

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**DURAÇÃO DA ECLOSÃO E TEMPERATURA DE  
INCUBAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DOS PINTOS, SEU  
DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE**

**João Batista Matos Junior**

Zootecnista

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**DURAÇÃO DA ECLOSÃO E TEMPERATURA DE  
INCUBAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DOS PINTOS, SEU  
DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE**

**João Batista Matos Junior**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Isabel Cristina Boleli**

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

**2016**

Matos Junior, João Batista  
M425d Duração da eclosão e temperatura de incubação sobre a  
qualidade dos pintos, seu desempenho e qualidade de carne. /  
João Batista Matos Junior. -- Jaboticabal, 2016  
xiv, 143 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011  
Orientador: Isabel Crista Boleli  
Banca examinadora: Daniel Emygdio de Faria Filho, Rodrigo  
Garofallo Garcia, Marcos Macari, Lizandra Amoroso  
Bibliografia

1. Aves-bem-estar. 5. Carne-qualidade. 3. Estresse-incubação. 3.  
Frango de corte-desempenho. 4. Pintinhos-qualidade. 5. Sangue. I.  
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 591.1:636.5

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DURAÇÃO DA ECLOSÃO E TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DOS PINTOS, SEU DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE

AUTOR: JOÃO BATISTA MATOS JUNIOR  
ORIENTADORA: ISABEL CRISTINA BOLELI

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

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

Professor Adjunto DANIEL EMYGDIO DE FARIA FILHO  
Departamento de Zootecnia / FZEA/USP - Pirassununga/SP

Prof. Dr. RODRIGO GAROFALO GARCIA  
Departamento de Ciências Agrárias / Universidade Federal da Grande Dourados - Dourados - MS

Prof. Dr. MARCOS MACARI  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 17 de fevereiro de 2016.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JOÃO BATISTA MATOS JUNIOR** – nascido em 23 de junho de 1981, na cidade de Jeceaba (MG), filho de João Batista Matos e Célia Magna da Silva Matos. Em Agosto de 2004 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM – Câmpus de Diamantina – MG, transferindo-se para o curso de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG – Câmpus de Montes Claros – MG, em agosto de 2006, graduando-se em janeiro de 2010, no mês de março do mesmo ano, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, área de concentração Agroecologia, em nível de Mestrado, na mesma instituição, sob orientação do Prof. Dr. Daniel Emygdio de Faria Filho, obtendo o título de mestre em fevereiro de 2012. Em março de 2012, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp – Câmpus de Jaboticabal – SP, sob orientação da Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli. Em Janeiro de 2015, realizou doutorado sanduíche pela Università degli Studi del Molise/UNIMOL – Campobasso – Itália, sob orientação do Prof. Dr. Giuseppe Maiorano. No dia 17 de fevereiro de 2016 realizou a Defesa de Tese do Doutorado, na qual foi aprovado pela banca examinadora e obteve o título de Doutor em Zootecnia.

“Não precisamos de mais dinheiro, não precisamos de mais sucesso ou fama, não precisamos do corpo perfeito, nem mesmo do parceiro perfeito, agora mesmo, neste momento exato, dispomos da mente, que é todo o equipamento básico de que precisamos para alcançar a plena felicidade.”

(Dalai Lama)

“Todas as verdades são fáceis de perceber depois de terem sido descobertas;  
os problemas são descobri-las.”

(Galileu Galilei)

“A experiência nunca falha, apenas as nossas opiniões falham, ao esperar da experiência aquilo que ela não é capaz de oferecer.”

(Leonardo da Vinci)

“Obstáculo é aquilo que se vê quando se tira os olhos do objetivo que se quer  
alcançar.”

(Bob Marley)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Deus pela proteção, coragem, capacidade, dando permissão de chegar até aqui.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado (proc. nº 2012/14428-0) e pela bolsa de doutorado sanduíche concedida (proc. nº 2014/23665-0).

À minha orientadora Profa. Isabel pela confiança, amizade, paciência na execução deste trabalho, e ainda, pelo respeito, ética, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação que marcaram o nosso convívio durante esses anos, muito obrigado por tudo professora.

Aos membros da banca Profs; Daniel Emygdio de Faria Filho, Rodrigo Garofallo Garcia, Marcos Macari, Lizandra Amoroso pela colaboração para a melhoria do presente trabalho.

Ao Prof. Guiseppe Maiorano e sua equipe de pesquisa Síria, Angwechh e Cinzia pela atenção, acolhimento, ajuda no trabalho e pelo carinho dedicado grazie. Aos meus amigos de republica Salvatore, Daniele, Lorenzo, Gigi e Matteo pela recepção, consideração e os bons momentos que passamos juntos grazie per tutti i miei amici.

Aos meus pais, João Batista Matos (*in memorian*) e Célia Magna da Sila Matos pelo amor, incentivo, educação, auxílio, mas acima de tudo pela dedicação aos filhos. Aos meus irmãos, Geruza e Júlio Cesar e minhas sobrinhas Fernanda, Flávia e Laís pelo carinho e amor.

À minha noiva Lara pelo apoio, respeito, paciência e principalmente pela motivação, carinho, confiança e ajuda muito obrigado linda por tudo.

Aos amigos de trabalho, Vitor, Tamiris, Viviane, Sarah, Joice, Diego, Silvia, Evandro, Gisele, Guilherme, Rafael, Isabela, Maria Fernanda, Eduardo, Laka, Elaine, Thais e Carla, pelo auxílio na condução dos experimentos e pelos bons momentos de convivência e trabalho.

Aos meus amigos de republica, Gabriel, Tiago e Anderson pela amizade e os

bons momentos que passamos juntos ao longo desses anos.

Aos funcionários, em especial: Euclides, Edmar, Damares e Wagener (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal), Izildo, Robson e Vicente (Setor de Avicultura), Helinho (Fábrica de Ração) muito obrigado pela ajuda.

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desse sonho obrigado.

## SUMARIO

	Pagina
<b>LISTA DE TABELAS</b> -----	<b>iii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> -----	<b>vi</b>
<b>COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS</b> -----	<b>viii</b>
<b>RESUMO DA TESE</b> -----	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> -----	<b>xii</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> -----	<b>1</b>
INTRODUÇÃO-----	1
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> -----	<b>3</b>
Situação atual da avicultura brasileira-----	3
Janela de eclosão-----	3
Temperatura de Incubação e criação-----	5
Qualidade dos pintainhos -----	6
Constituição do tecido muscular-----	7
Transformação do músculo em carne-----	9
Qualidade da carne-----	10
pH-----	11
Cor-----	12
Maciez-----	13
Capacidade de retenção de agua-----	15
Perda de peso por cocção-----	16
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> -----	<b>17</b>
<b>CHAPTER 2 – HATCHING DURATION INFLUENCES THE BROILER HATCHLING QUALITY</b> -----	<b>29</b>
Abstract-----	29
Introduction-----	30
Materials and Methods -----	31
Results -----	36
Discussion -----	40
Conclusion -----	46
<b>References</b> -----	<b>47</b>

<b>CAPITULO 3 – DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO INFLUENCIA A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS</b> -----	<b>67</b>
Resumo-----	67
Introdução-----	68
Material e Métodos-----	69
Resultados-----	74
Discussão-----	77
Conclusão-----	79
<b>Referências Bibliográficas</b> -----	<b>79</b>
<b>CHAPTER 4 – HATCHING TIME AND INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE THERMAL PREFERENCE OF BROILER CHICKENS</b> -----	<b>85</b>
Abstract -----	85
Introduction-----	86
Materials and Methods-----	87
Results-----	90
Discussion-----	94
Conclusion -----	97
<b>References</b> -----	<b>98</b>
<b>CAPITULO 5 - EFEITOS DA DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO E A TEMPERATURA DE CRIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGO</b> -----	<b>111</b>
Resumo-----	111
Introdução-----	112
Material e Métodos-----	113
Resultados-----	119
discussão-----	133
conclusão-----	137
<b>Referências Bibliográficas</b> -----	<b>138</b>

## LISTA DE TABELAS

### CHAPTER 2 – HATCHING DURATION INFLUENCES THE BROILER HATCHLING QUALITY

<b>Table 1</b> – Physical characteristics used for chick quality determination. ---	56
<b>Table 2</b> – Duration of incubation, internal and external pipping times, and time interval between pippings for male broiler chicks, according to hatching period duration and the incubation temperature from day 13-----	58
<b>Table 3</b> – Egg weight loss and eggshell conductance, relative weight and thickness for male broiler chicks according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	59
<b>Table 4</b> – Body and yolk-sac weights, and rectal temperatures of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	61
<b>Table 5</b> – Erithrogram of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	62
<b>Table 6</b> – Blood pH, gases, base excess and bicarbonate of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	63
<b>Table 7</b> – Blood ions and glucose concentrations of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	64
<b>Table 8</b> – Blood concentrations of total cholesterol, urea, uric acid, triglycerides and total protein of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13-----	66
<b>CAPITULO 3 – DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO INFLUENCIA A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS</b>	
<b>Tabela 1</b> – Rendimento de carcaça, cortes e órgãos de frangos de corte com 42 dias de idade, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca-----	75
<b>Tabela 2</b> – Qualidade da carne e área em corte transversal das fibras do peito dos frangos de corte aos 42 dias de idade, de acordo com a	

duração do período entre bicagem externa e saída da casca.....	76
<b>Tabela 3</b> – Qualidade da carne da sobrecoxa e área em corte transversal das fibras do músculo sartorio de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca.....	77
<b>CAPÍTULO 4 – HATCHING TIME AND INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE THERMAL PREFERENCE OF BROILER CHICKENS</b>	
<b>Table 1</b> – Thermal preference of broilers during the rearing period, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and incubation temperature (IT) during the fetal phase----	102
<b>Table 2</b> – Rectal temperature before and after the thermal preference test of broilers, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.....	103
<b>Table 3</b> – Respiratory movement frequency ( $\text{mov. min}^{-1}$ ) of broilers in the phases of the thermal challenge, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.....	104
<b>Table 4</b> – Rectal temperature (RT) of broilers in the phases of the thermal challenge test, with duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.....	106
<b>Table 5</b> – Overall performance of broilers, according to the time period between external pipping and hatching ( $D_{EP-H}$ ) and incubation temperature during fetal phase (IT).....	110
<b>CAPÍTULO 5 - DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO E A TEMPERATURA DE CRIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGO</b>	
<b>Tabela 1</b> – Temperatura média de criação, de acordo com o tratamento e semana de criação.....	114
<b>Tabela 2</b> – Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de criação.....	115

<b>Tabela 3</b> – Desempenho de frangos de corte, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC)-----	121
<b>Tabela 4</b> – Interação entre a duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC) para ganho de peso na 6ª semana e de 1-42 dias e conversão alimentar na 5ª semana-----	122
<b>Tabela 5</b> – Rendimento de carne de frangos de corte com 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura criação (TC)-----	125
<b>Tabela 6</b> – Interação entre duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação para peso do peito e dorso de frangos com 42 dias de idade-----	126
<b>Tabela 7</b> – Qualidade da carne, e área da secção transversal das fibras do músculo do peito de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC)-----	128
<b>Tabela 8</b> – Qualidade da carne da sobrecoxa de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC)-----	131
<b>Tabela 9</b> – Interação entre duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação para qualidade de carne da coxa e área em corte transversal das fibras do músculo Sartorius de frangos com 42 dias de idade-----	132

## LISTA DE FIGURAS

### CHAPTER 2 – HATCHING DURATION INFLUENCES THE BROILER HATCHLIN QUALITY

**Figure 1.** Daily average of the incubator air (AIT) and eggshell (EST) temperatures throughout the incubation, reported for male broiler chicks with short (6-10h) and long (20-26h) hatching period between external pipping and the emergence from the eggshell (HPD), according to incubation temperature from day 13: 37.5°C (A) and 39°C (B). Vertical line in each graph corresponds to the beginning of the incubation temperature treatments. Each air AIT corresponds to the average obtained from four incubators/temperature. EST correspond to the average obtained from three to seven eggs----- 57

**Figure 2.** Average quality total score received by male broiler chicks, according to hatching period duration between external pipping and the emergence from the eggshell (Short: 6-10h, Long: 20-26h) and incubation temperature from day 13 (37.5 and 39°C). There was no significant difference in the quality scores among chick treatments ( $P > 0.05$ ), being all classified as very good chicks.----- 60

**Figure 3.** Interaction between hatching period duration between external pipping and the emergence from the eggshell (Short: 6-10h, Long: 20-26h) and incubation temperature from day 13 (37.5 and 39°C) for the blood iCa concentration of male broiler chicks. \*: mean with asterisk indicates difference from the other means ( $P < 0.05$ )----- 65

### CAPITULO 3 – DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO INFLUENCIA A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS

**Figura 1.** Peso corporal, ganho de peso, consumo de ração, e conversão alimentar, semanais e de 1-42 dias, de frangos de corte, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ , Curta:6-10h e Longa: 20-26h)----- 74

### CAPÍTULO 4 – HATCHING TIME AND INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE THERMAL PREFERENCE OF BROILER CHICKENS

**Figure 1.** Respiratory movement frequency (RMf) of broilers aged 8 (A) and 29 (B) days, at the end of the thermal challenge phase, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature during fetal phase. a-b: means with distinct letters differ significantly (Tukey test,  $P \leq 0.05$ )----- 105

**Figure 2.** Rectal temperature (RT) of broilers at the first (A) and at the thermal challenge (B) phases of the thermal challenge test, with the interaction amongst the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase. a-b: means with distinct letters differ significantly (Tukey test,  $P \leq 0.05$ )----- 107

**Figure 3.** Frequency of respiratory movements (RMf) of broilers from eggs incubated at 37.5 °C with short (A) and long (B) duration of hatching period between pipping external and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and at 39 °C with short (C) and long  $D_{EP-H}$  (D) obtained at the preferred temperature before thermal challenge, at thermal challenge, and after thermal challenge, according to age. a-b: different letters in each age indicate significant differences among means by Tukey test (  $P \leq 0.05$ )----- 108

**Figure 4.** Rectal temperature of broilers from eggs incubated at 37.5 °C with short (A) and long (B) time period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and at 39 °C with short (C) and long  $D_{EP-H}$  (D) obtained at the preferred temperature before thermal challenge, at thermal challenge, and at preferred temperature after thermal challenge, according to age. a-b: different letters in each age indicate significant differences among means by Tukey test (  $P \leq 0.05$ ).----- 109

## **CAPILULO 5 – EFEITOS DA DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO E A TEMPERATURA DE CRIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGO**

**Figura 1.** Peso corporal de frangos, de acordo com duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação----- 123

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

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

Jaboticabal, 08 de novembro de 2012.

  
Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi  
Coordenador - CEUA

## DURAÇÃO DA ECLOSÃO E TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DOS PINTOS, SEU DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE

**RESUMO** – No presente estudo foi investigado se a duração da eclosão (período entre bicagem externa e saída da casca,  $D_{BE-SC}$ ), associado à temperatura de incubação (37,5 e 39°C) na fase de desenvolvimento fetal, influencia: (i) a temperatura e espessura da casca e a perda de massa dos ovos, a qualidade e características sanguíneas dos pintos de corte machos na eclosão, (ii) a preferência térmica e resposta ao estresse por calor ao longo da criação, e (iii) o desempenho e qualidade de carne, o que originou os Capítulos 2, 3, 4 e 5, respectivamente. No Capítulo 2, ovos férteis de matrizes de corte (Cobb® 500) foram utilizados em um delineamento experimental 2x2 (intervalo de tempo entre a bicagem externa e a saída da casca: curto e longo; temperatura de incubação: 37,5 e 39°C, a partir do 13º dia de incubação). Alta temperatura diminuiu a duração da incubação, mas não alterou a taxa de eclosão e a qualidade dos pintos. Os valores de  $PvCO_2$ ,  $PvO_2$ ,  $TvCO_2$ ,  $SvO_2$ , pH,  $BE_{ecf}$ ,  $HCO_3^-$ , íons  $Na^+$ ,  $K^+$ , glicose colesterol total, ureia, ácido úrico, triglicérides e proteína total no sangue não foram alterados pela incubação à 39°C, mas o Hct, a HCM e a concentração de  $iCa$  foram maiores nos pintos de incubação à 39°C do que à 37,5°C. Os dados mostram que os pintos de corte respondem à alta temperatura de incubação e à longa duração do período de eclosão com ajustes hematológicos que aumentam seu potencial de troca gasosa, possibilitando a manutenção da taxa de eclosão e da sua qualidade. No capítulo 3 investigou se a duração do período entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ , curto e longo Cap 2) influencia o desempenho, rendimento e qualidade de carne dos frangos. A duração do período de eclosão não influenciou o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar de 1-42 dias de idade, o peso corporal e o rendimento de carcaça e partes à idade de abate, exceção feita ao rendimento do dorso que foi maior nos frangos com curto do que longo período de eclosão. No que se refere à qualidade de carne, a  $D_{BE-SC}$  não influenciou a perda por cocção, força de cisalhamento, pH, capacidade de perda água, índices de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) e tamanho das fibras musculares do peito dos frangos. Também não houve efeito da duração do período de eclosão sobre a força de cisalhamento, pH, índices de cor e tamanho

das fibras musculares oxidativas de contração lenta e glicolíticas de contração rápida da sobre-coxa. Entretanto, pintos com longo  $D_{BE-SC}$  apresentaram maior perda por cocção, capacidade de perda de água e tamanho das fibras oxidativas-glicolíticas de contração rápida. Os resultados mostram que duração do período de eclosão interfere na qualidade da carne da sobre-coxa, e que frangos com curto  $D_{BE-SC}$  apresentam carne da sobrecoxa mais macia e suculenta que os frangos com longo  $D_{BE-SC}$ . No Capítulo 4, também foi utilizado delineamento experimental similar ao do Capítulo 2. Pintos de ovos incubados à 37,5°C e com curta  $D_{BE-SC}$  preferiram temperatura ambiente mais baixa em todas as idades analisadas ao longo da criação (1, 7, 14, 21, 28, 35 dias), enquanto que os pintos oriundos de incubação à 39°C e longa  $D_{BE-SC}$  preferiram temperaturas mais elevadas a partir dos 21 dias de idade. Independentemente da  $D_{BE-SC}$  e da temperatura de incubação, os frangos apresentaram aumento da frequência de movimentos respiratórios quando expostos à alta temperatura ambiente (2, 8, 15, 22, 29 e 36 dias de idade), conseguindo manter sua temperatura corporal em todas as idades. Tais resultados mostram que a  $D_{BE-SC}$  associados ou não à alta temperatura de incubação influencia a preferência térmica dos frangos durante todo o período de criação, mas não sua resposta ao calor. No Capítulo 5 analisou se a duração do período entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ , curto e longo Cap 2), e a temperatura de criação (recomendada para a linhagem e preferida pelas aves no teste de preferência Cap 4) interferem no desempenho, rendimento e qualidade de carne de frangos de corte. Frangos com curta e longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem apresentaram peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar similares aos 42 dias de idade; todavia, frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada e de preferência consumiram menos ração do que os frangos com curta  $D_{BE-SC}$  o que resultou um menor ganho de peso e peso corporal aos 42 dias de idade. O melhor desempenho dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  sob temperatura de preferência resultou em maior peso do peito do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  também criados na preferência térmica. A perda por cocção, força de cisalhamento, pH, índices  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e tamanho das fibras musculares da carne do peito dos frangos não influenciadas pela  $D_{BE-SC}$  e a TC, contudo, a capacidade de retenção de água foi menor nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada

para a linhagem do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na mesma condição térmica e do que nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura de preferência. No que se refere à qualidade da carne da sobrecoxa entre frangos com a mesma  $D_{BE-SC}$  criados em temperaturas diferentes, verifica-se aumento da rigidez e diminuição da maciez da carne dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  quando estes são criados na temperatura de preferência. Os dados do presente relatório mostram que duração do período de eclosão interfere no desempenho, rendimento de carcaça e cortes, e na qualidade da carne do peito e sobrecoxa dos frangos.

**Palavras-chaves:** desempenho, duração da incubação, estresse por calor, frangos de corte, sangue

## HATCHING DURATION AND INCUBATION TEMPERATURE ON THE QUALITY OF CHICKS, ITS PERFORMANCE AND MEAT QUALITY

**ABSTRACT** – The present study investigated if the duration of emergence (time period between external pipping and the actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) associated to incubation temperature (37.5 and 39°C) during fetal development phase, influences: (i) the eggshell temperature and thickness and the weight loss of eggs, quality and blood characteristics of broiler chicks at hatching, (ii) thermal preference and response to heat stress throughout grow out phase, and (iii) performance and quality of meat, in Chapters 2, 3, 4 and 5, respectively. Chapter 2, fertile eggs from broilers hans (Cobb® 500) were used in a 2x2 experiment (time between external pipping and actual hatching: short and long, incubation temperature: 39°C and 37.5, from the 13<sup>th</sup> day of incubation). High temperature decreased the duration of incubation, but did not alter the hatching rate and the quality of the chicks. The values of  $PvCO_2$ ,  $PvO_2$ ,  $TvCO_2$ ,  $SvO_2$ , pH, BEecf,  $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ , glucose, total cholesterol, urea, uric acid, triglycerides, and total protein in blood were not altered by incubation at 39°C, but the Hct, the HCM and the concentration of iCa were higher in hatching chicks to 39°C than at 37.5°C. The data show that broiler respond to the high incubation temperature and the length of the hatching period with hematological adjustments that increase their potential for gas exchange, enabling the maintenance of hatching rate and its quality. In chapter 3 we investigated whether the time between external piping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ , short- and long-Cap 2) influences the performance, yield and meat quality of broilers. The duration of the hatching period did not influence weight gain, feed intake and feed conversion of 1-42 days of age, body weight and carcass yield and slaughtering age, except for the of the back yield which was higher in broilers from shorter than long period of hatching. As regards the quality of the meat,  $D_{EP-H}$  did not influence the cooking loss, shear force, pH, water capacity loss, color indices ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) and the size of muscle breast fibers of broilers. There was no effect of the duration of the hatching period on the shear strength, pH, color and size indices of oxidative muscle fibers slow and glycolytic and fast over-thigh contraction. However, broilers with long  $D_{EP-H}$  showed higher cooking loss, water loss of capacity and size of oxidative-glycolytic

fast twitch fiber. The results show that hatching period influences with the quality of the meat on the thigh-, and short  $D_{EP-H}$  broilers present meat more tender and juicy over-thigh broilers with long  $D_{EP-H}$ . In Chapter 4, the experimental design was similar to the Chapter 2. Chicks from eggs incubated at 37.5°C and short  $D_{EP-H}$  preferred lower temperature at all ages analyzed during the creation (1, 7, 14, 21, 28, 35 days), whereas the chicks from incubation at 39°C and long  $D_{EP-H}$  preferred  $D_{EP-H}$  higher temperatures from 21 days of age. Regardless of  $D_{EP-H}$  and incubation temperature, broilers showed increased frequency of breathing movements when exposed to high ambient temperature (2, 8, 15, 22, 29 and 36 days of age), able to maintain their body temperature in all ages. These results show that  $D_{EP-H}$  associated or not with high incubation temperature influences the thermal preference of broilers during the rearing period, but not their response to heat. In Chapter 5 examined whether the length of time time period between external pipping and the actual hatching ( $D_{EP-H}$ , short-and long-Cap 2), and the rearing of temperature (recommended for lineage and preferred by birds in preference in the test in Cap 4) interfere performance, yield and quality of broiler meat. Broilers with short and long  $D_{EP-H}$  reared at the recommended temperature for the strain showed similar body weight, weight gain and feed conversion at 42 days of age; however, broilers with long  $D_{EP-H}$  reared at the recommended temperature and preferred temperature consumed less feed than broilers with short  $D_{EP-H}$  which resulted in a lower weight gain and body weight at 42 days old. The best performance of the broilers with short  $D_{EP-H}$  in preferred temperature resulted in higher breast weight than in broilers with long  $D_{EP-H}$  also raised in the thermal preference. The cooking loss, shear force, pH,  $L^*$  indexes  $a^*$  and  $b^*$  and muscle fiber size of the chicken breast meat were not influenced by  $D_{EP-H}$  and CT, however, the water retention capacity was lower in broiles with short  $D_{EP-H}$  raised at the recommended temperature for the lineage than in broilers with long  $D_{EP-H}$  reared in the same thermal condition and that in chickens with short  $D_{EP-H}$  reared in temperature preference. As regards the quality of the meat of the thigh of broiler with the same  $D_{EP-H}$  reared at different temperatures, there has been increased stiffness and decreased tenderness of the meat of broilers with short  $D_{EP-H}$  when these are raised in preferred temperature. The study data show that length of hatching period

influences with the performance, carcass yield and cuts, and breast meat quality and on-thigh of broilers.

