizou umidade nas incubadoras variando entre 40 e 70% e relataram melhor eclodibilidade com 50%. Outro ponto que difere entre a presente pesquisa e os trabalhos com incubadoras não ventiladas refere-se à concentração de oxigênio dentro das incubadoras. De Smit et al. (2006) relataram concentrações de 19,5 e 20% de O_2 nas incubadoras não ventiladas. Hassanzadeh et al. (2004) incubaram ovos a 2000 metros acima do nível do mar, que corresponde a uma concentração de O_2 de aproximadamente 17% (JULIAN, 2000) e verificaram eclosão mais precoce nestas condições. Outro ponto que deve ser levado em consideração é o comportamento do aumento gradual da concentração de CO_2 durante os primeiros 10 dias de incubação e a concentração de CO_2 na incubadora durante os últimos 11 dias. Bruggeman et al. (2007) iniciaram a injeção de CO_2 às 25 horas de incubação e o crescimento foi gradual até 1,5% com 96 horas, sendo esta concentração mantida até 240 horas, após a injeção a concentração de CO_2 foi mantida inferior a 0,2%. De Smit et al. (2006) submeteram os ovos a aumentos gradativos na concentração de CO_2 até 1% aos 10 dias e, posteriormente, a concentração foi mantida inferior a 0,1%. No presente experimento após 10 dias a concentração de CO_2 foi mantida abaixo de 0,1%.

Corroborando com a presente pesquisa, Reijrink et al. (2010) trabalharam com incubação em concentração de 0,7 a 0,8% de CO_2 até o quinto dia de incubação observando aumento da duração do período de incubação e ausência de efeito sobre os parâmetros de qualidade do pinto.

Apenas aos 16 dias a incubação em concentração de 1% de CO_2 resultou em maior peso dos fetos, somente para ovos provenientes de matrizes jovens. Nas demais idades avaliadas não houve efeito da concentração de CO_2 sobre o peso dos fetos e pintos. Esse resultado está de acordo com outras pesquisas que mostram maior peso de embriões apenas em alguma fase da incubação, havendo posteriormente equivalência do peso do grupo controle e do incubado em maior concentração de CO_2 (DE SMIT et al., 2006; DE SMIT et al., 2008; BRUGGEMAN et al., 2007). Verhoelst et al. (2011ab) comprovaram o estímulo ao sistema vascular em condições de hipóxia e hipercapnia durante a incubação através de avaliações na angiogênese da membrana corioalantóide. Essa maior vascularização resulta em maior absorção de nutrientes que ocasiona maior desenvolvimento das aves. Assim,

a presente pesquisa mostra menor porcentagem de saco de vitelo para as aves incubadas em 1% de CO₂, entretanto, a incubação em 1,5% determinou maior porcentagem de saco de vitelo associado à redução numérica do peso dos fetos. Reijrink et al. (2010) mostraram que concentrações de 0,7 a 0,8% durante os 5 primeiros dias de incubação prejudicou o desenvolvimento dos fetos contrariando tais vantagens em função de modificações no ambiente gasoso da incubação.

Associado ao maior porcentagem de saco de vitelo, a incubação em concentração de CO₂ de 1,5% determinou menor porcentagem de moela, pâncreas e intestinos nos pintos recém-eclodidos, não havendo efeito para a concentração de 1% de CO₂. O efeito nos componentes do sistema digestório foi observado apenas em aves provenientes de matrizes jovens. De acordo com Gabella (1989), aos 10 dias de incubação as células da moela ainda são imaturas, mas já podem ser claramente distinguidas. Ainda, Kim et al. (1997) mostraram a morfogênese do pâncreas, proventrículo e duodeno entre 3 e 4 dias de incubação, inclusive com detecção da expressão de glucagon, insulina e carboxipeptidase A neste período. Assim, o período de aumento na concentração de CO₂ representa uma importante fase de desenvolvimento dos componentes do sistema digestório. Os resultados obtidos com a incubação em concentração de 1,5% de CO₂ nesta pesquisa são contraditórios aos apresentados por outras pesquisas que mostram que embriões são resistentes às concentrações de CO₂ utilizadas (TAYLOR et al., 1956; TAYLOR & KREUTZIGER, 1965). Entretanto, assim como nesta pesquisa, Reijrink et al. (2010) encontraram atraso no desenvolvimento embrionário com incubação em concentração de CO₂ entre 0,7 e 0,8%, associando esse efeito aos 15 dias de estocagem antes da incubação. Segundo Singal e Kosin (1969), o aumento no tempo de estocagem está associado à redução na taxa mitótica e no conteúdo de proteína nos embriões. Ainda, outros fatores podem estar associados a variações nas respostas embrionárias ao aumento na concentração de CO₂ como idade da matriz (DE SMIT et al., 2006) e genética (DE SMIT et al., 2008). Esses resultados sugerem a necessidade de novas investigações referentes a outros fatores que possam influenciar a resposta dos embriões incubados em condições de hipercapnia.

Em relação à mucosa intestinal, nota-se discreto aumento e diminuição da altura dos vilos intestinais dos fetos com a incubação em concentração de CO₂ de 1% e 1,5%, respectivamente. O efeito negativo da incubação em concentração de 1,5% de CO₂ é mais evidente ao observar a maior densidade dos vilos intestinais dos fetos e pinto, indicando vilos com menor superfície.

Os hormônios tireoidianos parecem estar envolvidos nos efeitos da incubação em concentração de 1% de CO₂ da presente pesquisa. Resultados prévios confirmam o envolvimento desses hormônios com a redução no período para eclosão (BUYS et al., 1998; HASSANZADEH et al., 2004; DE SMIT et al., 2006; DE SMIT et al., 2008). Tanto a incubação em condições de hipercapnia (DE SMIT et al., 2006) como em hipóxia (HASSANZADEH et al., 2004) estão envolvidas em alterações das concentrações de hormônios tireoidianos.

O efeito positivo sobre o desenvolvimento dos componentes sistema digestório da incubação em 1% de CO₂ também podem ser associados a aumentos nas concentrações plasmáticas de T3 e corticosterona evidenciados por De Smit et al. (2006). Tais hormônios aceleram a taxa de desenvolvimento dos embriões (DECUYPERE et al., 1991) e estão envolvidos no crescimento e maturação funcional de vários órgãos nos embriões de espécies avícolas, inclusive do intestino (BLACK, 1978). Corroborando, Moog (1961) mostraram a relação entre hormônios tireoidianos e a diferenciação celular no intestino de embriões de pintos.

Ainda, os efeitos positivos da incubação em concentração de 1% de CO₂ podem ser atribuídos ao estímulo a angiogênese que ocorre em condições de hipercapnia. Verhoelst et al. (2011a) desenvolveram uma técnica capaz de avaliar a taxa de desenvolvimento vascular na membrana corioalantóide avaliada em condição de hipóxia. Posteriormente, os autores demonstraram a maior vascularização da membrana corioalantóide em condições de hipercapnia (VERHOELST et al., 2011b). De acordo com esses autores, a membrana corioalantóide é o órgão responsável pelas trocas gasosas durante a maior parte do desenvolvimento embrionário. Ainda, sabe-se que condições de hipercapnia são utilizadas no tratamento de doenças vasculares periféricas, com capacidade de estimular a angiogênese em outros órgãos como o membro posterior (IRIE et al.,

2005). Assim, condições de hipercapnia podem estimular o sistema cardiovascular através de vasodilatação e crescimento de novos vasos (DHILLON et al., 1984).