**Keywords:** blood, broiler, heat stress, incubation duration, performance

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **INTRODUÇÃO**

O consumo mundial de carne de aves deve crescer de 13 milhões de toneladas em 2014 para 128 milhões de toneladas em 2022 (OACD/FAO Agricultural Outlook, 2015). No que se refere à avicultura brasileira, seu crescimento nos últimos é o resultado de grandes avanços nas áreas da nutrição, genética, sanidade e manejo, os quais possibilitaram ao Brasil atingir o ranking de segundo produtor e primeiro exportador mundial em 2016.

Para atender ao aumento previsto na demanda mundial por carne de frango, a indústria avícola precisará, entre outras coisas, de estratégias de manejo que maximizem a produção nas diferentes etapas do setor produtivo. Maior homogeneidade nos lotes de pintos produzidos nos incubatórios é um dos fatores que podem contribuir para aumento da produção avícola no final do período de criação.

A heterogeneidade dos lotes de pintos é gerada, entre outras coisas, pelo assincronismo na eclosão. Ele origina uma janela de eclosão, intervalo de tempo entre o primeiro e o último pinto a eclodir, que associada ao intervalo de tempo gasto com sexagem, vacinação, embalagem e transporte, pode deixar os pintos em jejum por até 72 horas até que tenham acesso à água e ração com o alojamento na granja (WILLEMSEM et al., 2008; 2010). Nesse contexto, os primeiros pintos a eclodirem apresentam menor peso corporal no momento do alojamento (PINCHASOV; NOY, 1993; WILLEMSEN et al., 2010; LAMOT et al., 2014) e pior desempenho nas primeiras semanas (BAIÃO et al., 1998b; CAREGHI et al., 2005; GONZALES et al., 2008; van de VEN et al., 2013) do que os que eclodem posteriormente. Quanto maior a amplitude da janela de eclosão mais longo o período de jejum ao qual os primeiros pintos a eclodirem são submetidos. Quanto mais longo o jejum, menor a absorção e o próprio desenvolvimento intestinal (GONZALES et al., 2003; RICCARDI et al., 2011) e, conseqüentemente, mais fracos são os pintos, o que pode aumentar a taxa de mortalidade na primeira semana de vida.

Retirada dos pintos dos nascedouros em diferentes momentos do período de nascimento (janela de eclosão) é uma proposta que evita o efeito do jejum, desde

que os pintos recebam água e ração logo após (BARBOSA et al., 2013). Todavia, esse tipo de manejo, impõe a abertura dos nascedouros várias vezes, o que poder interferir na eclodibilidade dos demais ovos do mesmo nascedouro. Uma segunda proposta tem sido a de acesso direto à água e ração logo após a eclosão, a qual faz com que os primeiros pintos a eclodirem tenham, no encerramento da incubação (finalização do período de nascimento), peso corporal similar ao dos pintos que eclodem mais no final da janela de eclosão (LAMOT et al., 2014). Isso tem levado algumas empresas a desenvolverem nascedouros que possibilitam o acesso rápido dos pintos à água e ração logo após a eclosão, evitando os efeitos do jejum pós-eclosão. O acesso à água e ração já na eclosão, contudo, exige que os incubatórios invistam na adaptação ou troca dos nascedouros.

Embora os efeitos do jejum entre eclosão e alojamento sobre a qualidade, sobrevivência e desempenho dos pintos e estratégias para minimizá-los ou eliminá-los sejam há muito tempo preocupação de produtores e de pesquisadores, faltam dados na literatura sobre que fatores geradores do assincronismo na eclosão e se os mesmos podem ser manipulados ou não para redução da janela de eclosão amplitude que torne os lotes de pintos mais homogêneos quanto à peso corporal e desempenho. Nesse contexto, embora o período de eclosão corresponda ao período em que os pintos iniciam a respiração pulmonar, possibilitada pela expansão dos alvéolos pulmonares resultante pela pressão do ar na câmara de ar dos ovos e pela diferença de pressão entre ar da câmara no interior do ovo e o ar do lado de fora do ovo, faltam dados na literatura que respondam: pintos que demoram mais para eclodir possuem maior potencial cardiovascular, respiratório e metabólico que os que eclodem mais rápido? Há diferenças quanto à qualidade desses pintos? Tais pintos apresentam a mesma preferência térmica pós-eclosão? Eles diferem quanto ao desempenho sob criação a condições termoneutras ou de preferência térmica? E sob estresse por calor? As respostas a tais questionamentos contribuem para a formação de base de dados sobre o assincronismo na eclosão, importante para o estabelecimento de estratégias de manejo que possam minimizar seus efeitos sobre a qualidade e desempenho dos lotes de frangos, maximizando-os. Dessa forma, esses questionamentos serão os temas dos Capítulos da presente Tese.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **Situação atual da avicultura brasileira**

No Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, o setor é representado por produtores integrados, empresas beneficiadoras e empresas exportadoras (UBABEPF, 2016).

De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2016), a participação do agronegócio na balança comercial brasileira em 2015, foi a maior desde o início da série histórica, respondendo por 46,2% de tudo o que é vendido ao exterior sendo que o complexo soja ocupou a primeira posição no ranking, com US\$ 27,9 bilhões e as carnes o segundo lugar nas vendas externas (US\$ 14,7 bilhões), com destaque para a carne de frango, que representou 48% do valor exportado pelo setor de carnes (US\$ 7,07 bilhões e 4,23 milhões de toneladas). Nas exportações, o Brasil mantém, desde 2004, a posição de maior exportador mundial de carne de frango seguido por Estados Unidos e China. Em 2015, a produção avícola brasileira ultrapassou a produção chinesa tornando o Brasil o segundo maior produtor de carne de frango do mundo (USDA, 2015). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016) o consumo per capita de carne de aves no Brasil foi de aproximadamente 43 quilos no ano de 2015, estimando um crescimento de 3 a 5% para o ano de 2016.

A competência desse setor produtivo juntamente com o profissionalismo se traduziu na posição de destaque no cenário avícola internacional e no sucesso do mercado interno dessa atividade, de grande importância para economia brasileira.

### **Janela de eclosão**

A janela de eclosão é definida como intervalo de tempo entre o primeiro e o último pinto a eclodir (MOLENAAR et al., 2010). Segundo Decuypere (2001) e Willemsen et al. (2010) a janela de eclosão varia de 24 a 48 horas. O desenvolvimento de muitas aves precoces demora em torno de 21 dias, sendo o primeiro terço da incubação correspondente ao desenvolvimento embrionário (morfogênese) e os dois últimos ao fetal, durante o qual ocorre crescimento, diferenciação morfofuncional e sexo-específica. Contudo, a eclosão de pintainhos de

corte ocorre dentro de intervalo de tempo que pode variar de 480 a 510 horas, à temperatura de incubação de 37,5-37,8°C e 60% de umidade relativa, considerando-se 21 dias de incubação (VIEIRA; POPHAL, 2000; MORITA et al., 2010).

Fatores como idade da matriz, tempo e temperatura de armazenamento do ovo fértil, temperatura e umidade de incubação, peso do ovo, época do ano e tipo de ave alteram a duração total do período de incubação (WILSON, 1991; MORITA et al., 2009; HALLE; TZSCHENTKE, 2011; WILLEMSSEN et al., 2011) e, conseqüentemente, a janela de eclosão, fator importante na prática de incubação e manejo pós-eclosão, já que determina o tempo de jejum hídrico e alimentar dos pintos entre eclosão e o alojamento.

Pintos submetidos ao jejum hídrico e alimentar entre eclosão e o alojamento podem perder de 5 e 10% de peso, respectivamente, até o início da ingestão de água e ração na granja (BAIÃO; CANÇADO, 1998a; CAREGHI et al., 2005; LAMOT et al., 2014). Nesse contexto, os primeiros pintos a eclodirem apresentam menor peso corporal no momento do alojamento (PINCHASOV; NOY, 1993; WILLEMSSEN et al., 2010; LAMOT et al., 2014) e pior desempenho nas primeiras semanas (BAIÃO et al., 1998b; CAREGHI et al. 2005; GONZALES et al., 2008; van de VEN et al., 2013) do que os que eclodem posteriormente. Quanto maior a amplitude da janela de eclosão mais longo o período de jejum ao qual os primeiros pintos a eclodirem são submetidos. Quanto mais longo o jejum, menor a absorção da gema e o próprio desenvolvimento intestinal (GONZALES et al., 2003; RICCARDI et al., 2011) e, conseqüentemente, mais fracos são os pintos, o que pode aumentar a taxa de mortalidade na primeira semana de vida.

Embora haja uma preocupação grande por parte das empresas (incubatórios) e de alguns pesquisadores em estabelecer novos manejos de incubação que propiciam a redução da janela de eclosão, visando minimizar os efeitos do jejum hídrico e alimentar entre eclosão e alojamento (HALEVY et al., 2000; NICHELMANN et al., 2001; NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003; TZSCHENTKE, 2008; RICCARDI et al., 2010), uma vez que isso influencia a qualidade dos pintos. Quanto maior a amplitude da janela de eclosão maior a heterogeneidade do lote dos pintos ao alojamento e à idade de abate. Dessa forma, diminuir a amplitude da janela de eclosão, ou seja, aumentar o sincronismo na eclosão pode aumentar a

homogeneidade dos lotes e, conseqüentemente, seu desempenho. Apesar disso, faltam dados na literatura referentes à importância do período de eclosão sobre a qualidade das aves na eclosão e durante seu crescimento até a idade de abate.

### **Temperatura de incubação e criação**

A temperatura de incubação é o fator físico mais importante na determinação do bom desenvolvimento embrionário e na maior eclodibilidade dos pintainhos (DECUYPERE; MICHELS; 1992). A temperatura de 37,8°C foi estabelecida como temperatura ótima de incubação para ovos de galinha por Barott, em 1937, por propiciar maior eclodibilidade dos ovos e melhor qualidade da ave recém-eclodida e, desde então, tem sido utilizada nas incubações dos ovos. A exposição do embrião a altas ou baixas temperaturas durante o período de incubação tem diferentes efeitos sobre o seu desenvolvimento, podendo seu mecanismo fisiológico ser afetado em muitos aspectos. Geralmente, as temperaturas elevadas aceleraram o desenvolvimento embrionário, o que reduz o tempo de incubação (KAPLAN et al., 1978), enquanto que temperaturas baixas resulta num efeito oposto (BLACK e BURGGREN, 2004). Além disso, se a temperatura de incubação é muito baixa ou muito alta, a mortalidade embrionária será aumentada, e, por conseguinte, a eclodibilidade será diminuída (DECUYPERE et al., 1979a; SUAREZ et al., 1996). Tzschentke e Nichelmann (1997) verificaram que a preferência térmica dos patos varia com a temperatura de incubação dos ovos. Estes autores verificaram que tais aves apresentam preferência por temperaturas menores na primeira semana de idade, quando provenientes de ovos incubados sob temperaturas abaixo da temperatura termoneutra, e por temperaturas maiores ou acima quando oriundas de ovos incubados à temperaturas acima da usual.

Os frangos suportam mais o calor nas duas semanas iniciais de vida, a partir da qual a resistência diminui no decorrer das semanas, evidenciando que frangos de corte são mais resistentes ao frio do que ao calor (NASCIMENTO et al., 2012, 2014). Segundo Bícego et al. (2007), para que as aves sejam capazes suportar as alterações ambientais, elas utilizam-se de recursos comportamentais e autonômicos de produção, dissipação e armazenamento de calor para manutenção da homeotermia. A utilização desses mecanismos na tentativa de manter a

homeotermia corporal gera gastos energéticos para as aves, comprometendo seu desempenho produtivo, bem-estar e aumentando a incidência de doenças metabólicas (FURLAN; MACARI, 2002). No entanto quando as aves são criadas em temperaturas dentro da sua zona de conforto térmico, a fração de energia metabolizável gasta para termogênese é mínima e a energia líquida de produção é máxima (MACARI et al., 2004).

Embora vários autores (DECUYPERE et al., 1992; LEKSRIOMPONG et al., 2007; YALCIN et al., 2008, MORITA et al., 2010, WILLEMSSEN et al., 2011; ALMEIDA et al., 2015) tenham estudado o efeito da temperatura de incubação sobre a duração do período de incubação e janela de eclosão de frangos de corte, faltam dados na literatura dos efeitos da duração da eclosão sob diferentes temperaturas de incubação sobre a preferência térmica das aves pós-eclosão e dos efeitos de estresse térmico sobre o potencial respiratório, metabólico, de crescimento dos frangos de corte e de seu desempenho e qualidade da carne e fibras frente ou não a condições de estresse calórico.

### **Qualidade dos pintainhos**

Para os incubatórios, não só é importante ter alto nível de eclodibilidade, mas também fornecer pintos de alta qualidade, pois os produtores de frangos de corte estão a procura de pintinhos com um elevado potencial de crescimento, resultando em um maior rendimento no final no período de criação (WILLEMSSEN et al., 2008). Ao longo dos anos, no entanto, diferentes métodos de medição, quantitativos e qualitativos, para avaliar a qualidade dos pintinhos têm sido desenvolvidos. O primeiro método quantitativo para descrever a qualidade do pintinho foi o peso corporal de pintos de 1 dia de idade com o peso de abate (DEEMING, 2000; DECUYPERE et al., 2002). Powell e Bowman (1964) encontraram uma relação positiva, ao passo que Decuypere (1979b), Wolanski et al. (2003), e Tona et al. (2004) não encontraram relação entre estes 2 parâmetros. Tona et al. (2004) encontram uma correlação positiva do peso corporal entre 7, 10 dias de idade e 42 dias de idade. Um segundo método quantitativo de medição para avaliar a qualidade do pintinho foi o seu comprimento. De acordo com Hill (2001), Wolanski et al. (2003), Meijerhof (2006), e Molenaar et al. (2007), o comprimento do pintinho é

positivamente correlacionado com o peso corporal aos 42 dias de idade, com um coeficiente médio de correlação ao longo destes estudos de 0,33. Além disso, Wolanski et al. (2006) concluíram que o comprimento do pintinho além do comprimento da perna dos pintainhos são os melhores indicadores de desempenho de crescimento do que o peso corporal em 1 dia de idade.

Além de métodos quantitativos para avaliar a qualidade dos pintainhos, as medições qualitativas têm sido desenvolvidas (RAGHAVAN, 1999; DEEMING, 2000; BOERJAN, 2002; TONA et al., 2003; DECUYPERE; BRUGGEMAN, 2007). Boerjan (2002) e Tona et al. (2003) desenvolveram um sistema de pontuação com base em diversos parâmetros qualitativos (tais como a aparência, atividade, qualidade da região do umbigo, persistência ou não do cordão umbilical, incorporação total ou não do saco de vitelo dentre outras), para transferir esses parâmetros qualitativos em uma pontuação quantitativa. A pontuação Tona pode ser descrita como um sistema de pontuação que varia entre 0 e 100 pontos com base em uma vasta gama de parâmetros, cada um com uma pontuação. A pontuação divide os pintinhos em grupos de diferentes qualidades, sendo que os autores consideram os de pontuação 100 livre de quaisquer anormalidades e sendo classificados de melhor qualidade (TONA et al., 2003).

### **Constituição do tecido muscular**

O tecido muscular apresenta uma organização característica, que se distingue dos demais tecidos do organismo animal, o músculo estriado esquelético é formado por feixes de células muito longas, multinucleadas e com estrias transversais sendo que a célula muscular, denominada fibra muscular, é delimitada por uma membrana denominada sarcoplasma e no interior de seu citoplasma encontram-se fibrilas paralelas, chamadas de miofibrilas (ABERLE et al., 2001). Nas miofibrilas do músculo estriado encontrasse: a actina, miosina, troponina e tropomiosina sendo as quatro principais proteínas do musculo (ABERLE et al., 2001).

Três tipos de fibras musculares podem ser identificadas em mamíferos e aves de acordo com as suas características metabólicas e contráteis: contração lenta e oxidativa (SO); contração rápida e oxidativa (FOG); e contração rápida e glicolítica

(FG) (BANKS, 1992; ABERLE et al., 2001; SILVA, 2003). As fibras vermelhas ou SO são pequenas, contraem-se mais lentamente, possuem muitas mitocôndrias, possuem mioglobina em abundância e são bem vascularizadas, o que lhes confere a cor vermelha; as fibras brancas ou FOG possuem tamanho médio, com metabolismo energético oxidativo e glicolítico, apresentam pequena quantidade de mioglobina e uma quantidade intermediária de mitocôndrias, altas vascularizações contraem-se mais rapidamente do que as vermelhas e são menos resistentes à fadiga; as fibras brancas ou FG apresentam a característica de serem grandes, com poucas mitocôndrias e mioglobina, baixa atividade enzimática oxidativa e predominante metabolismo energético glicolítico, possuem velocidade de contração mais rápida em relação às fibras vermelhas, devido à pouca vascularização, acumulam facilmente o ácido láctico, o que as torna facilmente fatigáveis (FORREST et al., 1979; BANKS, 1992; ABERLE et al., 2001; SILVA, 2003)

Sams et al. (1990), trabalhando com frangos de 49 dias de idade, estudaram diferentes músculos: Anterior *Latissimus dorsi* (ALD), Posterior *Latissimus dorsi* (PLD), *Pectoralis superficialis* (PS) e *Sartorius* (SAR), concluíram que no músculo ALD,  $99 \pm 0,1\%$  das fibras são do tipo vermelho, no músculo PLD,  $81,5 \pm 1,1\%$  das fibras são do tipo branco e  $16,8 \pm 1,2\%$  do tipo intermediário, no músculo PS,  $99,9 \pm 0,1\%$  são do tipo branco e no músculo SAR,  $31,9 \pm 1,6\%$  são do tipo vermelho,  $53,4 \pm 2,5\%$  são do tipo intermediário e  $14,7 \pm 2,1\%$  são do tipo branca. Nos músculos das pernas de frangos, mostram maiores proporções de fibras intermediárias (FOG) e vermelhas (SO) em relação às fibras brancas (FG), enquanto nos músculos do peito ocorre o inverso e apresentam quase exclusivamente fibras brancas, seguido por reduzido número de fibras intermediárias e ausência de fibras vermelhas (ONO et al., 1993).

De acordo com Dransfield e Sosnicki (1999) o número de fibras musculares está relacionado diretamente com as taxas de crescimento, animais com taxas de crescimento rápido apresentam maiores quantidade de fibra muscular do que linhagens com taxa de crescimento lento. Segundo Sartori et al. (1999) a seleção de aves para maior crescimento está ligada à hipertrofia das células glicolíticas, e que as diferenças genéticas para ganho de peso, devido à alteração na massa muscular, não são caracterizadas por diferenças no número e na proporção dos tipos de fibras

do músculo esquelético e, sim, por menor ou maior grau de hipertrofia das células glicolíticas. Piestun et al. (2009) investigaram a hipertrofia muscular após a manipulação térmica embrionária (39,5°C) durante 3 e 6 horas do 16° a 18° dia de incubação, os autores encontraram aumento do diâmetro das fibras musculares e maior crescimento em ambas manipulações até 35 dias de idade quando comparados com o controle (37,8°C). No entanto Werner et al. (2010) encontraram menor diâmetro nas fibras musculares do peito de frangos manipulados termicamente (38,5°C) do 7° ao 10° dia de incubação, quando comparados com o grupo controle (37,5°C). Ferreira et al. (2015) pesquisaram os efeitos da temperaturas de incubação e da injeções de vitamina C em ovos (tratamentos: 37,5°C, 39°C, 39°C + vitamina C) de frangos criados sob temperaturas; fria, controle: preconizada para a linhagem e quente. De acordo com os autores, a área das fibras FG do músculo peitoral não foi influenciada pela alta temperatura de incubação associada ou não ao AA. No que se refere aos frangos criados sob temperatura quente, alta temperatura de incubação aumentou a maciez da carne causando redução intermediária na área das fibras FOG e FG, enquanto que sua associação ao AA aumentou a suculência da carne diminuindo a área das fibras FOG e FG. E nos frangos oriundos de ovos incubados à temperatura controle (37,5°C) sob temperatura de criação quente tiveram maior crescimento hipertrófico das fibras SO e FOG, bem como de maior crescimento das fibras FG.

### **Transformação do músculo em carne**

Imediatamente após a sangria, no período que abrange as primeiras 24 horas após o abate, acontece uma série de transformações bioquímicas e estruturais no tecido muscular, na conversão do músculo em carne. Neste momento vários fatores podem afetar o processo de *rigor mortis*, refletindo na qualidade final da carne (ABERLE et al., 2001).

O processo de rigor mortis começa imediatamente após o abate do animal, em decorrência da perda sanguínea que interrompe o aporte de oxigênio e nutrientes para os tecidos (ORDÓÑEZ et al., 2005;). Entretanto, a célula muscular permanece com sua atividade, na tentativa de adaptar-se à falta de oxigênio e reduzida reserva energética representada pela taxa de adenosina trifosfato – ATP

(ORDÓÑEZ et al., 2005). Com a interrupção do fornecimento de oxigênio e nutrientes, o glicogênio através da glicólise anaeróbia é a única fonte de ATP disponível que, acaba gerando modificações químicas importantes, como diminuição da taxa de ATP e de glicogênio e o acúmulo de ácido lático, promovendo o decréscimo gradativo do pH (PRATES, 2000; SILVA et al., 1999). A redução do pH é uma das alterações *post-mortem* mais significativas durante o período que abrange a transformação do músculo em carne, em animais recém abatidos o pH fica em torno de 6,9 a 7,2 caindo após a resolução do *rigor mortis* para 5,6 a 5,8 (ABERLE et al., 2001; ALVARADO; SAMS, 2000; SCHNEIDER et al., 2005).