No início do desenvolvimento embrionário ocorre a vasculogênese, um processo onde os primeiros vasos sanguíneos são formados (RISAU, 1997). Estudos mostram que o intestino é formado por vasculogênese e contém células endoteliais intrínsecas (PARDANAUD et al., 1989). Ainda, de acordo com Ara et al. (2005) a artéria mesentérica superior se localiza próxima ao plexo vascular primário do intestino e se formam muitos vasos que conectam a artéria mesentérica superior ao vasos intestinais primários, formando a irrigação que supre o intestino na vida adulta. Assim, a incubação de ovos em condições de hipercapnia estimula a formação de vasos sanguíneos na membrana corioalantóide (VERHOELST et al., 2011b) e aumenta o diâmetro luminal da aorta (DECUYPERE et al., 2006). Os vilos intestinais também são bastante irrigados por arteríolas, vênulas e capilares (CHEN et al., 2003). De acordo com Winters (2012), o desenvolvimento da rede endotelial entérica acontece em fases durante o período de incubação de pintos. Segundo a autora, inicialmente, no terceiro dia de incubação, as células endoteliais estão apenas dispostas no espaço mesenquimal, evoluindo gradativamente até que invadem a lâmina própria dos vilos intestinais no décimo sexto dia de incubação. Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que o aumento crescente na concentração de CO₂ até 1% durante a incubação estimula o desenvolvimento vascular dos fetos, resultando em maior altura e menor densidade dos vilos nos diferentes segmentos intestinais.

Em relação à atividade de enzimas pancreáticas, verificou-se apenas menor atividade dessas enzimas nos pintos incubados em concentração de 1,5% de CO₂, não havendo diferença entre o grupo controle e a incubação em 1%. Marchaim e Kulka (1967) E Maiorka et al. (2004) mostraram atividade das enzimas pancreáticas no final do período de incubação. Assim, condição de hipercapnia de 1% de CO₂ nos primeiros 10 dias de incubação não influenciaram essas enzimas, já a concentração de 1,5% resultou em menores valores.

Dessa forma, além dos efeitos negativos da incubação em concentração de CO₂ de 1,5% sobre a mucosa intestinal e pâncreas, observou-se também maior período de nascimento, sugerindo um atraso no desenvolvimento dessas aves,

corroborando com Reijrink et al. (2010) que também observaram aumento no período de incubação na concentração de 0,7 a 0,8% de CO₂ e mostraram um retardo numérico ($p=0,08$) no desenvolvimento embrionário dos pintos.

5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento morfofisiológico do sistema digestório de fetos e pintos é influenciado positivamente pela exposição à concentração de 1% de CO₂ nos 10 primeiros dias de incubação, enquanto a concentração de 1,5% causa efeito contrário.

6. REFERÊNCIAS

ARA, T.; TOKOYODA, K.; OKAMOTO, R.; PANDELAKIS, A.K.; NAGASAWA, T. The role of CXCL12 in the organ-specific process of artery formation. **Blood**, v. 105, n. 8, p. 3155-3161, 2005.

BERNFELD, P. Amylases α and β . In: COLOWICK, S.B.; KAPPLAN, N.O. (Ed.) **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, v. 1, p. 143-153, 1955.

BLACK, B.L. Morphological development of the epithelium of the embryonic chick intestine in culture: Influence of thyroxine and hydrocortisone. **American Journal of Anatomy**, v. 153, n. 4, p. 573-600, 1978.

BRUGGEMAN, V.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; EVERAERT, N.; KAMERS, B.; ONAGBESAN, O. M.; DEGRAEVE, P.; DECUYPERE, E. Acid-base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated at high CO₂ concentrations during first 10 days of incubation. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 159, n. 2, p. 147-154, 2007.

BRUZUAL, J.J.; PEAK, S.D.; BRAKE, J.; PEEBLEST, E.D. Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder flocks. *Poultry Science*, v. 79, n. 6, p. 827-830, 2000.

BUYS, N.; DEWIL, E.; GONZALES, E.; DECUYPERE, E. Different CO₂ level during incubation interact with hatching time and ascites susceptibility in two broiler lines selected for different growth rate. **Avian Pathology**, v. 27, n. 6, p. 605-612, 1998.

CHEN, Y.M.; ZHANG, J.S.; DUAN, X.L. Changes of microvascular architecture, ultrastructure and permeability of rat jejunal villi at different ages. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 4, p. 795-799, 2003.

DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, n. 5, p. 1037-1042, 2007.

DECUYPERE, E.; DEWIL, E.; KUHN, E.R. The hatching process and the role of hormones. In: Tallet, SG (Ed.), **Avian incubation**. 2nd Ed., London, Butterworth-Heinemann. p. 239-256, 1991.

DECUYPERE, E.; ONAGBESAN, O.; DE SMIT, D.; TONA, K.; EVERAERT, N.; WITTERS, A.; DEBONNE, M.; VERHOELST, V.; BUYSE, J.; HASSANZADEH, M.; DEBAERDEMAEKER, J.; ARCKENS, L.; BRUGGEMAN, V. Hypoxia and hypercapnia during incubation of chicken eggs on development and subsequent performance. XII European Poultry Congress, 10–14 September, Verona, Italy, **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 486–487, 2006.

DECUYPERE, E.; TONA, K.; BRUGGEMAN, V.; BAMELIS, E. The day old chick: a crucial hinge between breeders and broilers. **Worlds Poultry Science Journal**, v. 57, p. 127-138, 2001.

DE SMIT, L.; BRUGGEMAN, V.; DEBONNE, M.; TONA, J.K.; KAMERS, B.; EVERART, N.; WITTER, A.; ONAGBESAN, O.; ARCKENS, L.; DE BAERDEMAEKER, J.; DECUYPERE, E. The effect of nonventilation during early incubation on the embryonic development of chicks of two commercial broiler strains differing in ascites susceptibility. **Poultry Science**, v. 87, n. 3, p. 551-560, 2008.

DE SMIT, L.; BRUGGEMAN, V.; TONA, J. K.; DEBONNE, M.; ONAGBESAN, O.; ARCKENS, L.; BAERDEMAEKER, J.; DECUYPERE, E. Embryonic developmental plasticity of the chick: increased CO₂ during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 145, n. 2, p. 166-175, 2006.

DHILLON, D.P.; GWENDA, R.; BARER, R.; WALSH, M. The enlarged carotid body of the chronically hypoxic and hypercapnic rat: a morphometric analysis. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v. 69, n. 2, p. 301-317, 1984.

GABELLA, G. Development of smooth muscle: ultrastructural study of the chick embryo gizzard. **Anatomy and Embriology**, v. 180, n. 3, p. 213-226, 1989.

HASSANZADEH, M.; BOZORGMEHRI FARD, M. H.; BUYSE, J.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E. Effect os chronic hypoxia during embryonic development on physiological functioning and on hatching and post-hatching parameters related to ascites syndrome in broiler chickens. **Avian Pathology**, v. 33, n. 6, p. 558-564, 2004.

IRIE, H.; TATSUMI, T.; TAKAMIYA, M. KEN, Z.; TAKAHASHI, T.; AZUMA, A.; TATEISHI, K.; NOMURA, T.; HAYASHI, H.; NAKAJIMA, N.; OKIGAKI, M.; MATSUBARA, H. Carbon Dioxide–Rich Water Bathing Enhances Collateral Blood Flow in Ischemic Hindlimb via Mobilization of Endothelial Progenitor Cells and Activation of NO-cGMP System. **Circulation**, v. 111, p. 1523-1529, 2005.

JULIAN, R.J. Physiological management and environmental triggers of the ascites syndrome: a review. **Avian Pathology**, v. 29, n. 6, p. 519-527, 2000.

KIM, S.K.; HEBROK, M.; MELTON, D.A. Notochord to endoderme signaling is required for pancreas development. **Development**, v. 124, n. 21, p. 4243-4252, 1997.

MOOG, F. The functional differentiation of the small intestine IX. The influence of thyroid function on cellular differentiation and accumulation of alkaline phosphatase in the duodenum of the chick embryo. **General and Comparative Endocrinology**, v. 1, n. 5-6, p. 416-432, 1961.

PARDANAUD, L.; YASSINE, F.; DIETERLEN-LIEVRE, F. Relationship between vasculogenesis, angiogenesis and haemopoiesis during avian ontogeny. **Development**, v. 105, n. 3, p. 473-485, 1989.