Quando o músculo perde a capacidade de relaxamento, permanecendo em contração entre actina e miosina alcança o processo de *rigor mortis*, ou seja, a transformação do músculo em carne (FORREST et al., 1979). De acordo com Ordóñez et al. (2005), músculos de aves e suínos, que possuem grande quantidade de fibras brancas, ocorre intensa atividade anaeróbica, deste modo a glicólise e a degradação de ATP são mais rápidas, quando comparadas com as fibras vermelhas. O tempo de contração máxima do *rigor mortis* varia de acordo com a espécie animal, nos bovinos, de 6 a 12 horas, nos suínos entre 25 minutos a 3 horas, nos frangos ocorre em menos de 30 minutos, e nos perus em menos de 1 hora (VIEIRA et al, 1999).

### **Qualidade da carne**

A qualidade da carne envolve aspectos de aparência, avaliados pelo consumidor e pelos parâmetros físico-químicos (cor, capacidade de retenção de água, maciez da carne cozida e pH) abrange todas as etapas da cadeia produtiva, desde os primeiros dias de vida da ave, até o preparo da carne in natura, assim como seus produtos (ALVARADO, 2004). Vários fatores afetam a composição da carne tais como, a idade, sexo, nutrição, apanha dos animais, transporte, temperatura ambiente e tempo de jejum antes do abate (VENTURINI et al., 2007).

A utilização de jejum pré-abate é uma prática muito utilizada para melhorar a qualidade da carne e diminuir a contaminação no abatedouro (MENDES, 2000). De acordo Warris et al. (1991) o período de jejum ideal para esvaziar o trato gastrointestinal de frangos é de 4 horas, sendo que períodos maiores têm sido

citados, porém podem levar a redução da qualidade da carcaça (LYON et al., 1991; MENDES, 2000).

A compreensão da relação existente entre a qualidade da carne e do tipo de fibra tem mostrado que o tipo e o aumento do diâmetro das fibras estão relacionados, principalmente, com a maciez da carne (SMITH; FLETCHER, 1988; DRANSFIELD; SOSNICKI, 1999). Por outro lado, os atributos de qualidade da carne e as características das fibras musculares estão associados com a queda do pH post mortem, a capacidade de retenção de água, as propriedades sensoriais, a estrutura protéica e a composição química do músculo (FERRÃO, 2006). Dados de literatura (BERRI et al., 2005; COLLIN et al., 2007) mostram que temperatura elevada de incubação induz aumento no tamanho e proporção de fibras oxidativas dos músculo mistos das pernas, alterando suas características metabólicas e de contração e, conseqüentemente, a qualidade da carne (cor, pH, textura).

## pH

O declínio normal do pH é fundamental para que ocorra o processo de transformação do músculo em carne, o pH do animal vivo oscila entre 7,3 a 7,5 após o abate, o animal não dispõe mais do sistema circulatório e o ácido láctico formado pela glicólise anaeróbica permanece no músculo, diminuindo o pH (VIEIRA et al., 1999; SCHNEIDER et al., 2005), que é reduzido para 5,5 a 5,7 nas primeiras 6-12 horas após o abate; em seguida, esses valores diminuem ligeiramente até as 24 horas *post-mortem*, simultaneamente, a carne se torna macia e succulenta, com odor característico e com sabor ligeiramente ácido (ZEOLA, 2002). A instalação do *rigor mortis* em frangos de corte leva cerca de uma hora; no entanto, a velocidade de queda pode variar entre indivíduos e linhagens (DRANSFIELD; SOSNICKI, 1999).

Em condições anormais de desenvolvimento das reações glicolíticas, quando ocorre pequeno declínio do pH após o sacrifício (o pH permanece relativamente estável com valores maiores ou igual a 6,2), essas condições podem provocar o surgimento de carnes com coloração escura, firmes e com superfície seca denominadas carnes DFD (Dark, Firm, Dry). O escurecimento da carne ocorre em consequência da maior absorção de luz a consistência é observada, porque as fibras estão entumecidas pelo preenchimento de fluidos sarcoplasmáticos; e o

ressecamento aparece porque a água endógena está firmemente ligada às proteínas, não a deixando livre entre as fibras a percepção de que a carne está mais seca, é uma impressão errada, pois na verdade esse tipo de carne tem maior conteúdo de umidade do que o normal (ODA et al., 2003; SCHNEIDER et al., 2005).

No entanto, quando ocorre uma transformação metabólica do glicogênio em ácido láctico muito veloz, o pH diminui rapidamente enquanto a temperatura da carcaça ainda se encontra alta a carne se torna pálida, macia e úmida denominada PSE (Pale, Soft, Exudative), como é conhecida (RATHGEBER et al., 1999; ODA et al., 2004). Segundo Dransfield e Sosnicki (1999) a ocorrência de carne PSE está ligada à queda drástica do pH, com a carcaça ainda com temperaturas elevadas, levando à desnaturação de proteínas. A determinação do pH da carne pode ser feita por meio de eletrodos penetrados diretamente no músculo, onde normalmente são obtidos os dados de pH na hora zero (carcaça quente) e 24 horas *post-mortem* (carcaça fria) (VENTURINI, 2007). Collin et al. (2007) verificaram o efeito de manipulação térmica embrionária (39,5°C) durante 3 horas nos dias 8, 9 e 10 (precoce) e nos dias 16, 17 e 18 (tardio) ou em ambas as fases (precoce e tardio) sobre qualidade da carne de frangos de corte (42 dias). Os autores observaram um crescimento de peito das aves submetidas à manipulação térmica na fase precoce, tardio e em ambas as fases superiores ao das aves submetidas à temperatura de incubação padrão (37,8°C) sem afetar o pH da carne.

## **Cor**

Um importante atributo da qualidade da carne é a sua cor, pois é a característica que mais chama a atenção dos consumidores na escolha da carne antes do preparo e consumo (FLETCHER et al., 2002; LYON et al., 2004). A cor da carne é definida pela concentração dos pigmentos da carne e pela proporção relativa de três formas de mioglobina presentes no músculo, e das propriedades como a da dispersão da luz na carne. As três formas em que a mioglobina pode ser encontrada são: a metamioglobina (mioglobina oxidada) que possui coloração marrom, a desoximioglobina (mioglobina reduzida) de coloração vermelha púrpura e a oximioglobina (mioglobina oxigenada) de coloração vermelha brilhante (PARDI et al., 2001; ODA et al., 2003).

A quantidade de mioglobina nos animais varia com a idade, sexo, espécie, músculo e sua atividade física. Nos frangos de corte ocorre uma diferença no conteúdo de mioglobina do peito, que é mais pálido, quando comparado com a perna e coxa, que são fortemente escuros essas diferenças de conteúdo de mioglobina de músculo a músculo se deve aos diferentes tipos de fibras musculares presentes na carne (PARDI et al., 2001). Os músculos que possuem proporções relativamente altas em torno de 30 a 40% de fibras vermelhas possuem uma coloração vermelha mais escura, como é o caso das pernas e coxas, no entanto, quando se observa histologicamente estas fibras, ricas em mioglobina, observa-se que existe uma mescla com as fibras brancas que são facilmente distinguidas, mas a coloração escura do músculo é somente uma consequência da frequência relativamente alta das fibras vermelhas (FORREST et al., 1979).

Vários métodos são utilizados para verificar a cor da carne sendo o mais utilizado é a avaliação instrumental da cor que utiliza os parâmetros de L\* (luminosidade), a\* (intensidade de verde até vermelho) e b\* (intensidade do azul até amarelo). Segundo Mckee et al. (1998) a cor da carne é considerada normal quando apresenta um valor de L\* menor que 53 e são consideradas pálidas (PSE) quando o valor de L\* for maior que 53. Para os processadores, a carne PSE é inadequada, não somente por causa da cor pálida, mas também pela sua redução do rendimento relacionado ao excesso de gotejamento, ao aumento das perdas por cozimento e a reduzida suculência, (WOELFEL et al., 2002) e redução da vida de prateleira (BARBUT, 2002). Werner et al. (2010) não encontraram diferença na cor (L\*, a\*, b\*) e no pH, da carne de frangos de corte manipulados termicamente durante a embriogênese (38,5°C) do 7° ao 10° dia de incubação, quando comparados com o grupo controle (37,5°C).

### **Maciez**

Os principais fatores que contribuem para a aceitação da carne pelos consumidores são: sabor, maciez, suculência, aparência e odor. De acordo com Chappell, (2001) a maciez é responsável por 40% na aceitação da carne pelo consumidor, a aparência geral por 30%, o odor por 20% e a suculência por 10%.

Sendo a maciez o principal parâmetro de qualidade da carne, observado pelo consumidor (FLETCHER; 2002; GARCIA et al., 2012).

Dentre os fatores que podem influenciar a maciez da carne estão relacionados: sexo; maturidade; genética; promotores de crescimento; acabamento; velocidade de resfriamento; tempo de maturação; pH final e sua taxa de queda (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

A textura da carne pode ser medida de diversas formas, podendo utilizar métodos objetivos e subjetivos. Para a determinação objetiva, os métodos básicos para determinação da dureza seriam a força de compressão, forças de cisalhamento, de tensão, de compressão-cisalhamento, de penetração e de filetado. No método subjetivo, é utilizada a análise sensorial, com provadores treinados e escalas numéricas para pontuação da textura (VOSEY, 1976). A maciez da carne é determinada por dois componentes estruturais: o tecido conjuntivo que envolve a fibra muscular e o músculo e pela miofibrila que é formada de proteínas contráteis encontrada nas fibras musculares, conseqüentemente, as mudanças bioquímicas geralmente determinam a dureza e a maciez da carne (CONTRERAS CASTILLO 2001).

A retenção de água é importante para a maciez da carne, uma vez que a maior parte da água do tecido está situada nas miofibrilas, deste modo ela está relacionada com o aspecto da carne antes do cozimento, durante a cocção e com a palatabilidade (SÁ, 2004). O período de jejum também interfere na textura da carne, já que nas aves que são submetidas ao jejum os valores de glicogênio iniciais são mais baixos, então a glicólise foi mais rápida e o ácido láctico gerou uma redução gradativa no pH (KOTULA; WANG 1994). A presença do ácido láctico entre 3 a 6m moles/100 g não afeta os valores da força de cisalhamento. Por outro lado, quando ocorre uma aceleração da glicólise, aparece um acúmulo de ácido láctico no músculo que provoca uma queda rápida do pH e resulta em uma carne menos macia assim sendo, a carne com pH final mais alto, resulta em uma carne mais macia do que aquela com pH final mais baixo. E o valor da força de cisalhamento comum da carne, com concentração de glicogênio alta é menor do que dos tecidos com baixa concentração de glicogênio (CASTRO, 2006). Segundo Lyon et al. (1985), a força de cisalhamento a  $7,5 \text{ Kgf.g}^{-1}$  é o valor limite para considerar uma carne de peito macia.

Entretanto para Contreras Castillo (2001) o valor considerado deve ser menor que 8 Kgf.g<sup>-1</sup> de força de cisalhamento.

### **Capacidade de retenção de água**

A capacidade de retenção de água (CRA) é definida como a capacidade que a carne tem de reter água durante aplicação de forças, tais como cortes, aquecimento, trituração e prensagem (VENTURINI et al., 2007). Entretanto, durante uma aplicação de qualquer uma dessas forças, há perda de água devido a uma parte da água presente na carne encontrar-se na forma livre (FORREST et al., 1979). A CRA do tecido muscular tem um efeito direto durante o armazenamento, quando os tecidos têm pouca capacidade de retenção de água, a perda de umidade e, conseqüentemente, de peso durante seu armazenamento é grande (VENTURINI et al., 2007).

A água no músculo está localizada principalmente na porção intracelular e entre as miofibrilas (SÁ, 2004), devido à distribuição de seus elétrons, as moléculas de água não são eletricamente neutras, e sim, apresentam regiões eletricamente positivas (H<sup>+</sup>) e outras eletricamente negativas (O<sup>-2</sup>), sendo assim, moléculas polares (BITENCOURT, 2007). Em vista disso, ela pode ligar grupos reativos eletricamente carregados das proteínas musculares (BITENCOURT, 2007). Existem três formas de a água estar presente no músculo: livre, imobilizada e ligada. Do total de água encontrada no músculo, 4 a 5% apresentam-se como água ligada, ou seja, permanece fortemente unida, inclusive quando uma força intensa é aplicada ao músculo, água de imobilização (8-10%), atraída nas camadas posteriores à camada de água de ligação e, com o aumento da distância do grupo reativo das proteínas, torna-se sucessivamente mais fraca, sendo removida por processos de desidratação e a água livre, que é mais fracamente ligada, apenas pela força de superfície, mantendo-se presa por forças capilares; sua orientação molecular independe do número de cargas reativas e constitui-se o meio onde se processam as reações bioquímicas, permitindo o desenvolvimento de microrganismos e é facilmente removível da carne (FORREST et al., 1979; PRICE; SCHWEIGERt, 1994; SÁ, 2004).

A capacidade de retenção de água após o abate depende da fase *post-mortem* em que se encontra o músculo, em geral na fase de pré-rigidez a CRA é

elevada, no *rigor-mortis* é reduzida e no pós-rigor se eleva novamente (CASTRO, 2006). No músculo intacto, a redução da CRA nas primeiras horas *post-mortem* é determinada pela velocidade de queda do pH e não pela concentração de ATP (HAMM; THOMSON, 1983; MENDES, 2001). Para as aves CRT é importante pelas influências no rendimento do músculo cru e nos atributos sensoriais do produto cozido. A perda por gotejamento que ocorre na ave fresca pode ser água que foi absorvida durante a imersão no resfriador (“chiller”) ou água da célula muscular, se a perda por gotejamento no músculo *post-mortem* for exagerada, isto acaba influenciando nas características sensoriais da mesma maneira que a perda de água dos músculos congelados e descongelados (LESIK et al., 1996).

### **Perda de peso por cocção**

A perda por cocção (perda de umidade no cozimento) é outro atributo de qualidade, frequentemente utilizado como forma de avaliar a CRA, além disso reflete diretamente a qualidade final e o rendimento de um produto cárneo cozido (SCHNEIDER et al., 2005). A perda de peso por cozimento corresponde à água perdida durante a cocção, interferindo na cor, suculência e textura da carne (GARCIA et al., 2012).

A cocção é um processo que compreende todas as trocas químicas, físico-químicas e estruturais dos componentes dos alimentos provocados intencionalmente por efeito do calor (ROSA et al., 2006). Esse processo desagrega as estruturas alimentares, melhorando a palatabilidade e a digestibilidade (TSCHEUSCHNER, 2001). Na cocção, o aquecimento é resultado do aporte de energia ao sistema, decorrente da transferência de calor (GIRARD, 1991). Nos diferentes métodos de cozimento, as formas de transferência de calor, a duração do processo, a temperatura, e o meio de cocção são alguns dos fatores responsáveis pelas mudanças químicas e físicas que podem alterar o valor nutricional dos alimentos (GARCIA-ARIAS et al., 2003).

Ferreira et al. (2015) investigaram os efeitos das temperaturas de incubação e as injeções de vitamina C em ovos (tratamentos: 37,5°C, 39°C, 39°C + vitamina C) de frangos criados sob temperaturas; fria, controle: preconizada para a linhagem e quente. De acordo com os autores, a alta temperatura de incubação diminuiu a força

de cisalhamento e associada vitamina C diminuiu a perda por cocção, tornando a carne da sobrecoxa de frangos criados sob temperatura quente mais macia. No entanto, no que se refere a qualidade da carne do peito a alta temperatura de incubação não alterou a perda por cocção, o pH e a luminosidade, mas aumentou a força de cisalhamento e diminuiu o índice  $a^*$ , tornando a carne mais dura e menos avermelhada. Loyau et al. (2014) não encontraram diferença na perdas por cocção, pH e ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), na carne de frangos de corte expostos à manipulação térmica (12h/39,5°C) a partir de 7 a 16 dias da embriogênese, em relação ao grupo controle (37,5°C).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA - **Associação Brasileira de Proteína Animal** (2016) Disponível em: < <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/a-avicultura-brasileira> > Acessado em; 5 de Janeiro de 2016.

ABERLE, E. D.; FORREEST, J. C.; GERRARD, D. E.; EDWAR, W. M. **Principles of meat science**. 4.ed. Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company, 2001, 354p.

ALMEIDA, V. R.; MORITA, V. S.; SGAVIOLI, S.; VICENTINI, T. I.; CASTIBLANCO, D. M. C.; and BOLELI, I. C. Incubation temperature manipulation during fetal development reduces adiposity of broiler hatchlings. **Poultry Science**. First published online November 2, 2015. doi:10.3382/ps/pev327

ALVARADO, C. Z.; SAMS, A. R. Rigor mortis development in turkey breast muscle and the effect of electrical stunning. **Poultry Science**. v. 79, p. 1694-1698, 2000.

ALVARADO H. M. B. **Aplicação de um sistema de classificação de carcaças e cortes e efeito do tempo pós abate na qualidade da carne de frango criados no sistema alternativo**. Piracicaba, 2004. 82p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p.

BITENCOURT, F. P. **Desempenho e qualidade de carcaça e carne de frangos criados em sistema alternativo**. Lavras, 2007. 239p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

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

BOERJAN, M. Programs for single stage incubation and chick quality. **Avian and Poultry Biology Reviews Journal**. v. 13, p. 237–238, 2002.

BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V. Efeito do intervalo entre o nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho dos frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 50, n. 2, p. 191-194, 1998a.

BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V.; LÚCIO, C. G. Efeito do período de incubação e do intervalo entre o nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho do frango. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 329-335, 1998b.

BARBOSA, V. M.; ROCHA, J. S. R.; BATISTA, J. V. M. S. P.; CARDEAL, P. C.; COSTA, B. V.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C. Efeito do manejo de retirada dos pintos no nascedouro sobre as relações entre peso do pinto, peso do ovo, fígado e saco vitelino. **In: Conferência Facta 2013, 2013, Campinas. Anais da Conferência Facta 2013. Campinas: FACTA, 2013.**

BAROTT, H. G. Effects of temperature, humidity, and other factors on hatch of hen's eggs and on energy metabolism of chicks embryo. **US Department of Agriculture Technical Bulletin**. v. 553, p. 13-45, 1937.

BARBUT, S. Meat color and flavour. **In: Poultry products processing: an industry guide**. Boca Raton: CRC press, cap.13, p. 447-453. 2002.

BERRI, C., DEBUT, M.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; ARNOULD, C.; BOUTTEN, B.; SELLIER, N.; BAÉZA, E.; JEHL, N.; JÉGO, Y.; DUCLOS, M. J.; BIHAN-DUVAL, E. Variations in chicken breast meat quality: Implications of struggle and muscle glycogen content at death. **Brazilian Poultry Science**. v. 46, p. 572–579, 2005.

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

CAREGHI C.; TONA K.; ONAGBESAN O.; BUYSE J.; DECUYPERE E.; BRUGGEMAN V. The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. **Poultry Science**. v. 84, p. 1314-1320. 2005.

CASTRO, J. B. J. **Efeito do jejum alimentar na qualidade da carne de frangos de corte criados em sistema convencional** (dissertação). Piracicaba (SP): Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2006.

CHAPPELL, G. The importance of marbling in the domestic market – what does it mean for consumer? In: MARBLING SYMPOSIUM, 2001, Austrália. **Proceedings...** Australia: Coffs Harbour Ed., 2001. p. 30-38

COLLIN, A.; BERRI, C.; TESSERAUD, S.; REQUENA RODÓN, F. E.; SKIBACASSY, S.; CROCHET, S.; DUCLOS, M. J.; RIDEAU, N.; TONA, K.; BUYSE, J.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E.; PICARD, M.; YAHAV, S. Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens. **Poultry Science**. v. 86, p. 795-800, 2007.

CONTRERAS CASTILLO, C. J. Rigor Mortis e maturação na carne de frango. **Avicultura Industrial**. Itu, n. 1086, p. 38, 2001.

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A. A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**. v. 78, n. 5, p. 743-746, May 1999.

DEEMING, D. C. What is chick quality? **World Poultry**. v. 11, p. 34–35. 2000

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

DECUYPERE, E. Effect of incubation temperature patterns on morphological, physiological and reproduction criteria in Rhode Island Red birds. **Agricultura**. v. 27, p. 216–230, 1979b.

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

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

DECUYPERE, E.; TONA, K.; BAMELIS, F.; CAREGHI, C.; KEMPS, B.; KETELAERE, B.; BAERDEMAKER, J.; and BRUGGEMAN, V. Broiler breeders and egg factors interacting with incubation conditions for optimal hatchability and chick quality. **Archiv fur Geflugelkunde**. v. 66, p. 56–57. 2002.

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

DRANSFIELD, E.; SOSNICKI, A. A. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. **Poultry Science**. Savoy, v. 78, n. 5, p. 743-746, 1999.

FERRÃO, S. P. B. **Características morfométricas, sensoriais e qualitativas da carne de cordeiros**. 2006. 175 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, I.B.; MATOS JUNIOR, J. B.; SGAVIOLI, S.; VICENTINI, T. I.; MORITA, V. S.; BOLELI, I. C. Vitamin C prevents the effects of high rearing temperatures on the quality of broiler thigh meat. **Poultry Science**. May; v. 94, n. 5, p. 841-51, 2015.

FORREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HEDRICK, H. B.; JUDGE, M. D.; MERKEL, R. A. **Fundamentos de ciência de la carne**. Zaragoza: Acribia, 1979. 364 p.

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

FURLAN, R. L.; e MACARI, M. Termorregulação. In: Macari, M; Furlan, L. R. and Gonzales, E. (Ed.) *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 209-230.

GARCIA, R. G.; SANTOS, V. M. O.; CALDARA, F. R.; PAZ, I. C. L. A.; NÄÄS, I. A.; SIMM, S.; BORILLE, R.; ROYER, A. F. B. Qualidade de filés de peito de frango de corte marinados e maturados. **Revista Agrarian**. v. 5, n. 16, p. 166-173, 2012.

GARCIA-ARIAS, M. T.; PONTES, E. A.; GARCIA-LINHARES, M. C.; FERNANDEZ, M. C. G.; SANCHEZ-MUNIZ, F. J. Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets: effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. **Food Chemistry**. Great Britain, v. 83, n. 3, p. 349-356, 2003.

GONZALES, E.; KONDO, N.; SALDANHA, E. S.; LODDY, M. M.; CAREGhi, C.; DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**. v. 82, p. 1250-1256, 2003.

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

GIRARD, J. P. **Tecnología de la carne y los productos cárnicos**. Zaragoza: Acribia, 1991. 300 p.

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

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

HAMM, R.; THOMSON, J. E. Adapting hot stripping techniques to existing poultry processing facilities. **Poultry Science**. v. 62, p. 1349, 1983.

HILL, D. Chick length uniformity profiles as a field measurement of chick quality? **Avian and Poultry Biology Reviews**. p.12:188, 2001.

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

KOTULA, K.L.; WANG, Y. Characterization of broiler meat quality factors as influenced by feed withdrawal time. **Journal Applied Poultry Research**. v. 3, p. 103-110, 1994.

LAMOT, D. M. I. B.; van de LINDE.; MOLENAAR, R.; van DER Pol, C. W.; WIJTEN, P. J. A.; KEMP, B.; and van den Brand, H. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poultry Science**. v. 93 n. 10, p. 2604-2614 first published online July 28, 2014 doi:10.3382/ps.2014-04123. October 2014.

LYON, C. E.; HAMM, D.; THOMSON, J. E. pH and tenderness of broiler breast meat deboned various times after chilling. **Poultry Science**. v. 64, n. 2, p. 307-310, 1985.

LYON, C. E.; PAPA, C. M.; WILSON, JR. R. L. Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. **Poultry Science**. v. 70, p. 1020-1025, 1991.

LYON, B. G.; MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P. Effects of diet and feed withdrawal on the sensory descriptive and instrumental profiles of broiler breast fillets. **Poultry Science**. v. 83, n. 2, p. 275-281, 2004.

LESIAK, M. T.; OLSON, D. G.; LESIAK, C. A.; AHN, D. U. Effects of postmortem temperature and time on the water holding capacity of hor-boned turkey breast and thigh muscle. **Meat Science**. v. 43, n. 1, p. 51-60, 1996.

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

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; MAIORKA A. Aspectos fisiológicos e de manejo para manutenção da homeostase térmica e controle de síndromes metabólicas. **In: MENDES AA, NÄÄS IA, MACARI M. (Eds.) Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.137-155.**

MAPA - **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br> >. Acessado em; 19 de dezembro de 2015.

MCKEE, S. R.; HARGIS, B. M.; SAMS, A. R. Pale, soft, and exudative meat in turkeys treated with succinylcholine. **Poultry Science**. v. 77, p. 356-360, 1998.

MEIJERHOF, R. Chick size matters. **World Poultry**. v. 22, p. 30–31, 2006.

MENDES, A. A. Rendimento e qualidade da carcaça de frangos de corte. **In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola, 2001, Campinas. Anais... Campinas: APINCO, 2001; v. 79, n. 99. p. 67-80.**

MOLENAAR, R.; REIJERINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R.; and van den Brand, H. Relationship between chick length and chick weight at hatch and slaughter weight and breast meat yield in broilers. Proc. 3rd Combined Workshop on Fundamental **Physiology and Perinatal Development in Poultry**. Berlin, Germany. 2007.

MOLENAAR R.; REIJERINK I. A. M.; MEIJERHOF R.; VAN DEN BRAND H. 2010. Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: **Brazilian Journal of Poultry Science**. v. 12, p. 137–148.

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

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

NASCIMENTO, S. T.; SILVA, I. J. O.; MOURÃO, G. B.; CASTRO, A. C. Bands of respiratory rate and cloacal temperature for different broiler chicken strains. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 41, p. 318–324, 2012.

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

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

NICHELMANN, M.; and TZSCHENTKE, B. Efficiency of thermoregulatory control elements in precocial embryos. **Avian Biology Research**. v. 14, p. 1–19, 2003. doi:10.3184/147020603783727030

ODA, S. H. I.; SCHNEIDER, J.; SOARES, A. L.; BARBOSA, D. M. L.; IDA, E. I.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Detecção de cor em filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, v. 321, p. 30-34, nov 2003.

ONO, Y.; IWAMOTO, H; TAKAHARA, H. The relationship between muscle growth and the growth of different fiber types in the chicken. **Poultry Science**. v. 72, p. 548-576, 1993.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L.; CORTECERO, M. D. S. **Alimentos de Origen Animal**. Porto Alegre – RS: Artmed. v. 2, p. 279, 2005,.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. v. 1, Editora UFG, Goiânia, 2001. 624p.

POWELL, H. C.; and J. C. BOWMAN. An estimate of maternal effects in early growth characteristics and their effects upon comparative tests of chicken varieties. **Brazilian Poultry Science**. v. 5, p. 121–132, 1964.

PIESTUN, Y.; HALEVY, O.; and YAHAV, S. Thermal manipulations of broiler embryos-The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. **Poultry Science**. v. 88, p. 2677–2688, 2009. doi:10.3382/ps.2009-00231

PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **Brazilian Poultry Science**. v. 34, p. 11-120, 1993.

PRATES, J. M. M. Maturação da carne dos mamíferos: 1. caracterização geral e modificações físicas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 95, n. 533, p. 34-41, 2000.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la Carne y de los Productos Carnicos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 581p.

RAGHAVAN, V. Give day old chicks the best start. **World's Poultry Science Journal**. v. 15, p. 28–29, 1999.

RATHGEBER, B. M.; BOLES, J. A.; SHAND, P. J. Rapid postmortem pH decline and delayed chilling reduce quality of turkey breast meat. **Poultry Science**. v. 78, p. 477-484, 1999.

ROSA, F. C.; BRESSAN, M. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J.; VIEIRA, J. O. e, FARIA, P. B.; and SAVIAN, T. V. Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras , v. 30, n. 4, p. 707-714, Aug. 2006.

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

SÁ, E.M.F. A influência da água nas propriedades da carne. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, v. 325, p. 26-32, mar 2004.

SAMS, A. R.; JANKY, D. M.; WOODWARD, S. A. Comparison of two shearing methods for objective tenderness evaluation and two sampling times physical-characteristic analyses of early-harvested broiler breast meat. **Poultry Science**. v. 69, n. 2, p. 348-353, 1990.

SARTORI, R. R.; GONZALES, E.; DALL PAI, V.; OLIVEIRA, H. N.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Tipos de fibras do músculo flexor longo do hálux de frangos de corte machos de diferentes linhagens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 1, n. 3, p. 181-185, set./dez. 1999.

SCHNEIDER, J. P.; ODA, S. H. I.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Carne DFD em frangos. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, v. 337, p. 26-32, mar. 2005.

SILVA, J. A.; PATARATA, L.; MARTINS, C. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. **Meat Science**. v. 52, n. 4, p. 453-459, 1999.

SILVA, T. J. P. Ciência da Carne – Apostila. Universidade Federal Fluminense. Faculdade de Veterinária. **Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal**. Niterói, 2003. 70p.

SMITH, D. P.; FLETCHER, D. L. Chicken breast muscle fiber type and diameter as influenced by age and intramuscular location. **Poultry Science**. v. 67, p. 908-913, 1988.

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

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

TONA, K.; ONAGBESAN, O.; KETELAERE, B.; DECUYPERE, E.; and BRUGGEMAN, V. Effects of age of broiler breeders on egg quality, hatchability, chick quality chick weight and chick post-hatch growth to 24 days. **The Journal of Applied Poultry Research**. v. 13, p. 10–18, 2004.

TSCHEUSCHNER, H. D. **Fundamentos de tecnologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 746p.

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

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

UBABEPF - **União Brasileira de Avicultura** Disponível em: < <http://www.brazilianchicken.com.br/> > Acessado em; 5 de Janeiro de 2016.

USDA - **United States Department of Agriculture**. Disponível em: < [www.usda.gov](http://www.usda.gov) > Acessado em 16 de janeiro 2016.

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

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características da Carne de Frango. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. **Boletim Técnico - PIE-UFES**: 01307, 2007. 7p.

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

VIEIRA, S. L. **Considerações sobre as características de qualidade de carne de frango e fatores que podem afetá-la**. Porto Alegre, 1999. Disponível em: <<http://www.sbz.org.br>>. Acessado em 15 dezembro 2015

VOSEY, P. Engineering onessment and critique of instruments used for meat tenderness evaluation. **Journal Texture Science**. v. 7, n. 1, p. 11- 48, Mar. 1976.

WARRIS, P. D.; BEVAN, E. A.; BROWN, S. N. Time spent by broiler chickens in transit to processing plants. **Veterinary Record**. v. 127, p. 617-619, 1991.

WERNER C, WECKE, C.; LIEBERT, F.; WICKE, M. Increasing the incubation temperature between embryonic day 7 and 10 has no influence on the growth and slaughter characteristics as well as meat quality of broilers. **Animal**. May; v. 4 n. 5, p. 810-6, 2010 .

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

WILLEMSSEN, H.; DEBONNE, M.; SWENNEN, Q.; EVERAERT, N.; CAREGHI, C.; HAN, H.; BRUGGEMAN, V.; TONA, K.; and DECUYPERE, E. Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. **World's Poultry Science Journal**. v. 66, p. 177-188, 2010.

WILLEMSSEN, H.; LI.; WILLEMS, Y.; FRANSSENS, E.; WANG, Y.; and DECUYPERE, E. Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late

incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. **Poultry Science**. v. 90, p. 1302-1312, 2011.

WILSON H. R. Physiological requirements of the developing embryo: temperature and turning. **In**. Avian incubation, SG Tullett. Butterworth-Heinemann; 1991. p.145-156.

WOELFEL, R. L.; SENDRA, E.; CAPELLAS, M.; GUAMIS, B. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. **Poultry Science**. v. 81, p. 579-584. 2002.

WOLANSKI, N. J.; LUITEN, E. J.; MEIJERHOF, R.; and VEREIJKEN, A. L. J. Yolk utilisation and chick length as parameters for embryo development. **Avian and Poultry Biology Reviews**. v. 15, p. 233–234, 2003.

WOLANSKI, N. J.; RENEMA, R. A.; ROBINSON, F. E.; CARNEY, V. L.; and FANCHER, B. I. Relationship between chick conformation and quality measures with early growth traits in males of eight selected pure or commercial broiler breeder strains. **Poultry Science**. v. 85, p. 1490–1497, 2006.

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

ZEOLA, N. M. B. L. Conceitos e parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da carne ovina. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, v. 26, n. 304, p. 36-56, jun. 2002.

## CHAPTER 2 – HATCHING DURATION INFLUENCES THE BROILER HATCHLING QUALITY

**ABSTRACT** – The current research investigated whether short and long hatching period (between external pipping and actual hatching), under standard and high incubation temperature, influences broiler chick hatchability and quality, and if so, whether such effects could be correlated with eggshell temperature, internal and external pipping time, hatching duration as well as with eggshell weight, conductance and thickness, and chick blood characteristics. For this, male chicks with short (6-10 h) and long (20-26 h) hatching period was obtained from fertile eggs of 56 week old broiler breeders (Cobb®-500), which were incubated at 37.5°C or 39°C from day 13 until hatching. The hatching period duration and the incubation temperature did not interact, except for plasma iCa concentration. Eggshell temperature did not differ between chicks with short and long hatching duration, and it was higher at incubation temperature of 39°C than 37.5°C. Chick with short hatching period presented higher body and yolk-sac weights, same hatchability, shorter incubation period and lower incidence rate of physical abnormalities than those chicks with long hatching period, as well as realized earlier the internal and external pipping times, and had lower time interval between pippings. They did not differ of the chicks with long hatching period in the eggshell characteristics, blood pH, lipid profile and MCV, Hct and MCH values, as well as in the gases, electrolytes, bases and protein concentrations; however, they had lower blood RBC counts and Hb concentration and MCHC. Egg incubation at 39°C did not alter the chick hatchability and body weight, and reduced the incubation length and increased the yolk-sac weight and the incidence of physical abnormalities in the chicks. This temperature not affected the blood variables, except the Hct and MCH, whose values increased, and the plasma iCa concentration which was reduced in the chicks with long hatching period. In conclusion, hatching window spread was determined by hatching period duration when egg incubation occur at 37.5°C and by the developmental period until internal pipping when incubation occurred at 39°C. Chick with short hatching period presented better quality than chicks with long hatching period. High incubation temperature did not influenced the body weight and hatchability and reduced the incubation duration; however, it reduced the incubation success by increasing the incidence of physical anomalies in the chicks.

**Key words:** blood, broiler, chick quality, hatching duration, incubation temperature

## INTRODUCTION

Recent forecasts indicate growth outlook for poultry production of 115 million tons between 2014 and 2022 (OACD / FAO Agricultural Outlook, 2015). To achieve and sustain this projected growth, the poultry industry needs to develop management strategies that contribute to maximizing production in all sectors of the production chain, including chick production. High chick quality and uniformity is crucial to improve broiler survival and performance in the farms.

Hatching assynchronism results in chick production with distinct body weights (Reis et al., 1997), qualities (Tona et al., 2003a, van de Ven et al., 2011) and early growth (Careghi et al., 2005; Lamot et al., 2014). In addition, due to chick management practices employed in the hatcheries, assynchronic hatching exposes chicks to distinct fasting periods before free access to water and feed in the farms (Noy and Uni, 2010; Willemsen et al., 2010). Although early hatched chicks present higher body weight, their exposure to longer fasting periods than the late hatched chicks increase their weight loss until housing as well as the risk of early death (Hamdy et al., 1991; Gonzales et al., 2003), thereby worsening their growth (Reis et al., 1997; Careghi et al., 2005; Decuypere et al., 2001; Sklan et al., 2000). Hence, a more synchronic broiler chick hatching can be an important strategy to improve broiler production since a shorter hatch window may increase the uniformity and quality of chick batches in the hatcheries as well as the chick survival and performance in the farms. However, the factors determining assynchronic hatching remain unknown.

There are evidences suggesting that the period between internal and external pipping and external pipping and the actual hatching might be an important factor determining the hatching window spread and, consequently, chick hatchability, weight and quality along it. The hatching process begins in the last days of egg incubation, when blood O<sub>2</sub> deficit and CO<sub>2</sub> saturation induce the internal and external pipping and the breaking of the eggshell as mandatory strategies to prevent embryonic death (Khandoker et al., 2003; Tona et al., 2003b; Mortola, 2009; Willensen, 2013). Thus, O<sub>2</sub> pressure (PO<sub>2</sub>) and CO<sub>2</sub> pressure (PCO<sub>2</sub>) inside the egg air chamber determine the duration of the period between internal and external pipping, which shortens with the increase in the speed of PO<sub>2</sub> reduction and PCO<sub>2</sub> rise inside the egg air chamber (Tona et al., 2003b). At the same time, the chick needs to spend more energy to accomplish the external pipping and breaking of the eggshell (Christensen et al., 2001, 2003 a, b; Willemsen, 2011a), both of which involve an increase in gas exchange. In a previous

study, we showed that females hatched earlier than males had a shorter period between internal and external pipping, thicker eggshell, lower red blood cells (RBC) counts and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), all of which are indicative of lower blood potential for gas transport (Vicentini et al., submitted).

Other clues suggest that temperature may also underly the mechanisms involved in assynchronic hatching. Incubation temperature determines embryo development quality and speed, thereby influencing the incubation duration (Decuypere and Michels, 1992, Black and Burggren, 2004; Kaplan et al., 1978; Wilson, 1991; Morita et al., 2009; Halle and Tzschentke, 2011; Willemsen et al., 2011b). Studies on the effect of high temperature incubation on hatching window are warranted in the light of reports showing high incubation temperature as an inducer of thermotolerance in broilers, which is indispensable for their survival and growth under heat exposure during the rearing period (Yahav et al., 2004a, b; Piestun et al., 2008, 2011; Almeida et al., 2015).

Hence, the present study investigated whether hatching duration (between external pipping and the emergence from the eggshell) and incubation temperature affect the quality and the hatchability of broiler chicks; and if so, whether these effects could be related to the duration of the incubation phases or to the characteristics of the eggshell and blood.

## **MATERIALS AND METHODS**

The experimental protocol of this study was conducted in accordance and approved by the Ethics Committee in the Animal Use (CEUA, Protocol N<sup>o</sup>. 022383/12, 08/11/2012), of the Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences, São Paulo State University – UNESP, Jaboticabal, Brazil.

### ***Experimental Design***

In this study, the experimental arrangement followed a factorial 2x2, being two incubation temperatures from the 13<sup>th</sup> day (37.5 and 39°C) and two hatching period duration (between external pipping and actual hatching) (short: 6-10 hours, long: 20-26 hours). For this, 904 fertile eggs of 56 weeks old broiler breeders (Cobb-500, fast feathering) were obtained from a commercial hatchery (Globo Aves, Itirapina-SP). They were individually weighted, numbered and homogeneously distributed by the weights (65-70g) in 8 incubators

(Premium Ecológica IP120, Belo Horizonte, MG, Brazil) (113 eggs/incubator) with automatic control of temperature and egg turning (every 2 hours until the 18<sup>th</sup> day). From day 1 to 12 of incubation, all incubators were maintained at 37.5°C. From day 13, four incubators had their temperature raised to 39°C, while the other four incubators were maintained at 37.5°C. RH inside the incubators was 60% during whole incubation period (504 hours) to avoid its effect on the growth and survival *in ovo*. Incubation temperature (IT) change from the 13<sup>o</sup> day it was based on the results of McNabb and Olsen (1996), according to which the hypothalamus-pituitary-thyroid axis is already established around this age. At hatching, male chicks with short and long hatching period obtained of eggs incubation at standard and high temperatures were analyzed as eggshell and air incubator temperatures, eggshell characteristics (thickness, conductance and weight), egg weight loss and duration of the incubation phases, as well as body weight, quality and blood characteristics, as described below. For this, from day 18 of incubation, all eggs were individually monitored every 30 min by direct observation, to record the external pipping and actual hatching times and to determinate the time period between them. The establishment of the short and long hatching duration as 6-10h and 20-26h, respectively, was based in prior study, and in order to compare chicks with fast or slow emergence of the eggshell after external pipping. All variables were related only to male chicks.

#### ***Incubator air and eggshell temperatures***

Incubator air (IAT) and eggshell (EST) temperatures were recorded at every 30 min by mini-thermocouple type T (copper-constant, Alutal; Sao Paulo, Brazil) from day 1 to 18 of incubation, and data stored in dataloggers connected to a computer for further analysis. Thermistors were fixed in the center of each incubator (1 per incubator thermistors, 4 incubators/incubation temperature) and the equatorial region of the eggs (5 eggs/incubator). Daily average AIT and EST until day 18 of incubation, average AIT and EST as well as the difference between both (EST-IAT) were determined for periods before and after the incubator temperature change (1<sup>st</sup> to 12<sup>nd</sup> day and 13<sup>rd</sup> to 18<sup>th</sup> day of incubation, respectively). The EST for male chicks with short and long hatching period obtained of egg incubation at 37.5°C was determined from 5 and 7 eggs, respectively, while that of egg incubation at 39°C it was determined based in temperatures of 3 and 5 eggs, respectively. The number of eggs whose EST was analyzed differed among treatments since it is not possible to

determine the sex and duration of the hatching period before the chick emerge from the eggshell.

#### ***Duration of the incubation phases***

From day 18 of incubation, all eggs were individually monitored at every hour to record the internal and external pipping times and actual hatching time (IPT, EPT and HT, respectively), as well as to calculate the time interval between the internal and external pipping (IP-EP) and between internal pipping and the emergence from the eggshell (IP-H), all expressed in hours. To determine the IPT, the eggs were observed under ovoscopy. The results presented were obtained from 40 eggs/hatching period duration/incubation temperature.

#### ***Egg weight loss and eggshell conductance and characteristics at the end of incubation***

The egg weight loss (g) corresponded to difference between egg weight before incubation and at day 18 of incubation (N = 15 eggs/hatching period duration /incubation temperature). Water vapour conductance of the eggshell was calculated according to Tullett (1981), by the formula:  $C = WL/PSV$ , where C = conductance, WL = egg weight loss until day 18 of incubation (g), VPS= vapour pressure saturation equal to 23.86 mm/Hg at 25°C. Eggshell weight and thickness at the end of incubation (after hatching) were obtained after removing the inner and outer membranes and cuticle, performed following the method of Rahn et al. (1981): eggshell fragments (15 eggs/hatching period duration-/incubation temperature) were maintained in boiling aqueous solution of 0.5% NaOH for 5 minutes, washed in distilled water and kept at room temperature for 72 hours for drying and subsequent analysis. The eggshell weight was calculated as percentage relative to the egg weight just before incubation. The eggshell thickness was measured in fragments taken from the apical (end opposite the one containing the air chamber), equatorial and basal (end where is located the air chamber) regions of the egg, using a digital micrometer (Mitutoyo - resolution 0.001 mm).

### ***Hatchability and mortality***

The average total hatchability as well as the average total mortality during experimental period (13-21 days), were calculated from each incubation temperature replicate (4 incubators/incubation temperature) as percentage in relation to the total fertile eggs incubated. Besides, the average hatchability of chicks with short and long hatching period was established as percentage in relation to total fertile eggs incubated for each incubation temperature replicate (4 incubators/incubation temperature).

### ***Chick quality at hatching***

Immediately after hatching, the quality of all hatched male chicks with short and long hatching period (48 birds/hatching period duration/incubation temperature and 12 birds/hatching period duration/incubator) was determined using methodology adapted of Tona et al. (2003a), which involves avaluation by direct observation and pontuation of their physical characteristics (presence of dirt and humidity in the feathers; persistency or not and length of the alantoic cord; color, closing and cleaning the umbilical region; eye brightness and opening, chicks standing with or without difficulty, and knee joints with inflammation and/or redness; yolk-sac incorporation degree into the abdominal cavity) and activity (time in dorsal decubitus) (Table 1). The total points received by a chick, that maximum is 100, determined its quality ranking: very bad (0-20 points), bad (21-40 points), regular (41-60 points), good (61-80 points), very good (81-99 points) and excellent (100 points) quality. Maximum score or excellent quality mean that the chicks had no physical problem and were active. The overall percentages of chicks in each quality class and malformation type were calculated for each treatment.

### ***Body and yolk-sac weights, and body temperature at hatching***

Body temperature was estimated by chick rectal temperature (Lin et al., 2005), inserting a digital thermometer (MedeQCO, Geschwenda, Germany, with an accuracy of  $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ) through the cloaca about 3 cm. To not influence the effects of incubation treatments, all procedures were performed within acrylic climatic chambers (80 x 80 x 80 cm, with automatic temperature control), whose air temperature was maintained close to the incubation

temperature treatments, and in a period not more than a 3-4 minutes. After quality examination, chicks were weighted and killed by cervical dislocation to remove and weight their yolk-sac (12 chicks/hatching period duration/incubation temperature; 3 chicks/hatching period duration/incubator). Chick body weight with and without yolk-sac was expressed in grams (g) and percentage (%) relative to the egg weight before incubation. The yolk-sac weight was expressed in grams (g) and percentage (%) relative to relative to the egg weight with yolk-sac.