PIZAURO, J.M.; FERRO, J.A.; LIMA, A.C.F.; ROUTMAN, K.S.; PORTELLA, M.C. The zymogen-enteropeptidase system: A practical approach to study the regulation of enzyme activity by proteolytic cleavage. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, USA, v. 32, n.1, p. 45-48, 2004.

RASBAND, W.S. Image J, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 2004. Disponível em: <<http://rsb.info.nih.gov/ij/>> Acesso em 23 de fevereiro de 2011.

REIJRINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryonic development, hatchability, and chick quality. **Poultry Science**, v. 89, n. 11, p. 2470-2483, 2010.

RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**, v. 386, n. 6626, p. 671-674, 1997.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, L. S. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª Edição. Viçosa, 2011, p. 120.

SINGAL, D.P.; KOSIN, I.L. Induced preincubation of the avian egg and subsequent development of the embryo, as revealed by the DNA, RNA and protein level of its spleen. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 132, n. 3, p. 871–877, 1969.

SMITH, M. W.; MITCHELL, M. A.; PEACOCK, M. A. Effects of genetic selection on growth rate and intestinal structure in the domestic fowl (*Gallus Domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology A, Comparative Physiology**, v. 97A, n. 1, p. 57–63, 1990.

TAYLOR, L.W., KREUTZIGER, G.O. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 2. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the fifth through the eighth days of incubation. **Poultry Science**, v. 44, p. 98–106, 1965.

TAYLOR, L.W., KREUTZIGER, G.O. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 3. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the period of the ninth through the twelfth days of incubation. **Poultry Science**, v. 45, p. 867–884, 1966.

TAYLOR, L.W., SJODING, R.A. and GUNNS, C.A. The gaseous environment of the chick embryo in relation to its development and hatchability. 1. Effect of carbon dioxide and oxygen levels during the first four days of incubation upon hatchability. **Poultry Science**, v. 35, p. 1206 – 1215, 1956.

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

VERHOELST, E.; KETELAERE, B.; BRUGGEMAN, V.; VILLAMOR, E.; DECUYPERE, E.; BAERDEMAERKER, J. Development of a fast, objective, quantitative methodology to monitor angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane during development. **The International Journal of Development Biology**, v. 55, n. 1, p. 85-92, 2011a.

VERHOELST, E.; KETELAERE, B.; DECUYPERE, E.; BAERDEMAEKER, J. The effect of early prenatal hypercapnia on the vascular network in the chorioallantoic membrane of the chicken embryo. **Biotechnology Progress**, v. 27, n. 2, p. 562-570, 2011b.

VIEIRA, S. L.; MORAN JR, E. T. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, n. 2, p. 126-192, 1999.

WINTERS, N.I. **Analysis of intestinal splanchnopleure development**. 2012. 132 f. Dissertation (Doctor of Philosophy in Cell and Developmental Biology) - Faculty of the Graduate School of Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, 2012.

WINDHORST, H.W. Changes in poultry and trade worldwide. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 4, p. 584–602, 2006.

CAPÍTULO 4 – Implicações

As conclusões obtidas nessa Tese permitem as seguintes implicações:

- 1- Mudanças na temperatura de incubação afetam a morfofisiologia do sistema digestório. Alterações constantes, mesmo que de apenas 1°C em relação à temperatura de 37,5°C durante a segunda metade da incubação prejudicaram parâmetros da incubação como a janela de nascimento e a morfofisiologia do sistema digestório, não sendo recomendadas na indústria avícola.
- 2- Hipercapnia durante o início da incubação influenciam a morfofisiologia do sistema digestório. A utilização de injeções contínuas e gradativas até a concentração de 1% de CO₂ durante a primeira metade da incubação beneficia os parâmetros da incubação e a morfofisiologia do sistema digestório. Através de estímulos ao desenvolvimento do sistema digestório o desempenho final dos frangos de corte pode ser melhorado.