### ***Blood variables***

Blood samples for counting the red blood cells (RBC, number of cells/mm<sup>3</sup>) and determining of the total cholesterol, triglycerides, uric acid (mg/dl) and total protein (g/dl) concentrations were obtained by puncture from jugular vein without anticoagulant of 12 chicks/hatching period duration/incubation temperature (3 birds/incubator/incubation temperature). To not influence the effects of incubation treatments, for blood samples collection the chicks were maintained within acrylic climatic chambers (80 x 80 x 80 cm, with automatic temperature control), whose air temperature was maintained close to the incubation temperature treatments, and in a period not more than a 3-4 minutes. The RBC counts were performed in Neubauer chamber immediately after collection, using blood samples diluted (1:800) in stained solution of Natt and Henrick (1952). For the lipid profile, the blood samples were kept in "Eppendorf" vials for 1h at room temperature and then centrifuged at 3,500 G and 4°C for 10 min. Following centrifugation, serum was collected, placed in plastic vials, frozen and kept in a freezer at -70°C until the further analysis. The determination of the total cholesterol, triglycerides, uric acid, urea and total protein concentrations were performed using commercial kits (Labtest Diagnóstica S.A, Belo Horizonte, MG). All samples were prepared and analyzed according to manufacturer's specifications, being realized three readings/bird/treatment in spectrophotometer (Beckman Coulter, DU-800, Brea, Califórnia, EUA) using  $\lambda = 500\text{nm}$ . For determination of the venous values of hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), hydrogen potential (pH), partial pressure of carbon dioxide (PvCO<sub>2</sub>), partial pressure of oxygen (PvO<sub>2</sub>), carbon dioxide tension (TvCO<sub>2</sub>), oxygen saturation rate (SvO<sub>2</sub>), base excess (BE<sub>efc</sub>), bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), cations (Ca<sup>++</sup>, K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>) and glucose (GLU), blood samples were collected of additional 12 birds/treatment (3 birds/incubator/incubation temperature). They were also obtained by puncture from jugular vein using a heparinized

syringe and analyzed immediately after collecting, using a portable clinical analyzer (i-STAT<sup>®</sup>Co. - Abbott Laboratories - USA, CG8<sup>+</sup><sup>®</sup> cartridge, Windsor, New Jersey, USA). The values of mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobina concentration (MCHC) were calculated by the formula:  $MCV=(Hct/RBC) \times 10$ ;  $MCH= (Hb/RBC) \times 10$  and  $MCHC=(Hb/Hct) \times 100$ .

### ***Statistical Analyses***

The total hatchability and embryo mortality during the experimental period (13-21 days of incubation) were firstly analyzed as to effects of incubation temperature (37.5 and 39°C), considering each incubator a replicate (4 incubator/incubation temperature). Also hatchability and all other variables were analyzed for the effects of hatching period between external pipping and the emergence from the eggshell (HP, short: 6-10h and long: 20-26h) and incubation temperature from day 1 (IT: 37.5 and 39°C) and the interaction between both (HP x IT), according to the experimental model:  $Y_{ijk} = \mu + HP_i + IT_j + (HP \times IT)_{ij} + e_{ijk}$ . All data were submitted to analysis of variance ANOVA using the GLM procedure of SAS (SAS Institute, 2002), and statistical significance was set at  $P \leq 0.05$ . In case of significant interactions, the Tukey test was applied for comparison among means.

## **RESULTS**

### ***Profile of incubator air and eggshell temperatures throughout incubation***

Figure 1 shows the profile of the AIT and EST throughout egg incubation at 37.5 and 39°C according to the hatching period between external pipping and emergence from the eggshell. Regardless of the hatching period duration, EST increased from the 11<sup>th</sup> day of incubation, reaching a plateau around the 14<sup>th</sup> day. The average AIT before the incubation temperature change (from 1<sup>st</sup> to 12<sup>th</sup> day of incubation) was  $37.6 \pm 0.61^\circ\text{C}$ , while the EST was  $36.65 \pm 0.14^\circ\text{C}$  and  $36.67 \pm 0.18^\circ\text{C}$  for chicks with short and long hatching period, respectively, which did not differ significantly from each other ( $P = 0.8324$ ). In the experimental period, during the temperature plateau (from day 14), the average AIT was higher for incubation at 39°C than at 37.5°C ( $38.95 \pm 0.08^\circ\text{C}$  and  $37.36 \pm 0.11^\circ\text{C}$ , respectively) ( $P < 0.0001$ ). For EST, there was no significant effect of the hatching period duration ( $P = 0.6949$ ; short:  $37.5 \pm 0.19^\circ\text{C}$ ; long:  $37.5 \pm 0.12^\circ\text{C}$ ) nor interaction between

hatching period duration and incubation temperature ( $P = 0.4682$ ). However, an effect of temperature was observed since it was higher in eggs incubated at 39°C than at 37.5°C ( $37.47 \pm 0.15$  °C and  $38.96 \pm 0.17$  °C, respectively) ( $P = 0.3700$ ).

Analysis of the EST-IAT in the first 12 days of incubation showed that the average EST was approximately 0.5°C lower than the average IAT for chicks with short and long hatching period, independent of the incubation temperature. During the temperature plateau (from day 14), the EST was 0.4°C higher than the IAT for both hatching periods, under incubation at standard temperature, but almost identical when incubation occurred at a high temperature (0.1 and 0.0°C, respectively).

***Duration of incubation, internal and external pipping times, and time interval between and external pipping according to the hatching period duration and incubation temperature***

As shown in Table 2, there was no significant interaction between hatching period duration and incubation temperature for incubation length, internal and external pipping times, and the time interval between internal and external pipping. However, the incubation duration was lower for chicks with short than with long hatching period and for chicks derived from eggs incubated at 39°C than at 37.5°C. The IPT was lower for chicks of eggs incubated at 39°C than at 37.5°C. The EPT was higher for chicks with short than with long hatching period and for those chicks from eggs incubated at 37.5 °C than at 39°C. Time interval between internal and external pipping was higher in chicks with short hatching period ( $P \leq 0.05$ ).

***Egg weight loss and eggshell conductance, relative weight and thickness according to hatching period duration and incubation temperatures***

The egg weight loss and the eggshell conductance, in the basal region did not differ between the hatching periods and incubation temperatures, nor was a significant interaction found between these factors ( $P > 0.05$ ). However, the eggshell thickness in the apical and equatorial regions were affected by incubation temperatures, both regions being thinner ( $P \leq 0.05$ ) for eggs incubated at 39°C than at 37.5°C (Table 3).

### ***Hatchability and mortality***

Temperature did not affect the total hatchability [37.5°C:  $83.08 \pm 5.92\%$  and 39°C:  $77.12 \pm 5.7\%$ , respectively,  $P = 0.2774$ , CV (%) = 7.26] and embryo mortality during the experimental period (from 13 to 21 days of age) [37.5°C:  $10.41 \pm 7.21\%$  and 39°C:  $20.11 \pm 5.04\%$ ,  $P = 0.1286$ , CV(%) = 40.76]. Hatchability was not influenced by the hatching period duration between external pipping and emergence from the eggshell ( $P = 0.6340$ ) and the incubation temperature ( $P = 0.0696$ ), and no significant interaction was found between these factors ( $P = 0.9349$ ). The hatchability of chicks with short and long hatching periods obtained from egg incubation at 37.5°C was  $22.93 \pm 8.88\%$ , and  $21.30 \pm 8.24\%$  and at 39°C was  $25.35 \pm 8.86\%$  and at 39°C of  $18.88 \pm 6.86\%$ , respectively.

### ***Chick quality at hatching***

There was no significant difference in the average total score of chicks quality between the hatching periods ( $P = 0.3192$ ) and incubation temperatures ( $P = 0.9052$ ), and no significant interaction was found between these two factors ( $P = 0.5741$ ). In all treatments, the average quality total score received by the birds ranged from 94.5 to 99.00, with chicks of all treatments classified as presenting very good quality (Figure 2). However, a qualitative analysis showed production of chicks with very good and excellent quality in all treatments, independent of incubation temperature and hatching period duration. When egg incubation was at 37.5°C, 83.33% of the chicks with short hatching period presented excellent quality and 16.67% were classified as of very good quality, whereas 50% of the chicks with long hatching period were considered excellent and 50% of very good quality. Under egg incubation at 39°C, 33.33% of the chicks with short and long hatching period were graded as of excellent quality, whereas other chicks (66.67% for short and long  $D_{EP-H}$ ) classified as of very good quality. In addition, birds from all treatments did not show problems with feathering, eyes and legs. They did present problems with the closing of umbilical region. However, while chicks from all treatments present problems with the closing of umbilical region, those derived from short hatching period at 37.5°C had the lowest occurrence (16.66%) and those from long hatching period at 39°C the highest (66.66%). The rate of chicks showing problems with the closing of umbilical region was 33.33%, for all the other treatments. The persistence of allantoic cord was not registered in chicks with short hatching

period of eggs incubated at 37.5°C, but occurred in chicks with long hatching period of incubation at the same temperature (33.33%) and the chicks with short and long hatching periods from incubation at 39°C (50% and 25%, respectively).

***Body and yolk-sac weights, and body temperature at hatching***

Table 4 presents the results of body and yolk-sac weights and rectal temperatures. No interaction between hatching period duration and incubation temperature was found for these variables. However, body weights, with and without yolk-sac, were influenced ( $P \leq 0.05$ ) by hatching period duration being higher in chicks with short than with long hatching period. Yolk-sac weights were influenced only by incubation temperature, being higher ( $P \leq 0.05$ ) in chicks of eggs incubated at 39°C than at 37.5°C. Rectal temperature was not affected by the treatments ( $P > 0.05$ ).

***Blood characteristics***

Erithrogram of the male chicks is presented in Table 5. No significant interaction between hatching period duration and incubation temperature was reported for the red blood cell (RBC) variables. However, the hatching period duration influenced RBC counts, and the values of Hb and MCHC, which were higher in chicks with long than with short hatching periods ( $P \leq 0.05$ ). The incubation temperature influenced the Hct and MHC, both of which were higher in chicks of egg incubation at 39°C than at 37.5°C ( $P \leq 0.05$ ). There was a marginal effect of incubation temperature on MCV ( $P \leq 0.07$ ), indicating higher MCV for chicks of egg incubation at 39°C.

As shown in Table 6, there was no significant effect of the hatching period duration and incubation temperature, nor significant interaction between these factors on pH, PvCO<sub>2</sub>, PvO<sub>2</sub>, TvCO<sub>2</sub>, SvO<sub>2</sub>, BEecf and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ( $P > 0.05$ ).

According to Table 7, the blood concentrations of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and glucose were not affected by the hatching period duration and incubation temperature and no significant interaction between these two factors occurred for these biochemical variables. However, in the case of Ca<sup>++</sup> concentration, there were significant effects of the hatching period duration and incubation temperature and interaction between these factors ( $P \leq 0.05$ ). Chicks with long hatching period of egg incubation at 39°C had higher Ca<sup>++</sup> concentration than chicks from the other treatments (Figure 3).

Furthermore, blood concentrations of total cholesterol, urea, uric acid, triglycerides and total protein were not significantly affected by hatching period duration and incubation temperatures and no interaction between these two factors was verified for these variables ( $P > 0.05$ ) (Table 8).

## DISCUSSION

This study examined the effects of short and long period between external pipping and the emergence from the eggshell, under standard (37.5°C) and high (39°C) incubation temperatures during fetal phase (from day 13), on broiler hatchling quality and hatchability. We also examined the relationship between these effects with the internal and external pipping times, time interval between pippings and incubation duration, the eggshell temperatures, conductance and thickness as well as with the chick blood characteristics. The results show no interaction between the hatching period duration and the incubation temperature for the analyzed variables, except for the concentration of  $\text{Ca}^{++}$  ions in the blood.

Our results indicate that birds with short hatching period presented higher body weight, with or without yolk-sac, compared to chicks with long hatching period, even though they had the same yolk-sac weight. These results are very interesting because they show better feed conversion of egg in the body mass of chicks with short hatching period, which might lead to lower energy expenditure, since these chicks broke the eggshell in a shorter time period. If we consider body weight at hatching a quantitative criteria to evaluate chick quality (Decuypere and Bruggeman, 2007), then our findings indicate that chicks with short hatching period were of better quality than those with long period. This perception is reinforced by the expressively high percentage of these chicks presenting excellent quality i.e. without physical anomalies and active. Using a classification system that scores physical characteristics and activity (Tona et al., 2003), we found that the average scores obtained from both groups were similar and within the good quality class. However, 83.34% and 33.33% of the chicks with short and long hatching periods were rated of excellent quality, respectively. Thus, 50% more chicks with short than long hatching period presented no physical problems and active. Additionally, chicks with shorter hatching period did not present persistency of the alantoic cord and incomplete yolk-sac incorporation while showing lower incidence of problems with the umbilical region than the chicks with long period. These malformation results demonstrate, once again, the better quality of these shorter hatching period chicks. To produce

broilers with excellent quality, among other things, the yolk-sac incorporation within the abdominal cavity should be completed from internal pipping to hatching (Nangsuay et al., 2011; Sahan et al., 2014). The duration of the development period until the internal pipping were similar between chicks with short and long hatching periods; however, the latter presented longer time interval from internal pipping until the emergence from the eggshell. Although this represents more time for yolk-sac incorporation for the chicks with long hatching period, they also showed higher incidence of incomplete yolk-sac incorporation compared to chicks with short hatching period. This malformation probably caused the increased incidence of problems with closure of the umbilical region and retention of the allantoic cord. The reason why chicks that had longer period of time for yolk-sac incorporation failed to do so still needs to be investigated. The development in ovo corresponds to 33.33% of the time required to produce a broiler slaughtered at day 42 of age. Thus, in a practical view, the better quality of the chicks with shorter hatching period is also demonstrated by their shorter incubation length compared to chicks with long hatching period, specially if demand for one-day-old broiler chicks is high in the hatchery. These results show that earlier hatched chicks are of better quality than late hatched chicks, in agreement with previous studies (Reis et al., 1997; Tona et al., 2003a; van de Ven et al., 2011).

Herein we show that chicks with short period between external pipping and the emergence from the eggshell also had long period between the internal and external pipping and vice-versa. Moreover, chicks with short and long hatching period had no difference in the duration of the embryo development until the internal pipping time. These findings are of particular importance since they show the period after internal pipping as determining the hatch window spread and not the embryony development period. During the period between internal and external pipping, chicks utilize  $O_2$  of the egg air chamber and eliminate  $CO_2$  into it, thereby leading to an imbalance between the availability of  $O_2$  in the chamber and the chick demand for  $O_2$  in favor of the latter (Khandoker et al., 2003; Tona et al., 2003b; Willensen, 2013). These events expose chicks to temporary hypoxic and hypercapnic or anoxic situations, if the eggshell is not perforated (external pipping). Therefore,  $PO_2$  and  $PCO_2$  within the egg air chamber determine the duration of the period between internal and external pipping, which is shorter when  $PCO_2$  increases and the decrease in  $PO_2$  occurs faster (Tona et al., 2003b). Thus, the short time interval between internal and external pipping shown by the

chicks with long hatching period suggests that these birds were subjected to O<sub>2</sub> deficit and CO<sub>2</sub> saturation in the egg air chamber more rapidly than chicks with short hatching period. Increase in Hct and Hb values with or without hyperactivity erythropoietic, has been reported as physiological hemorespiratory adaptation to hypoxia (Winckler and Anderson, 2000; Vogt et al., 2001; Basset et al., 2006). This leads us to interpret the high RBC, Hb and MCHC values found in chicks with long hatching period as hematological adjustments to improve their ability to transport O<sub>2</sub> to the tissues, thereby suggesting they had a shorter time interval between the internal and external pipping probably because they were exposed more quickly to a hypoxic situation. However, no difference in the blood gas concentrations, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and pH was observed between the chicks with short and long hatching periods, indicating absence of respiratory alkalosis, which points to a recovery after external pipping or maintenance of blood acid-base balance by these birds.

It is known that, in situations of low availability of O<sub>2</sub> (Bjønnes et al., 1987), lipid metabolism decreases and increases glycogen metabolism (Bell and Freeman, 1971). This change in energy metabolism occurs in the last days of incubation, during the transition period from alantoic to pulmonary respiration, which requires the chicks to change from aerobic to anaerobic metabolism because of O<sub>2</sub> limitation. In addition, external pipping and the breaking of eggshell involve active movements that require muscle strength and energy expenditure (Christensen et al., 2001; Willemsen, 2011a), which also result in increased metabolism and use of liver glycogen (Christensen et al., 2003 a, b). Although about 90% or more of the energy used during the development in ovo comes from the yolk lipid oxidation (Noble and Cocchi, 1990), the use of glucose as a fuel oxidation is more efficient in energy production and O<sub>2</sub> consumption, since fatty acid oxidation uses more O<sub>2</sub> than glucose oxidation (Somero and Suarez, 2005). The literature data presented so far suggest that chicks that take longer to drill and break the eggshell must have spent most of glucose and increased their demand for O<sub>2</sub>. The higher O<sub>2</sub> demand was demonstrated by the hematological adaptations showed by these birds (high values of RBC counts, Hb and MCHC). However, we did not detect significant differences in blood concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, urea, uric acid and protein between chicks with short and long period to suggest metabolic changes, what may indicate metabolic reestablishment.

Regarding to incubation temperature, chicks of egg incubation at 39°C presented similar body weight and heavier residual yolk-sac than chicks of egg incubated at 37.5°C,

indicating better egg conversion to organic tissue under incubation at high temperature. These results are consistent with the results obtained by Morita et al. (2010) and Willemssen et al. (2011), who reported no effect of high incubation temperatures on the body weight of chicks at hatching. However, they differ from results of other authors (Yahav et al., 2004a, b; Collin et al., 2005; Willemssen et al., 2010; Boleli and Queiroz, 2013), who found decreased body weight under egg incubation at 39°C. We also show that hatchability was not affected by high incubation temperature. This result differs from the results of other authors reporting worsening (Lourens et al., 2005, 2007; Molenaar et al., 2010, 2011; Ipek et al., 2014) or improvement in hatchability (Almeida et al., 2015; Morita et al., approved); however, it is in agreement with others finding no effect of the high incubation temperature (Piestun et al., 2008; Willemssen et al., 2011b; Loyau et al., 2013). The lack of hatchability alterations reinforces our previous findings showing the importance of the incubator air temperature to be the same as the EST (Almeida et al., 2015). The contrast between our results and those of others authors may be related to differences in the period, intensity and duration of the changes in the incubation temperature used. In the last decade, the importance of the EST for the success of the incubation has been introduced. In this study, the EST during the temperature plateau was 1.5 °C higher under incubation at 39°C than at 37.5 °C. Although this may be interpreted as overheating, as shown, chick hatchability and body weight were not affected by high incubation temperature. According to the thermodynamic law, the lower and higher EST relative to AIT must cause heat gain and loss from the eggshell to the air incubator, respectively. In agreement with Almeida et al. (2015), we found little or almost no difference between the eggshell and the incubator air temperatures, for both incubation temperatures. Thus, we believe that the best conversion of egg in body weight under high incubation temperatures results from the faster embryo development demonstrated by the earlier internal pipping time, as well as a low or absent occurrence of energy loss as heat.

High chick quality and hatchability are critical to incubation success. Besides, shorter incubation period becomes important in situations of high demand for one-day-old chicks. In this context, the absence of influence of high incubation temperature on body weight and hatchability, together with the shorter incubation, may encourage the poultry industry to change the incubation temperature from 37.5°C to 39°C. However, chick quality is also an important criterion for the poultry industry because it influences the post-hatch chick survival and growth. Even though the quality score analysis (Tona et al., 2003a) ranked chicks of eggs

incubated at 37.5 and 39°C as of very good quality, birds ranked as of excellent quality were much less frequent when incubation occurred at 39°C than at 37.5°C (38% and 77%, respectively). Moreover, chicks of egg incubated at 39°C presented problems with the closing of the umbilical region and persistence of the allantoic cord, whereas those derived from eggs incubated at 37.5°C also presented incomplete incorporation of the chicks with yolk-sac. Thus, unlike the body weight, hatchability and incubation duration, the effect on chick quality discourages the proposed change in the incubation temperature. Previous studies also reported problems with the umbilical closure and retention of allantoic cord in chicks from eggs incubated continuously or intermittently to 39°C from the 7<sup>th</sup> to 16<sup>th</sup> day (Piestun et al., 2008, 2009, 2015).

High temperature reduced the incubation period, anticipating the IPT without changes in the time interval between internal and external pipping, ie, it accelerated fetal development, supporting previous studies (Decuyper, 1984; Janke et al., 2002; Nakage et al., 2003; Yahav et al., 2004a, b; Tzschentke and Halle, 2009; Molenaar et al., 2011). Faster embryo development increases metabolism, thereby leading to greater heat production and gas exchange (Lourens et al., 2007). Although egg mass loss and water vapor conductance are associated with embryo metabolism and development *in ovo* (Peebles et al., 2005), the high incubation temperature did not alter these variables, indicating differences in the gas exchange profile between chicks derived from eggs incubated at 39 and at 37.5°C. Gas exchange between the egg and the incubator air through the shell depends directly on the number, area and length of the pores (Hulet et al., 2007). Thus, the thinner shell registered for eggs incubated at 39°C in the present study may have contributed to meet the fetal demand for gas exchange, thereby maintaining the hatchability found at 37.5°C.

Our data shows that chicks from eggs incubated at 39°C had earlier internal and external pipping times but no differences in the interval lengths between these pippings when compared to chicks derived from eggs incubated at 37.5°C. Thus, the duration of the embryo plus fetal development period, but not the hatching period duration, determines the hatch window spread. We suggest that the fastest fetal development under high incubation temperature probably causes O<sub>2</sub> deficit and CO<sub>2</sub> saturation quicker inside the air chamber eggs, thereby generating the need for chicks to perform the internal and external pipping earlier, which did not occur. It is likely that the smaller eggshell thickness at the incubation temperature of 39°C provided greater diffusion of gases to meet the increased demand for gas

exchange. According to our results, high incubation temperature did not alter the pH and concentrations of  $\text{HCO}_3^-$ , BEecf,  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  in the blood although it rised the values of Hct and MHC, as a result from an increased MCV ( $P \leq 0.07$ ). Although incubation at high temperature does not disturb the blood acid-base balance, the chicks responded adaptively with erythrocytic changes that increased their respiratory potential. These changes were probably induced by the  $\text{O}_2$  deficit caused by the faster fetal development portrayed by the lower internal and external pipping times and incubation duration. These effects on blood erythrocyte indices differ from those obtained by Morita et al. (2010), who reported no changes in RBC, Hb, MCV, and Hct values in chicks of eggs incubated at  $39^\circ\text{C}$ . This is possibly because these authors incubated the eggs at  $39^\circ\text{C}$  throughout the incubation period, whereas we changed the temperature from  $37.5$  to  $39^\circ\text{C}$  from day 13 of incubation.

It is known blood glucose and  $\text{Na}^+$  concentrations are stress indicators (Barton et al., 2002), the same occurring with plasma  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$ . Indeed, birds exposed to high temperature decrease  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  (Borges et al., 2002) and increase  $\text{Cl}^-$  (Belay and Teeter, 1993) plasma concentrations. Increased blood  $\text{Cl}^-$  concentration depresses kidney excretion of  $\text{H}^+$  and  $\text{HCO}_3^-$  reabsorption thus contributing to blood acidification, an expected response to alkalosis. Consequently, changes in the homeostasis of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$  affect cellular functions (Borges et al. 2003; Mushtaq et al., 2005). In this study, the plasma concentrations of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{HCO}_3^-$ , the pH and the  $\text{PvCO}_2$  were not altered by high incubation temperature, suggesting that respiratory alkalosis did not occur. High incubation temperature, however, increased blood concentration of iCa of chicks with long hatching period, probably as a result of increased absorption of calcium from eggshells that were thinner at the end of incubation. Plasma metabolites are products of intermediary metabolism and reflect the physiological state of the newly hatched birds: glucose and lactic acid concentrations are carbohydrate metabolism indicators (Freeman, 1965, 1969), whereas uric acid (Artacho et al., 2007) and urea concentrations are indicators of protein catabolism. As aforementioned,  $\text{O}_2$  limitation during the transition period between alantoic and lung breathing in the last days of life *in ovo* reduces lipid metabolism and increases glucose metabolism (Bell and Freeman, 1971; Bjønnes et al., 1987). Aerobic metabolism to anaerobic change can also be induced by high temperature incubation, due to the reduction in the yolk-sac absorption (Wineland and Christensen, 2001). However, although the use of yolk-sac was lower under incubation at high temperature, we did not detect changes in blood concentrations of glucose, total

cholesterol, urea, uric acid, triglycerides and plasma protein in chicks derived from this treatment. These results indicate that chicks from high incubation temperature can keep stable values of blood metabolites or have their values quickly restored after emergence from the eggshell.

## **CONCLUSION**

The results show that the while hatching period duration determines the hatch window under incubation at standard temperature, the embryo plus fetal period until internal pipping is the determining factor when eggs are incubated at 39°C. From a practical point of view, chicks with short hatching period presented better quality because they are heavier, have lower incidence of malformations and hatch earlier than chicks with long hatching period. Although high incubation temperature did not affect the body weight and hatchability, it reduced the duration of incubation and increased the incidence of physical anomalies, thereby reducing the success of the incubation. In both cases, the effects were associated with blood and eggshell characteristics.

## REFERENCES

- Artacho, P., M. Soto-Gamboa, C. Verdugo, and R. F. Nespolo. 2007. Blood biochemistry reveals malnutrition in black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. *Comp. Biochem. Physiol.* 146:283–290. doi:10.1016/j.cbpa.2006.10.031
- Barott, H. G. Effects of temperature, humidity, and other factors on hatch of hen's eggs and on energy metabolism of chicks embryo. 1937. U.S. Dep. Agric. Tech. Bull. 553:13–45.
- Barton, B. A., J. D. Morgan, and M. M. Vijayan. 2002. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish, p. 111–148. In: Adams, S. M. ed. *Biological indicators of aquatic ecosystem health*. American Fisheries Society, Bethesda.
- Belay, T., and R. G. Teeter. 1993. Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure. *Poult. Sci.* 72:116–124. doi:10.3382/ps.0720116
- Bell, D. J., and B. M. Freeman. 1971. *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. Academic Press Inc., London, UK.
- Black, J. L., and W. W. Burggren. 2004. Acclimation to hypothermic incubation in developing chicken embryos (*Gallus domesticus*): I. Developmental effects and chronic and acute metabolic adjustments. *J. Exp. Biol.* 207:1543–1552. doi:10.1242/jeb.00909
- Bjønnnes, P. O., A. Aulie, and M. Hoiby. 1987. Effects of hypoxia on the metabolism of embryos and chicks of domestic fowl. *J. Exp. Zool. Suppl.* 1:209–212.
- Boleli, I. C., and S. A. Queiroz. 2012. Effects of incubation temperature and relative humidity on embryonic development in eggs of Red-Winged Tinamou (*Rhynchotus rufescens*). *Int. J. Poult. Sci.* 11:517–523. doi:10.3923/ijps.2012.517.523

- Borges A. S., A. Maiorka, A. C. Laurentiz, A. V. S. Fischer, E. Santin, and J. Ariki. 2012. Electrolytic balance in broiler chicks during the first week of age. *Braz. J. Poult. Sci.* 4:149–153. doi:dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2002000200008
- Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and k. R. Cummings. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens under moderately high ambient temperatures and relative humidities. *Poult. Sci.* 82:301–308. doi:10.1093/ps/82.2.301
- Collin, A., M. Picard, and S. Yahav. 2005. The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick embryogenesis on body weight and body temperature of post-hatched chicks. *Anim. Res.* 54:105–111. doi:10.1051/animres:2005004
- Christensen, V. L., M. J. Wineland, G. M. Fasenko, and E. Donaldson. 2001. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. *Poult. Sci.* 80:1729–1735. doi:10.1093/ps/80.12.1729
- Christensen, V. L., J. L. Grimes, M. J. Wineland, and G.S. Davis. 2003a. Accelerating embryonic growth during incubation following prolonged egg storage. 1. Embryonic livability. *Poult. Sci.* 82:1863–1868. doi:10.1093/ps/82.12.1863
- Christensen, V. L., J. L. Grimes, M. J. Wineland, and G. S. Davis. 2003b. Accelerating embryonic growth during incubation following prolonged egg storage. 2. Embryonic growth and metabolism. *Poult. Sci.* 82:1869–1878. doi:10.1093/ps/82.12.1869
- Decuypere, E., E. J. Nouwen, E. R. Kühn, R. Geers, and H. Michels. 1979. Differences in serum iodohormone concentration between chick embryos with and without the bill in the air chamber at different incubation temperatures. *Gen. Comp. Endocrinol.* 37:264–267. doi:10.1016/0016-6480(79)90115-1
- Decuypere, E. 1984. Incubation temperature in relation to postnatal performance in chickens. *Arch. Exp. Vet. Med.* 38:439–449.

- Decuypere, E., and H. Michels. 1992. Incubation temperature as a management tool: a review. *Worlds. Poult. Sci. J.* 48:28–38. doi:10.1079/WPS19920004
- FAO/Food and Agriculture Organization of the United Nations 2015. Publishing, Paris. Accessed July. 2015. <http://www.fao.org/docrep/005/y4252e/y4252e07.htm>
- Freeman, B. M. 1965. The importance of glycogen at the termination of the embryonic existence of *Gallus domesticus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 14:217–222. doi:10.1016/0010-406X(65)90197-0
- Freeman, B. M. 1969. The mobilization of hepatic glycogen in *Gallus domesticus* at the end of incubation. *Comp. Biochem. Physiol.* 28:1169–1176. doi:10.1016/0010-406X(69)90557-X
- Halevy, O., A. Geyra, M. Barak, Z. Uni, and D. Sklan. 2000. Early post-hatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *J. Nutr.* 130:858–864.
- Halle, I., and Tzschentk, B. 2011. Influence of temperature manipulation during the last 4 days of incubation on hatching results, post-hatching performance and adaptability to warm growing conditions in broiler chickens. *J. Poult. Sci.* 48:97–105.
- Hulet, R., G. Gladys, D. Hill, R. Meijerhof, and T. El-Shiekh. 2007. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on post-hatch growth performance and carcass characteristics. *Poult. Sci.* 86:408-412. doi:10.1093/ps/86.2.408
- Janke, O., B. Tzschentke, J. HöcheL, and M. Nichelmann. 2002. Metabolic responses of chicken and Muscovy duck embryos to high incubation temperatures. *Comp. Biochem. Physiol.* 131:741–750. doi:10.1016/S1095-6433(02)00012-0
- Lamot, D. M., I. B. van de Lin de, R. Molenaar, C. W. van der Pol, P. J. A. Wijtten, B. Kemp, and H. van den Brand. 2014. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. *Poult. Sci.* 93:2604–2614. doi:10,3382 / ps.2014-04123

- Lin, H., H. F. Zhang, H. C. Jiao, T. Zhao, S. J. Sui, X. H. Gu, Z. Y. Zhang, J. Buyse, and E. Decuyper. 2005. Thermoregulation responses of broiler chickens to humidity at different ambient temperatures. I. One week of age. *Poult. Sci.* 84:1166–1172. doi:10.1093/ps/84.8.1173
- Lourens, A., H. van den Brand, M. J. W. Heetkamp, R. Meijerhof, and B. Kemp. 2007. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. *Poult. Sci.* 86:2194–2199. doi:10.1093/ps/86.10.2194
- Kaplan, S., G. L. Kolesari, and J. P. Bahr, 1978. Temperature dynamics of the fertile chicken egg. *Am. J. Physiol.* 234:183–187.
- Khandoker, A. H., E. M. Dzialowski, W. W. Burggren, and H. Tazawa. 2003. Cardiac rhythms of late pre-pipped and pipped chick embryos exposed to altered oxygen environments. *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* 136:289–299. doi:10.1016/S1095-6433(03)00171-5
- Molenaar, R., R. Hulet, R. Meijerhof, C. M. Maatjens, B. Kemp, and H. van den Brand. 2011. High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens. *Poult. Sci.* 90:624–632. doi:10.3382/ps.2010-00970
- Morita, V. S., I. C. Boleli, and A. Cargnelutti Filho. 2009. Hematological values and body, heart and liver weights in male and female broiler embryos taken from eggs of young and old breeders. *Braz. J. Poult. Sci.* 11:19–27. doi:dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2009000100002
- Morita, V. S., I. C. Boleli, and J. A. Oliveira. 2010. Hematological and incubation parameters of chicks from young breeders eggs: variation with sex and incubation temperature. *Int. J. Poult. Sci.* 9:606–612. doi:10.3923/ijps.2010.606.612

- Mortola, J.P. 2009. Gas exchange in avian embryos and hatchlings. *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* 153:359–377. doi:10.1016/j.cbpa.2009.02.041
- McNabb, A., and J. M. Olsen. 1996. Development of thermoregulation and its hormonal control in precocial and altricial birds. *Poult. Avian Biol. Res.* 7:111–125.
- Noble, R. C., and M. Cocchi. 1990. Lipid metabolism and the neonatal chicken. *Prog. Lipid Res.* 29:107–140. doi:10.1016/0163-7827(90)90014-C
- Mushtaq, T., M. Sarwar, H. Nawaz, M. A. Mirza, and T. Ahmad. 2005. Effect and interactions of dietary sodium and chloride on broiler starter performance (hatching to twenty-eight days of age) under subtropical summer conditions. *Poult. Sci.* 84:1716–1722. doi: 10.1093/ps/84.11.1716.
- Nangsuay, A., Y. Ruangpanit, R. Meijerhof, and S. Attamangkune. 2011. Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens *Poult. Sci.* 90:2648–2655. doi:10.3382/ps.2011-01415
- Natt, M. P., and C. A. Herrick. 1952. A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poult. Sci.* 31:735–738. doi: 10.3382/ps.0310735
- Nakage, E S., J. P. Cardozo, G. T. Pereira, S. A. Queiroz, and I. C. Boleli. 2003. Effect of temperature on incubation period, embryonic mortality, hatch rate, egg water loss and partridge chick weight (*Rhynchotus rufescens*). *Braz. J. Poult. Sci.* 5:1–5. doi:dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2003000200007
- Nichelmann, M., O. Janke, and B. Tzschentke. 2001. Efficiency of thermoregulation in precocial avian species during the prenatal period. *J. Therm. Biol.* 26:273–280. doi:10.1016/S0306-4565(01)00030-4
- Nichelmann, M., and Tzschentke, B. 2003. Efficiency of thermoregulatory control elements in precocial embryos. *Avian Biol Res.* 14:1–19. doi:10.3184/147020603783727030

- OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations 2015. OECD–FAO Agricultural Outlook 2015. OECD Publishing, Paris. Accessed July. 2015. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en). doi: 10.1787/agr\_outlook-2015-en.
- Peebles, E. D., R. W. Keirs, L. W. Bennett, T. S. Cummings, S. K. Whitmarsh, and P. D. Gerard. 2005. Relationships among pre-hatch and post-hatch physiological parameters in early nutrient restricted broilers hatched from eggs laid by young breeder hens. *Poult. Sci.* 84:454–461. doi:10.1093/ps/84.3.454
- Piestun, Y., D. Shinder, M. Ruzal, O. Halevy, J. Brake, and S. Yahav. 2008. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: effect on the acquisition of thermotolerance. *Poult. Sci.* 87:1516–1525. doi:10.3382/ps.2008-00030
- Piestun, Y., O. Halevy, and S. Yahav. 2009. Thermal manipulations of broiler embryos –The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poult. Sci.* 88:2677–2688. doi:10.3382/ps.2009-0023.
- Piestun Y., O. Halevy, D. Shinder, M. Ruzal, S. Druyan, and S. Yahav. 2011. Thermal manipulations during broilerembryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions. *J. Thermal Biol.* 36:469–474.
- Piestun, Y., I. Zimmerman, and S. Yahav. 2015. Thermal manipulations of turkey embryos: The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poult. Sci.* 94:273–280. doi:10.3382/ps/peu047
- Rahn, H., V. L. Christensen, and F. W. Edens. 1981. Changes in shell conductance, pores, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. *Poult. Sci.* 60:2536–2541. doi:10.3382/ps.0602536

- Reis, L.H., L.T. Gama, and M. Chaveiro Soares. 1997. Effects of short storage conditions and broiler breeder age on hatchability, hatching time, and chick weights. *Poult. Sci.* 76: 1459–1466. doi: 10.1093/ps/76.11.1459
- Riccardi, R. R., E. B. Malheiros, and I. C. Boleli. 2011. Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to post-hatch fasting. *Int. J. Poult. Sci.* 10:23–29. doi:10.3923/ijps.2011.23.29
- Şahan., U, A. Ipek, and A. Sozcu. 2014. Yolk sac fatty acid composition, yolk absorption, embryo development, and chick quality during incubation in eggs from young and old broiler breeders. *Poult Sci* 93: 2069-2077. doi:10.3382/ps.2013-03850
- SAS Institute. 2002. SAS–Statistical Analysis System. Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC.
- Somero, G. N., and R. K. Suarez. 2005. Peter Hochachka: Adventures in biochemical adaptation. *Annu. Rev. Physiol.* 67:25–37. doi:10.1146/annurev.physiol.67.041904.120836
- Suarez, M. E., H. R. Wilson, B. N. Mcpherson, F. B. Mather, and C. J. Wilcox. 1996. Low temperature effects on embryonic development and hatch time. *Poult. Sci.* 75:924–932. doi:10.3382/ps.0750924
- Tona, K., F. Bamelis, B. De. Ketelaere, V. Bruggeman, V. M. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan, and E. Decuypere. 2003a. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.* 82:736–741. doi:10.1093/ps/82.5.736
- Tona K., R. D. Malheiros, F. Bamelis, C. Careghi, V. M. Moraes, O. Onagbesan, E. Decuypere, and V. 2003b. Bruggeman. Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters. *Poult. Sci.* 82:840–845. doi:10.1093/ps/82.5.840.
- Tullet, S. G. 1981. Theoretical and practical aspects of eggshell porosity. *Turkeys* 29:24–28.

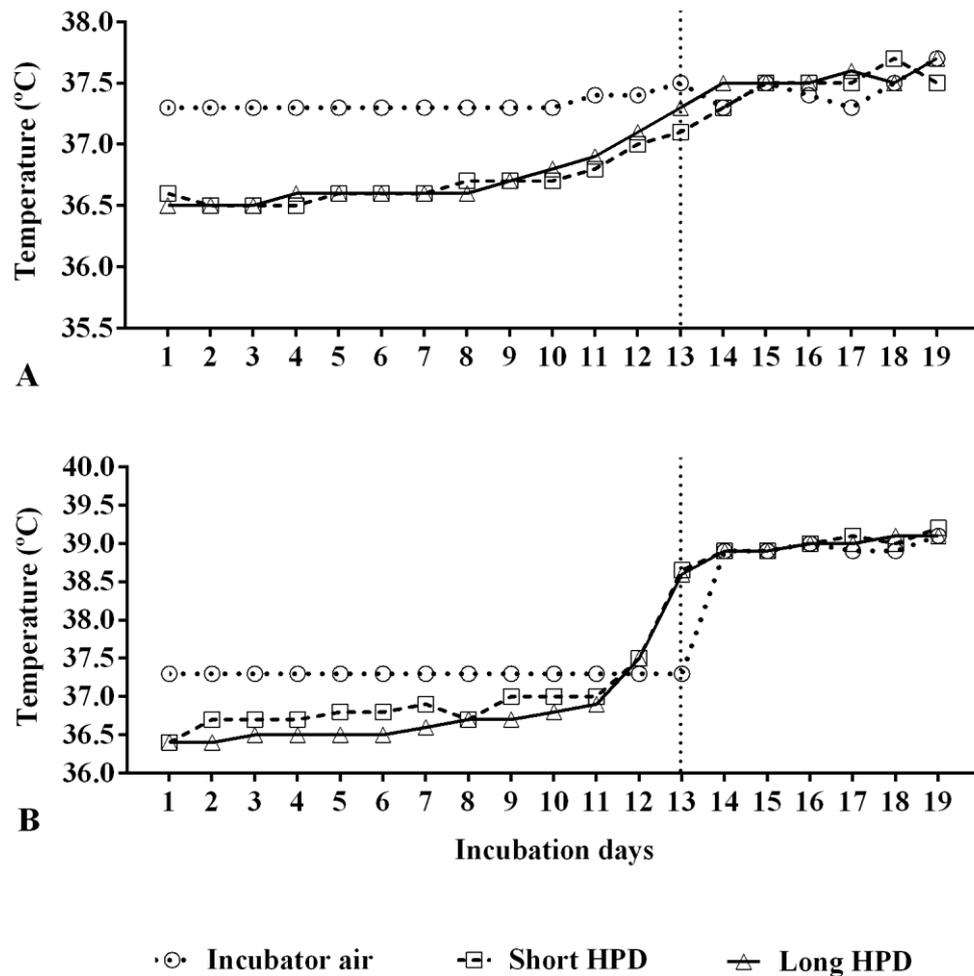
- Tzschentke, B. 2008. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. *Comp. Electron. Agric.* 64:61–71. doi:10.1093/ps/86.5.1025
- Tzschentke, B., and I. Halle. 2009. Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex ratio and later performance in male and female broiler chicks. *Poult. Sci.* 50:634–640. doi:10.1080/00071660903186570
- Vieira S. L., and S. Pophal. 2000. Post-hatching nutrition in broiler. *Braz. J. Poult. Sci.* 2:189–286. doi:dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2000000300001
- Vogt, M., A. Puntschart, J. Geiser, C. Zuleger, R. Billeter, H. Hoppeler. 2001. Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J. Appl. Physiol.* 91:173–182.
- Wickler, S. J., and T. P. Anderson. 2000. Hematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3800 m). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279:1176–1181.
- Willemsen, H., B. Kamers, F. Dahlke, H. Han, Z. Song, Z. Ansari Pirsaraei, K. Tona, E. Decuypere, and N. Everaert. 2010. High-and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poult. Sci.* 89:2678–2690. doi:10.3382/ps.2010-00853
- Willemsen, H. 2011a. Effect of temperature manipulation during late incubation on metabolism and performance of embryos and chickens. PhD Diss. Univ. Leuven, Leuven.
- Willemsen, H., Y. Li, E. Willems, L. Franssens, Y. Wang, E. Decuypere, and N. Everaert. 2011b. Intermittent thermal manipulations of broiler embryos during late incubation and their immediate effect on the embryonic development and hatching process. *Poult. Sci.* 90:1302–1312. doi:10.3382/ps.2011-01390

- Wilson H. R. 1991. Interrelationships of egg size, chick size, post-hatching growth and hatchability. *World's Poultry Sci.* 47:5–20. doi:dx.doi.org/10.1079/WPS19910002
- Wineland, M. J., and V. L. Christensen. 2001. Impact of hatchery conditions on chicks. In *Completed Research*. US Poultry and Egg Association, Tucker, GA.
- Wolfenson D. 1983. Blood flow through arteriovenous anastomoses and its thermal function in the laying hen. *J. Physiol.* 334:395–407. doi:10.1113/jphysiol.1983.sp014501
- Yahav, S., A. Collin, D. Shinder, and M. Picard. 2004a. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. *Poult. Sci.* 83:1959–1963. doi:10.1093/ps/83.12.1959
- Yahav, S., R. S. Rath, and D. Shinder. 2004b. The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch. *J. Therm. Biol.* 29:245–250. doi:10.1016/j.jtherbio.2004.03.002
- Yahav, S., A. Straschnow, D. Luger, D. Shinder, J. Tanny, and S. Cohen. 2004c. Ventilation, sensible heat loss, broiler energy, and water balance under harsh environmental conditions. *Poult. Sci.* 83:253–258. doi:10.1093/ps/83.2.253

**Table 1.** Physical characteristics used for chick quality determination.

<b>Variables</b>	<b>Evaluation</b>	<b>Characterization</b>	<b>Scores</b>
Activity	Chicks residence time in dorsal decubitus.	Long time: >30s	6
		Short time: <30s	0
Feathering	Presence of dirt and humidity in the feathers. - Dry and clean down: good feathering. - Wet and clean or dirty down: bad feathering.	Clean and dry	10
		Clean and wet	8
		Dirty and wet	0
Eyes	Eye brightness and opening.	Open and bright	20
		Open and dull	10
		Closed	0
Legs	Permanence of chicks standing with or without. If with difficulty, knee joints were examined for the presence of inflammation and / or redness. -Chicks standing without difficulty: normal legs. -Chicks standing with difficulty: anormal legs.	Normal	20
		One inflamed leg	10
		Two inflamed legs	0
Umbilical Region	Closing, dirt and staining the navel.	Fully enclosed and clean	12
		Partially closed and not red	6
			0
		Open and whitish	
Alantoic Cord	Persistence or not and length of the alantoic cord. - Short cord: $\leq$ 1cm. - Long: > 1 cm.	Absent	12
		Short	8
		Long	4
Yolk-sac	Incorporation degree into the abdominal cavity: total, partial and absent.	Total	20
		Partial	14
		Absent	8

Adapted from Tona et al. (2003a).



**Fig. 1**

Daily average of the incubator air (AIT) and eggshell (EST) temperatures throughout the incubation, reported for male broiler chicks with short (6-10h) and long (20-26h) hatching period between external pipping and the emergence from the eggshell (HPD), according to incubation temperature from day 13: 37.5°C (A) and 39°C (B). Vertical line in each graph corresponds to the beginning of the incubation temperature treatments. Each air AIT corresponds to the average obtained from four incubators/temperature. EST correspond to the average obtained from three to seven eggs.

**Table 2.** Duration of incubation, internal and external pipping times, and time interval between pippings for male broiler chicks, according to hatching period duration and the incubation temperature from day 13.

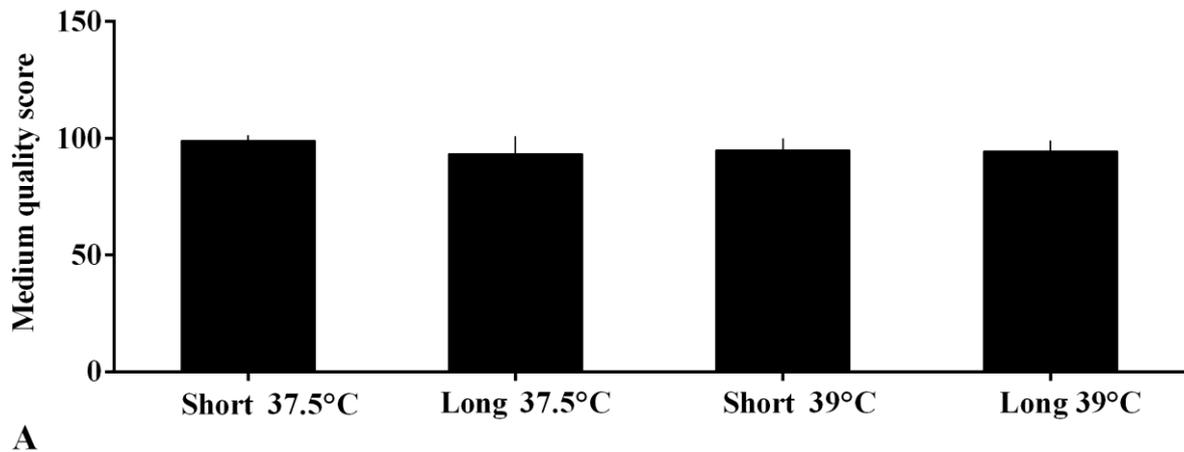
Variables <sup>4</sup>	ID	IPT	EPT	TIP-EP
	Hours			
Hatching Period Duration (HPD)				
Short <sup>1</sup>	487.60±9.87 <sup>b</sup>	465.91±7.97	479.33±9.32 <sup>a</sup>	13.42±4.44 <sup>a</sup>
Long <sup>2</sup>	492.50±6.84 <sup>a</sup>	464.50±8.22	469.16±7.16 <sup>b</sup>	4.66±3.60 <sup>b</sup>
Incubation Temperature (IT)				
37,5°C	494.63±8,25 <sup>a</sup>	468.81±7.8 <sup>a</sup>	478.62±8.40 <sup>a</sup>	9.81±6.68
39°C	485.47±6.72 <sup>b</sup>	461.60±6.6 <sup>b</sup>	469.88±9.55 <sup>b</sup>	8.28±5.18
<i>P</i> -values				
HPD	0.0238	0.4975	<0.0001	<0.0001
IT	<0.0001	0.0011	<0.0001	0.1841
HPD x IT	0.9335	0.0813	0.8311	0.0778
CV (%) <sup>3</sup>	1.48	1.53	1.48	43.23

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively. <sup>3</sup>CV: coefficient of variation. <sup>4</sup>ID: incubation duration. IPT: internal pipping time. EPT: external pipping time. TIP-EP: time between internal and external pipping. <sup>a-b</sup>: means followed by distinct superscripts (columns) differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 3.** Egg weight loss and eggshell conductance, relative weight and thickness for male broiler chicks according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables <sup>4</sup>	EML (%)	ESC (mg de H <sub>2</sub> O/mmHg)	ESW (%)	ESTh (mm)		
				Apical	Equatorial	Basal
Hatching Period Duration (HPD)						
Short <sup>1</sup>	9.91±1.67	0.415±0.06	8.06±0.63	0.339±0.02	0.340±0.02	0.364±0.02
Long <sup>2</sup>	9.59±1.27	0.402±0.05	8.09±0.63	0.338±0.02	0.333±0.02	0.358 ±0.02
Incubation Temperature (IT)						
37,5°C	9.53±1.32	0.400±0.05	8.26±0.66 <sup>a</sup>	0.349±0.02 <sup>a</sup>	0.344±0.02 <sup>a</sup>	0.364±0.02
39°C	9.97±1.61	0.417±0.06	7.90±0.53 <sup>b</sup>	0.329±0.01 <sup>b</sup>	0.328±0.02 <sup>b</sup>	0.355±0.02
<i>P</i> -values						
HPD	0.4698	0.4737	0.8962	0.8907	0.1950	0.5846
IT	0.3131	0.3216	0.0449	0.0028	0.0045	0.1249
HPD x IT	0.3700	0.3494	0.4259	0.7644	0.2044	0.2412
CV (%) <sup>3</sup>	15.23	15.14	7.48	6.02	5.53	5.40

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively. <sup>3</sup>CV: coefficient of variation. <sup>4</sup>EML: egg mass loss. ESC, ESW, ESTh: eggshell conductance, relative weight and thickness, respectively. <sup>a-b</sup>: means followed by different superscripts (columns) differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).



**Figure 2.**

Average quality total score received by male broiler chicks, according to hatching period duration between external pipping and the emergence from the eggshell (Short: 6-10h, Long: 20-26h) and incubation temperature from day 13 (37.5 and 39°C). There was no significant difference in the quality scores among chick treatments ( $P > 0.05$ ), being all classified as very good chicks.

**Table 4.** Body and yolk-sac weights, and rectal temperatures of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables <sup>4</sup>	BW (g)	YFBW (g)	YSW (g)	BW <sup>5</sup> (%)	YFBW <sup>5</sup> (%)	YSW <sup>5</sup> (%)	RT (°C)
Hatching Period Duration (HPD)							
Short <sup>1</sup>	51.14±1.32 <sup>a</sup>	42.71±1.56 <sup>a</sup>	8.43±1.42	74.36±1.23 <sup>a</sup>	62.11±2.16 <sup>a</sup>	12.25±2.00	39.19±0.62
Long <sup>2</sup>	50.14±1.81 <sup>b</sup>	41.40±2.08 <sup>b</sup>	8.74±1.27	73.13±2.17 <sup>b</sup>	60.38±2.75 <sup>b</sup>	12.74±1.84	38.93±0.96
Incubation Temperature (IT)							
37.5°C	50.55±1.52	42.50±1.84	8.06±1.33 <sup>b</sup>	73.56±1.70	61.83±2.45	11.72±1.91 <sup>b</sup>	38.96±0.96
39°C	50.73±1.79	41.62±1.97	9.11±1.16 <sup>a</sup>	73.93±2.01	60.66±2.65	13.27±1.62 <sup>a</sup>	39.17±0.63
<i>P</i> -values							
HPD	0.0352	0.0165	0.4021	0.0220	0.0186	0.3437	0.2811
IT	0.7071	0.1013	0.0062	0.4770	0.1039	0.0047	0.3836
HPD x IT	0.2458	0.4181	0.7619	0.8097	0.8595	0.9975	0.9721
CV (%) <sup>3</sup>	3.13	4.31	14.73	2.43	4.00	14.37	2.10

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively. <sup>3</sup>CV: coefficient of variation. <sup>4</sup>BW: body weight. YFBW: body weight without yolk-sac. YSW: yolk-sac weight. RT: rectal temperature. <sup>5</sup>: calculated relative to pre-incubation egg weight. <sup>a-b</sup>: means followed by different superscripts (columns) differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 5.** Erithrogram of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables <sup>4</sup>	RBC counts (cells/mm <sup>3</sup> x10 <sup>6</sup> )	MCV (fL)	Hct (%PCV)	Hb (g/dL)	MCH (pg)	MCHC (%)
Hatching Period Duration (HPD)						
Short <sup>1</sup>	1.09±0.58 <sup>b</sup>	118.68±7.68	11.12±1.47	4.69±0.46 <sup>b</sup>	58.81±3.74	42.94±0.07 <sup>b</sup>
Long <sup>2</sup>	1.61±0.96 <sup>a</sup>	93.64±6.09	10.68±1.49	5.14±0.53 <sup>a</sup>	46.46±2.91	48.46±0.09 <sup>a</sup>
Incubation Temperature (IT)						
37.5°C	1.43±0.70	91.05±5.11	10.50±0.69 <sup>b</sup>	4.80±0.48	42.27±2.28 <sup>b</sup>	47.13±0.08
39°C	1.26±0.94	122.83±7.94	11.36±1.84 <sup>a</sup>	5.00±0.58	63.71±3.90 <sup>a</sup>	44.88±0.09
<i>P</i> -values						
D <sub>EP-H</sub>	0.0293	0.1267	0.7185	0.0025	0.1959	0.0156
IT	0.4992	0.0668	0.0124	0.1314	0.0311	0.1758
D <sub>EP-H</sub> X IT	0.4654	0.2244	0.6045	0.1057	0.0785	0.5203
CV (%) <sup>3</sup>	58.91	55.26	12.99	9.88	60.59	16.73

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively.

<sup>3</sup>CV: coefficient of variation. <sup>4</sup>RBC counts: contagens de red blood cells. MCV: mean corpuscular volume. Hct: hematocrit. Hb: hemoglobin.

MCH: mean corpuscular hemoglobin. MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration. <sup>a-b</sup>: Means followed by different letters in the column differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 6.** Blood pH, gases, base excess and bicarbonate of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables <sup>4</sup>	pH	PvCO <sub>2</sub> (mmHg)	PvO <sub>2</sub> (mmHg)	TvCO <sub>2</sub> (mmol/L)	SvO <sub>2</sub> (%)	BEecf (mmol/L)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)
Hatching Period Duration (HPD)							
Short <sup>1</sup>	7.42±0.07	20.73±4.41	40.13±7.01	13.71±2.40	70.25±12.55	10.50±2,98	13.11±2.25
Long <sup>2</sup>	7.40±0.07	20.68±4.61	39.04±8.50	13.67±4.09	68.08±13.86	11.29±4,46	13.08±3.93
Incubation Temperature (IT)							
37.5°C	7.42±0.06	20.54±4.13	38.68±8.61	13.54±2.52	69.29±15.48	10.79±3.11	12.94±2.37
39°C	7.40±0.08	20.87±4.85	40.42±6.90	13.83±4.02	69.04±10.60	11.00±4.40	13.25±3.86
<i>P</i> -values							
HPD	0.2491	0.9743	0.6362	0.9662	0.5814	0.4803	0.9688
IT	0.4481	0.7966	0.4620	0.7668	0.9492	0.8522	0.7394
HPD x IT	0.1723	0.0848	0.7942	0.2923	0.9154	0.4803	0.2567
CV (%) <sup>3</sup>	0.95	21.51	20.00	24.73	19.54	35.35	24.63

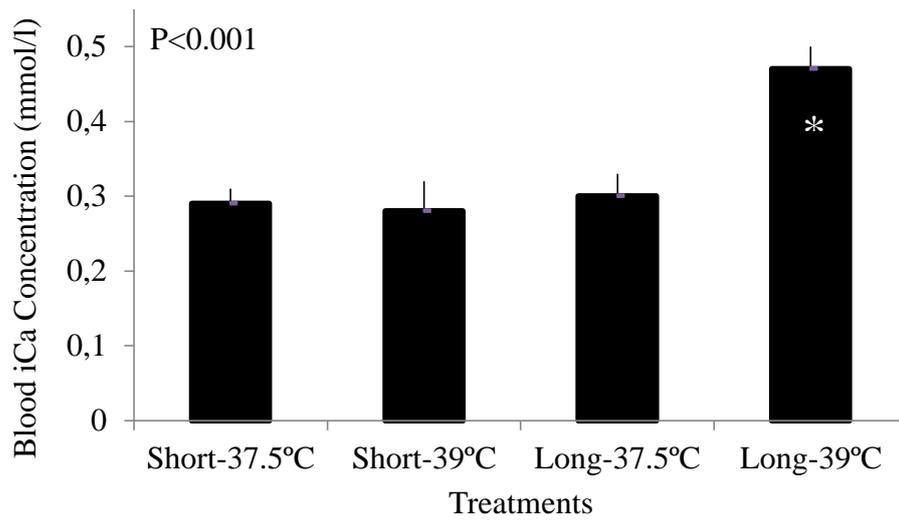
The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively.

<sup>3</sup>: coefficient of variation. <sup>4</sup>PvCO<sub>2</sub>: venous partial pressure of carbon dioxide. PvO<sub>2</sub>: venous partial pressure of oxygen. TvCO<sub>2</sub>: venous total pressure of carbon dioxide. SvO<sub>2</sub>: venous oxygen saturation. BEecf: excess base. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: bicarbonate. ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 7.** Blood ions and glucose concentrations of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	iCa	Glucose
	(mmol/l)			(mg/dL)
Hatching Period Duration (HPD)				
Short <sup>1</sup>	133.67±3.74	6.05±1.39	0.29±0.03	124.13±20.71
Long <sup>2</sup>	134.17±2.25	5.64±1.11	0.37±0.09	130.29±32.30
Incubation Temperature (IT)				
37,5°C	134.22±3.41	5.67±1.29	0.30±0.03	124.50±22.38
39°C	133.63±2.76	6.02±1.24	0.37±0.10	129.92±31.23
<i>P</i> -values				
HPD	0.5762	0.2528	<0.0001	0.4291
IT	0.5168	0.3366	<0.0001	0.4870
HPD x IT	0.9446	0.0882	<0.0001	0.1038
CV (%) <sup>3</sup>	2.36	21.10	10.19	21.04

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively. <sup>3</sup>CV: coefficient of variation. ( $P \leq 0.05$ )



**Figure 3.**

Interaction between hatching period duration between external pipping and the emergence from the eggshell (Short: 6-10h, Long: 20-26h) and incubation temperature from day 13 (37.5 and 39°C) for the blood iCa concentration of male broiler chicks. \*: mean with asterisk indicates difference from the other means ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 8.** Blood concentrations of total cholesterol, urea, uric acid, triglycerides and total protein of male broiler chicks, according to hatching period duration and incubation temperature from day 13.

Variables	Total Cholesterol	Urea	Uric Acid	Triglycerids	Total Protein
	(mg/dl)				(g/dl)
Hatching Period Duration (HPD)					
Short <sup>1</sup>	192.30±86.05	70.01±20.86	6.38±2.49	190.96±80.20	3.86±0.99
Long <sup>2</sup>	253.71±115.95	67.06±14.50	5.40±1.36	214.58±76.30	3.90±1.00
Incubation temperature (IT)					
37.5°C	223.95±123.64	65.01±20.90	5.55±2.01	203.35±81.93	3.77±0.80
39°C	224.04±117.88	71.94±14.26	6.24±2.10	196.81±76.29	3.99±1.14
<i>P</i> -values					
HPD	0.1627	0.6093	0.1917	0.4229	0.9144
IT	0.9494	0.2781	0.3481	0.6842	0.5783
HPD x IT	0.6753	0.4269	0.4036	0.6847	0.6021
CV (%) <sup>3</sup>	53.70	26.43	34.46	39.86	26.26

The hatching period duration refers to the period between external pipping and the emergence from the eggshell. <sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26 h, respectively. <sup>3</sup>CV: coefficient of variation. ( $P \leq 0.05$ ).

### **CAPÍTULO 3 – DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO INFLUÊNCIA A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS**

**RESUMO** – A duração do período entre bicagem externa e saída da casca influencia a qualidade dos pintos, sendo que pintos com curto período de eclosão apresentam maior peso corporal, menor incidência de malformações e incubação mais curta que os pintos com longo período de eclosão. O presente estudo investigou se a duração do período entre bicagem externa e saída da casca influencia o desempenho, rendimento e qualidade de carne dos frangos. Para isso, ovos de matrizes de corte (Cobb 500, rápido empenamento) com 56 semanas de vida, de mesmo lote, foram incubados à 37.5°C e 60% de umidade relativa e com giro à cada 2h. Na eclosão, pintos com curto (6-10h) e longo (20-26h) período entre bicagem externa e saída da casca foram pesados e identificados individualmente e distribuídos em 8 repetições de 10 aves/tratamento. A temperatura da casca dos ovos que originaram pintos com curto e longo período de eclosão foi de 36.6±0.1°C and 36.7±0.2°C até o 12º dia de incubação e de 37.5±0.2°C e 37.5±0.1°C a partir do 14º dia (durante o platô de temperatura), respectivamente. Os pintos foram alojados em boxes, em câmara climatizada com controle automática de temperatura e regime light-dark (22L-2D). A duração do período de eclosão não influenciou o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar de 1-42 dias de idade, o peso corporal e o rendimento de carcaça e partes à idade de abate, exceção feita ao rendimento do dorso que foi maior nos frangos com curto do que longo período de eclosão. No que se refere à qualidade de carne, a duração do período de eclosão não influenciou a perda por cocção, força de cisalhamento, pH, capacidade de perda água, índices de cor (L\*, a\* e b\*) e tamanho das fibras musculares do peito dos frangos. Também não houve efeito da duração do período de eclosão sobre a força de cisalhamento, pH, índices de cor e tamanho das fibras musculares oxidativas de contração lenta e glicolíticas de contração rápida da sobrecoxa. Entretanto, pintos com longo período de eclosão apresentaram maior perda por cocção, capacidade de perda de água e tamanho das fibra oxidativa-glicolíticas de contração rápida. Os resultados mostram que duração do período de eclosão interfere na qualidade da carne da sobrecoxa, e que frangos com curto período de eclosão apresentam carne da sobrecoxa mais macia e suculenta que os frangos com longo período de eclosão.

**Palavras-Chave:** incubação, desempenho, rendimento carcaça, músculo.

## INTRODUÇÃO

A crescente demanda por produtos de origem animal resultante do contínuo crescimento populacional mundial (FAO / Docrep, 2015) impõe a necessidade global de aumentar a produção animal. Isso inclui aumento da produção avícola, para a qual há previsões de crescimento da ordem de 115 million toneladas até 2022 (OACD / FAO Agricultural Outlook, 2015). Redução da heterogeneidade na qualidade dos pintos na eclosão contribui para a maximização do desempenho do lote e, conseqüentemente, da produção, sendo, portanto, uma meta a ser atingida pelos incubatórios.

A heterogeneidade dos lotes de pintos resulta, entre outras coisas, do assincronismo na eclosão, o qual aumenta com o aumento da amplitude da janela de eclosão (Willemsen et al., 2010; Lamot et al., 2014). Vários estudos tem mostrado que os primeiros pintos a eclodirem apresentam maior peso corporal, qualidade e crescimento inicial que os últimos pintos a eclodirem (Pinchasov; Noy, 1993; 2014 . Careghi et al., 2005; Willemsen et al., 2010; van de Ven et al., 2011; Lamot et al., 2014). Entretanto, como os pintos são retirados dos nascedouros ao final da incubação (504h), o assincronismo na eclosão deixa os primeiros pintos a eclodirem expostos à um período mais longo de jejum que os últimos pintos a eclodirem (Careghi et al., 2005; Willemsen et al., 2010; van de Ven et al., 2011; Lamot et al., 2014), transformando-os de pintos de alta qualidade em pintos mais fracos, com maior risco de morte e de pior desempenho (Corless; Sell, 1999; Gonzales et al., 2003; Maiorka et al., 2003; Christensen; 2009; van de Ven et al., 2013). Assim, assincronismo na eclosão mais jejum pós-eclosão acentua a heterogeneidade ao mesmo tempo que diminui a qualidade dos pintos de mesmo lote ao longo da janela de eclosão. Embora seja conhecido que idade da matriz, pelo peso dos ovos e condições de estocagem e de incubação de ovos influenciam a duração da incubação (Wilson, 1991; Morita et al., 2009; Willemsen et al., 2011) faltam na literatura dados sobre os fatores que determinam o assincronismo e, conseqüentemente a amplitude da janela de eclosão.

Em estudo prévio, verificamos que o assincronismo na eclosão é resultante de diferenças na duração dos períodos entre a bicagem interna e externa e entre a bicagem externa e a eclosão (Cap. 2). Nesse estudo, foi demonstrado que pintos com longo período de incubação apresentam curto período entre bicagem externa e interna e vice-versa, e que os pintos que saem mais rapidamente da casca do ovo apresentam melhor qualidade, expressa pelo seu maior peso corporal, menor taxa de malformações e mais curto período de

incubação. Todavia, para que a melhor qualidade dos pintos na eclosão seja usada como critério de acesso à maior produção do lote, é necessário que ela seja sinônimo de maior sobrevivência, crescimento e desempenho após a eclosão.

No presente estudo, analisamos se o desempenho, rendimento de carcaça e cortes e a qualidade da carne à idade de abate de frangos de corte são influenciados pela duração do período entre a bicagem externa e a saída da casca.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo n° 022383/12, 08/11/2012), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal.

### **Condução experimental**

O delineamento experimental consistiu de 2 durações do período de eclosão entre bicagem externa e eclosão (BE-E) (curto: 6-10 horas, longo: 20-26 horas) sob incubação 37,5°C. Para isso, 1.050 ovos férteis de matrizes de frangos de corte (Cobb®-500) com 56 semanas de idade, provenientes de incubatório comercial (Globo Aves, Itirapina-SP), foram pesados e numerados individualmente, e distribuídos homogeneamente pelos pesos (65-70g) em 10 incubadoras horizontais (Premium Ecológica, IP120) (N= 105 ovos/incubadora), com controle automático de temperatura e giro à cada 2 horas. As incubadoras foram mantidas à 37,5°C e 60% de UR durante todo o período de incubação (504 horas) e a viragem dos ovos desligada a partir do 18° dia de incubação. A temperatura da casca dos ovos foram registradas a cada 30 min do 1° ao 18° dia de incubação, por meio de mini-termopares tipo T (cobre-constant, Alutal; São Paulo, Brasil) fixado na região equatorial dos ovos (12 ovos/incubadoras) os dados foram armazenados em data loggers e descarregados em computador para posterior análise. Nas condições de incubação anteriormente descritas, a temperatura da casca dos ovos para pintos com curto e longo BE-E foi de 36.6±0.1°C and 36.7±0.2°C até o 12° dia de incubação e de 37.5±0.2°C e 37.5±0.1°C a partir do 14º dia (durante o platô de temperatura), respectivamente. A UR foi mantida até a eclosão para evitar seus efeitos sobre o desenvolvimento e sobrevivência embrionária. Para determinação da

duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca (curto e longo), os ovos foram observados continuamente a partir de 440 horas, anotando-se o dia e horário da bicagem externa e da saída da casca para cada ovo. Após a bicagem externa, os ovos foram inseridos individualmente dentro de sacos de filó e colocados nos nascedouros mantidos à mesma temperatura e UR que as incubadoras. Entre 477 e 500 horas de incubação, todos os pintos com curto e longo período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca foram registrados imediatamente após a eclosão. Assim que os pintos estavam secos, eles foram pesados, marcados e mantidos em criadeiras com aquecimento por lâmpada incandescente Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG, Brasil) até o alojamento, recebendo água *ad libitum* para evitar desidratação.

Ao final da eclosão (504h), 160 pintos machos com excelente qualidade (sem anormalidades morfológicas e ativos), oriundos das diferentes incubadoras, foram distribuídos homogeneamente pelo peso corporal (curto:  $46,04\pm 0,39$ ; longo:  $46,00\pm 0,36$ ) em 16 repetições de 10 aves (8 repetições de 10 aves por período de eclosão) em uma câmara climática com controle automático do período de luz (claro: escuro = 22h/2h) e de temperatura ambiente. As temperaturas do ar no interior da câmara climática da 1ª à 6ª semana de criação foram as seguintes:  $33,08\pm 0,53$ ;  $29,12\pm 0,60$ ;  $28,03\pm 0,72$ ;  $26,01\pm 0,55$ ;  $25,15\pm 0,71$ ;  $24,04\pm 0,61$ °C. Os pintos foram vacinados contra doença de Marek e Bouda Aviária, Gumboro e Newcastle, de acordo com o programa de vacinação da linhagem. Durante todo o período de criação, as aves receberam água e ração *ad libitum*. As rações utilizadas foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011), para as fases inicial (1 a 21 dias de idade; EM: 2.883 kcal/kg ração, PB: 21,27%) e de crescimento (22 a 42 dias de idade; EM: 3.121kcal/kg ração, PB: 18,86%).

## **Desempenho**

Foram analisados o consumo de ração, o peso corporal médio, o ganho de peso, e a conversão alimentar semanais e no período total de criação (1-42 dias de idade). O peso corporal das aves foi determinado a partir do peso médio por repetição. O consumo de ração foi estabelecido por repetição, pela diferença entre o peso da ração fornecida e da ração não ingerida. O ganho de peso correspondeu à diferença entre o peso corporal no início e final da

semana. A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo de ração, pelo ganho de peso médio (g/g).

### **Rendimento de carcaça e partes**

Aos 42 dias de idade, 16 aves/tratamento, com peso corporal próximo ao peso médio da respectiva repetição (2 aves/repetição), foram utilizadas nas análises de rendimento, totalizando 60 aves. Para isso, as aves foram identificadas individualmente por anilhas e mantidas sob jejum de ração por oito horas. Em seguida, elas foram sacrificadas utilizando-se eletrosensibilização, seguido de sangria. Após a retirada das penas e das vísceras, foram obtidos os pesos da carcaça (sem pescoço e pés), peito, coxa + sobrecoxa, asas, dorso, coração e fígado. O rendimento de carcaça foi calculado em relação ao peso vivo da ave, enquanto que o rendimento de cortes e de órgãos foi calculado em relação ao peso da carcaça sem pescoço e pés.

### **Qualidade de carne**

Para a análise de qualidade da carne do peito (músculo *Pectoralis major*) e da sobrecoxa (músculo *Sartorius*), 16 aves/tratamento com 42 dias de idade (2 aves/repetição) e com o peso médio da respectiva repetição foram sacrificadas por eletrosensibilização seguida de sangria. As análises de qualidade de carne foram realizadas 24 h pós-morte. Antes do abate, os frangos não foram alimentados durante 8 h. O pH foi determinado pela inserção de um eléctrodo diretamente na carne, utilizando um medidor de pH digital (Testo, modelo Testo-106, Lenzkirch, Alemanha). A cor da carne foi determinada na porção interna do musculo e ao longo da coxa, usando equipamento medidor de cromo CR-300 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japão) e o sistema tricromático CIELAB, que determina os valores da luminosidade ( $L^*$ ), vermelhidão ( $a^*$ ), e amarelecimento ( $b^*$ ) da carne. A capacidade de preda de água foi determinada em amostras com 2g, as quais foram pressionadas com um peso de 10 kg por 5 minutos à 25°C. A capacidade de perda de água (%) foi calculada pela diferença entre o peso das amostras antes e depois da compressão multiplicada por 100, cujo produto foi dividido pelo peso da amostra antes da compressão (Grau e Hamm, 1952). Para determinar as perdas por cozimento, as amostras foram colocadas em sacos plásticos e cozidas em banho-

maria à 85°C durante 30 minutos, com temperatura interna final das amostras entre 75 à 80°C. Depois da liberação da água exsudada e do arrefecimento para atingir a temperatura ambiente, as amostras foram novamente pesadas e a perda por cocção calculada e expressa em porcentagem em relação ao peso inicial (Cason et al., 1997). Warner-Bratzler a força de cisalhamento foi determinada nas amostras submetidas anteriormente às análises de perda por cocção, usando um analisador de textura TAXT2i (Godalming, Surrey, Reino Unido), e expressa em quilogramas por centímetro quadrado (Lyon et al., 1998).

### **Morfometria das fibras musculares**

Aos 42 dias de idade, 10 aves/tratamento, com peso médio da respectiva repetição, foram sacrificadas por eletrosensibilização seguida de sangria para rápida remoção dos músculos *Peitoral major* (branco) e *Sartorius* (misto). Em seguida, amostras (3 x 1 x 0,6 cm) retiradas da região da *pars sternobrachialis* dos músculos peitorais e os músculos *Sartorius* foram congeladas em *n*-hexano resfriado em nitrogênio líquido, e mantidos em freezer -70°C até seu processamento histoquímico e imunoistoquímico. Cortes de congelamento transversais e semi seriados, com 8-12µm de espessura, foram obtidos em criostato à -20°C e submetidos à técnica histoquímica de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Tetrazólio Redutase (NADH-TR) e imunoistoquímica indireta para marcação de fibras de contração lenta, possibilitando a identificação dos três tipos de fibras: fibras de contração lenta oxidativas (SO), fibras de contração rápida oxidativa-glicolíticas (FOG) e fibras de contração rápida e glicolíticas (FG).

Para o processamento histoquímico pela técnica NADH-TR, os cortes foram mantidos à temperatura ambiente por 30 min para secagem e fixação na lâmina histológica. Depois, seguindo o método descrito por Dubowitz e Brooke (1984), os cortes foram incubados com solução contendo NADH (forma reduzida: 0,08%) e nitro azul de tetrazólio (0,1%) (Sigma, St. Louis, MO) em tampão Tris-HCL 0,2M pH 7,4 durante 40 minutos à 37°C. Em seguida, os cortes foram lavados com água destilada (3 x 5 min), fixado em 5% de formol tamponado e pH 7,0 por 5 minutos e lavados novamente com água destilada (3 vezes). Eles foram, então, desidratados em série de concentração crescente de etanol (60, 70, 80, 90 e 100%), diafanizados em xilol (100%) e montados com Entellan. As fibras SO, FOG e FG foram identificadas pela coloração escura, intermediária e clara, respectivamente.

Para o processamento imunistoquímico, o procedimento geral de D'Ángelis et al. (2005) foi seguido. Cortes semi-seriados transversais, de 8µm de espessura, obtidos da mesma amostra utilizada para as análises histoquímicas, foram submetidos ao método imunistoquímico indireto (peroxidase anti-peroxidase) para a marcação de fibras contendo miosina de contração lenta. Inicialmente, os cortes permaneceram durante 30 minutos à temperatura ambiente para a secagem e aderência às lâminas histológicas. Em seguida, eles foram fixados em formalina 3,5% por 30 minutos, lavados em tampão fosfato 0,1M (pH 7,2; 2 x 2 minutos cada) e incubados com 3% de peróxido de hidrogênio em metanol, por 5 minutos, para realização do bloqueio de peroxidases endógenas. Os cortes foram lavados novamente com tampão fosfato e incubados com soro inespecífico de coelho (1:50 em tampão fosfato) durante 30 minutos em câmara úmida à 4°C, para controle do “background”. Posteriormente, os cortes incubados com anticorpo primário monoclonal anti-miosina de contração lenta produzido em camundongo (NOQ7.5.4D, Sigma, St. Louis, MO) por 150 min em câmara úmida à 4°C. Novamente, os cortes foram lavados com tampão fosfato (2 x 4 min cada, sob agitação suave) e, em seguida, incubados com anticorpo secundário conjugado com peroxidase cabra anti-IgG de camundongo (1:1000 em tampão fosfato) (Sigma, St. Louis, MO) durante 90 min em câmara úmida à 4°C. Uma nova lavagem com tampão fosfato foi então realizada (2 x 4 min cada). Os complexos antígeno-anticorpo foram revelados por incubação dos cortes com diaminobenzidina (0,2 mg/1,5 mL de 3,3'-diaminobenzidina por tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) (Sigma, St. Louis, MO) à temperatura ambiente, contendo 2 a 3 gotas de peróxido de hidrogênio. A intensidade da coloração foi controlada visualmente e a revelação bloqueada com a lavagem dos cortes com o tampão fosfato. Posteriormente, os cortes foram desidratados em série de concentração crescente de etanol (60, 70, 80, 90 e 100%), diafanizados (xilol 100%) e montados com Entellan. As fibras de contração lenta apresentaram coloração dourada com o uso do anticorpo anti-miosina de contração lenta, enquanto que as fibras de contração rápida não foram marcadas. O controle negativo da reação antígeno-anticorpo foi realizada omitindo-se a incubação com anticorpo primário.

### **Análises estatísticas**

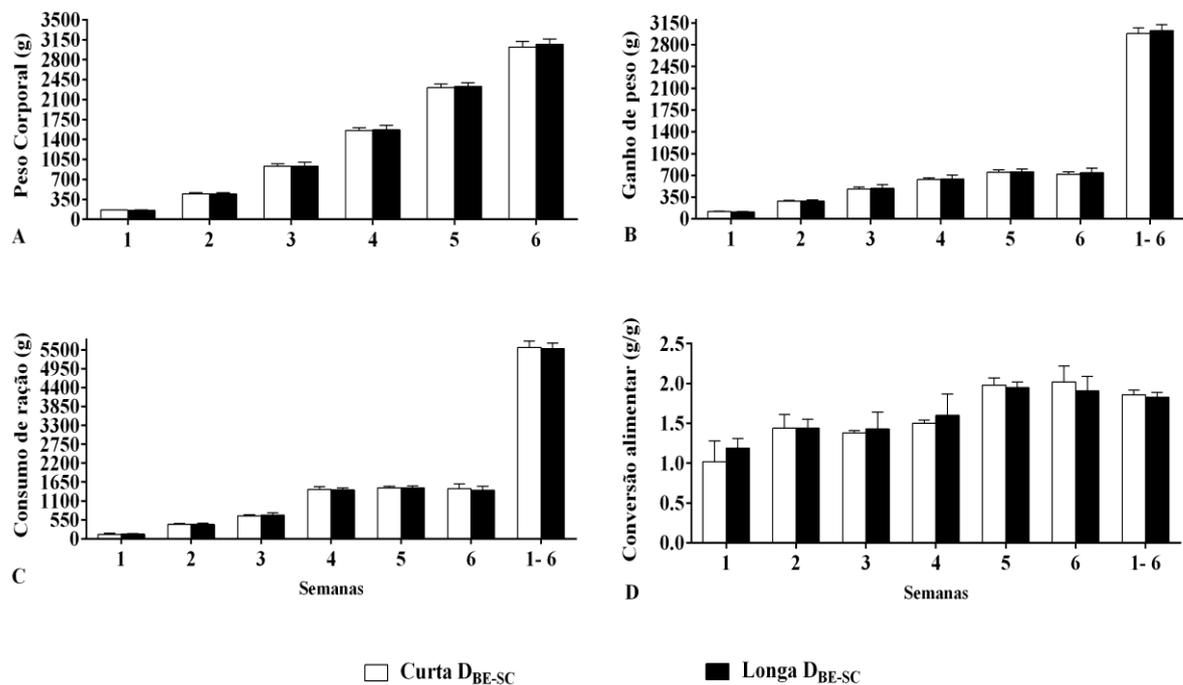
Os dados de todas as variáveis foram analisados quanto aos efeitos da duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca (curto: 6-10h e longo: 20-26h), foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de

normalidade dos erros estudentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa SAS® (SAS Institute, 2002). em caso de diferença significativa, foi aplicado o teste de Tukey (5%), para comparação de médias.

## RESULTADOS

### Desempenho

A Figura 1 mostra os resultados obtidos para peso corporal, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar semanais e no período total de criação (1-42 dias de idade). Não ocorreu efeito significativo do tratamento sobre as demais variáveis ( $P > 0,05$ ).



**Figura 1** – Peso corporal, ganho de peso, consumo de ração, e conversão alimentar, semanais e de 1-42 dias, de frangos de corte, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ , Curta: 6-10h e Longa: 20-26h).

### Rendimento de carcaça, partes e órgãos

A Tabela 1 mostra os resultados de rendimento de carcaça, partes e órgãos para frangos com 42 dias de idade. Frangos com curto e longo período de eclosão diferiram apenas no peso relativo do dorso, que foi maior nos frangos com curto do que com longo período de eclosão ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabela 1** – Rendimento de carcaça, cortes e órgãos de frangos de corte com 42 dias de idade, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca.

Variáveis		Duração da Eclosão		P-valor	CV(%)
		Curta <sup>1</sup>	Longa <sup>2</sup>		
Peso vivo	(g)	2962±170	2984±158	0,8075	8,23
Peso da carcaça	(g)	2387±301	2391±280	0,9684	9,54
	(%) <sup>3</sup>	80,63±4,02	78,93±4,18	0,2753	5,13
Peito	(g)	919±64,17	952±38,94	0,4183	11,56
	(%) <sup>4</sup>	38,54±1,72	39,74±2,59	0,1487	5,62
Coxa e sobre-coxa	(g)	632±45,96	643±59,77	0,5974	8,35
	(%) <sup>4</sup>	26,51±1,11	27,01±1,83	0,3692	5,68
Asas	(g)	229±13,01	231±22,74	0,7255	8,03
	(%) <sup>4</sup>	9,62±0,37	9,73±0,52	0,5251	4,71
Dorso	(g)	584±59,80	542±69,38	0,0895	11,48
	(%) <sup>4</sup>	24,45±1,54a	22,71±1,45b	0,0036	6,34
Fígado	(g)	49±7,77	50±8,29	0,8571	16,10
	(%) <sup>4</sup>	2,01±0,26	2,06±0,37	0,7132	15,91
Coração	(g)	16±3,44	16±3,18	0,9565	20,08
	(%) <sup>4</sup>	0,67±0,13	0,67±0,10	0,9633	17,55

<sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26h. a-b: médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente ( $P \leq 0,05$ ).<sup>3</sup>: calculado em relação ao peso vivo da ave. <sup>4</sup>: calculado em relação ao peso da carcaça com pele e sem cabeça e pés. (x±sd; N=16 frangos/tratamento).

### Qualidade da carne do peito

Como mostrado na Tabela 2, não houve diferença na perda por cocção, força de cisalhamento, pH, capacidade de perda de água, índices de luminosidade (L\*) e cor (a\*, b\*), e na área em corte transversal das fibras musculares do peito entre frangos com curto e longo período de eclosão (P>0,05).

**Tabela 2** – Qualidade da carne e área em corte transversal das fibras do peito dos frangos de corte aos 42 dias de idade, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca.

Variáveis	Duração da Eclosão		P-valor	CV (%)	
	Curto <sup>1</sup>	Longo <sup>2</sup>			
Perdas por cocção (%)	26,86±2,31	26,24±2,60	0,5050	9,30	
Força de cisalhamento (kgf cm <sup>-2</sup> )	1,60±0,52	1,25±0,44	0,0608	34,19	
pH	6,00±0,10	5,99±0,18	0,7885	2,47	
Capacidade de perda de água (%)	35,27±2,41	36,94±2,15	0,0560	6,33	
Índices de cores	L*	55,58±3,09	54,08±2,35	0,1477	5,01
	a*	2,51±1,61	2,44±1,26	0,8880	58,57
	b*	4,39±2,00	3,89±2,11	0,5064	49,60
FG <sup>3</sup> (µm <sup>2</sup> )	6,80±0,82	6,95±0,71	0,6605	11,21	

<sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26h. a\*: teor de vermelho. b\*: teor de amarelo. L\*: luminosidade. <sup>3</sup>FG: fibras glicolíticas rápidas.(x±dp; N=10 aves/tratamento).

### Qualidade da carne da sobrecoxa

Como mostrado na Tabela 3, frangos com curto e longo período de eclosão não diferiram na força de cisalhamento, pH, índices de luminosidade (L\*) e cor (a\*, b\*), e nem na área em corte transversal das fibras de contração rápida glicolíticas e de contração lenta oxidativas ( P>0,05). Todavia, a perda por cocção, a capacidade de perda de água e a área das fibras de contração rápida glicolítica-oxidativas foram maiores nos frangos com longo do que com curto período de eclosão (P<0,05).

**Tabela 3** – Qualidade da carne da sobrecoxa e área em corte transversal das fibras do músculo sartorio de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração do período entre bicagem externa e saída da casca.

Variáveis	Duração da Eclosão		P-valor	CV (%)	
	Curto <sup>1</sup>	Longo <sup>2</sup>			
Perdas por cocção (%)	32,08±1,33b	34,63±2,33a	0,0010	5,70	
Força de cisalhamento (kgf cm <sup>-2</sup> )	1,00±0,10	1,14±0,25	0,0675	18,26	
pH	6,16±0,70	6,17±0,80	0,7461	1,26	
Capacidade de perda de água (%)	29,76±1,04b	32,58±0,40a	<0,0001	2,54	
Índices de cores	L*	53,73±3,86	55,07±4,34	0,3814	7,55
	a*	5,41±4,23	4,21±4,14	0,4398	86,91
	b*	4,96±1,67	4,11±1,62	0,1657	36,33
SO <sup>3</sup>	3,46±0,63	3,86±0,61	0,1713	16,99	
FOG <sup>4</sup>	3,93±0,70b	4,63±0,57a	0,0268	14,99	
FG <sup>5</sup> (µm <sup>2</sup> )	5,02±0,35	5,26±0,51	0,2493	8,53	

<sup>1,2</sup>: 6-10 e 20-26h. a\*: teor de vermelho. b\*: teor de amarelo. L\*: luminosidade. <sup>3</sup>SO: fibras oxidativas lentas. <sup>4</sup>FOG: fibras oxidativas-glicolíticas rápidas. <sup>5</sup>FG: fibras glicolíticas rápidas. a-b: médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente (P≤0,05).

## DISCUSSÃO

Para a maximização da produção avícola é crucial que a qualidade dos pintos na eclosão seja sinônimo de alta viabilidade, taxa de crescimento, rendimento de carne e baixa conversão dos frangos nas granjas (Decuypere e Bruggeman, 2007). Estudo prévio registrou melhor qualidade para pintos com curto do que com longo período entre bicagem externa e saída da casca, qualidade essa traduzida pelo maior peso corporal, menor incidência de malformações e período de incubação mais curto do que os primeiros (Cap 2). No presente trabalho, foi analisado se frangos com curto e longo período entre a bicagem externa e a saída da casca diferem no desempenho, rendimento de carcaça e cortes e na qualidade da carne do peito e sobrecoxa à idade de abate.

De acordo com os resultados, frangos com curto e longo período entre bicagem externa e saída da casca apresentaram igual consumo de ração, ganho de peso, peso corporal, conversão alimentar e rendimento de carcaça e cortes nobres aos 42 dias de idade. Esses achados mostram que a melhor qualidade dos pintos com curto período de eclosão (Cap. 2) não refletiu em melhor desempenho e rendimento de carne pós-eclosão. Embora o peso corporal seja usado como um critério de qualidade dos pintos na eclosão, no presente estudo ele não mostrou relação com o peso corporal à idade de abate e nem com as demais variáveis de desempenho analisadas, concordando com achados de alguns autores (Decuypere, 1979; Wolanski et al., 2003; Tona et al., 2004) e discordando de outros (Powell; Bowman 1964; Deeming, 2000; Decuypere et al., 2002). Entretanto, a ausência de diferenças no desempenho e no rendimento de carne não podem ser interpretados como critério para determinar que pintos de curto período entre bicagem interna e externa não sejam considerados de melhor qualidade. A qualidade dos pintos baseada em critérios morfológicos e na atividade (Boerjan, 2002; Tona et al., 2003) também deve ser considerada. Além do maior peso corporal, pintos com curto período entre bicagem externa e saída da casca também apresentam menor incidência de malformações e mais curta incubação do que os pintos de longo período (Cap. 2), fatores importantes para a maximização da produção de pintos de boa qualidade.

Cor, luminosidade, acidez, textura e suculência são características que determinam a escolha da carne pelo consumidor (Lonergan et al., 2003; Fraqueza et al., 2005; Genchev et al., 2005, 2010). Dessa forma, maximização da produção sem controle de seus efeitos sobre a qualidade da carne é um risco que o setor produtivo não pode desconsiderar. No presente estudo, a duração do período BE-E não influenciou a perda por cocção, força de cisalhamento, pH, índices L\*, a\* e b\* e tamanho das fibras musculares do peito dos frangos, e nem a força de cisalhamento, pH, índices de cor e tamanho das fibras musculares oxidativas de contração lenta e glicolíticas de contração rápida da sobre-coxa. Todavia, a capacidade de perda de água e a perda por cocção foram menores nos frangos com curto do que com longo período entre bicagem externa e saída da casca. Perda por cocção e capacidade de retenção de água são variáveis relacionada com a maciez e a suculência da carne (Baeza et al., 1998; Fletcher, 2002; Purslow, 2005), as quais são menores quanto maior é a perda de água (Barbut et al., 2005; Genchev et al., 2010). Nesse contexto, nossos resultados mostram que frangos de curto período entre bicagem externa e saída da casca apresentam carne de sobrecoxa mais macia e suculenta do que os frangos de longo período, indicando um efeito de longa duração.

## **CONCLUSÃO**

Duração do período de eclosão não influenciou o desempenho, o rendimento de carcaça e cortes nobres, e a qualidade da carne do peito, mas influenciou a qualidade da carne da sobrecoxa. Do ponto de vista prático, esse estudo revela que a carne da sobrecoxa é mais suculenta nos frangos de curto período de eclosão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAEZA, E., GUY, G., SALLICHON, M.R., JUIN, H., ROUSSELOT- PAILLEY, D., KLOSOWSKA, D., ELMINOWSKA-WENDA, G., SRUTEK, M., ROSINSKI, A. Influence of feeding systems, extensive vs intensive, on fatty liver and meat production in geese. **Arch. Geflugelk.** 62:169- 175, 1998.

BARBUT, S., ZHANG, L. AND MCIRCONI, M. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. **Poult. Sci.** 84:797-802, 2005.

CAREGHI C., TONA K., ONAGBESAN O., BUYSE J., DECUYPERE E., BRUGGEMAN V. The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. **Poult. Sci.** 84:1314-1320. 2005.

CASON, J. A.; BAILEY, J. S.; STERN, N. J.; WHITTEMORE, A. D. and COX, N. A. Relationship Between Aerobic Bacteria, Salmonellae, and Campylobacter on Broiler Carcasses **Poult. Sci.** 76:1037-1041, 1997.

CHRISTENSEN V. L. Development during the first seven days post-hatching. **Avian Biol. Res.** 2:27-33, 2009.

CORLESS A. B., SELL J. L. The effects of delayed access to feed and water on the physical and functional development of the digestive system of young turkeys. **Poult. Sci.**;78:1158-1169, 1999.

BOERJAN, M. Programs for single stage incubation and chick quality. **Avian Poult. Biol. Rev.** 13:237–238, 2002.

D'ANGELIS., F.H, FERRAZ, G.C., BOLELI, I.C., LACERDA-NETO, J.C, QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the gluteus medius muscle. **J Anim Sci.** Mar; 83(3):579-85, 2005

DECUYPERE, E. Effect of incubation temperature patterns on morphological, physiological and reproduction criteria in Rhode Island Red birds. **Agric.** 27:216–230, 1979.

DECUYPERE, E. , K. TONA, F. BAMELIS, C. CAREGHI, B. KEMPS, B. DE KETELAERE, J. DE BAERDEMAKER, and V. BRUGGEMAN. Broiler breeders and egg factors interacting with incubation conditions for optimal hatchability and chick quality. **Arch. Geflügelkd.** 66:56–57. 2002.

DEEMING, D. C. What is chick quality? **World Poult.** 11:34–35. 2000

DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. **Muscle biopsy: a modern approach.** London: W.B. Saunders Company, 1984. 472p.

FLETCHER, D. L. Poultry meat quality. **World's Poult. Sci. J.** 58:131–145, 2002.

FRAQUEZA, M.J.; CARDOSO, A.S.; FERREIRA, M.C.; BARRETO, A.S. Estudo das preferências dos consumidores portugueses em relação a cor da carne de peru e tipo de embalagem utilizada. **Ver. Port. de Zoot.** 12 (2):45-62, 2005.

GENCHEV, A. G., RIBARSKI S. S., AFANASJEV G. D., BLOHIN G. I. Fattening capacities and meat quality of Japanese quails of Faraon and White English breeds. **Cent. Eur. J. Agric.** 6:495–500, 2005.

GENCHEV, A., RIBARSKI S., ZHELYAZKOV G. Physicochemical and technological properties of Japanese quail meat. **Trakia J. Sci.** 8:86–94, 2010.

GONZALES, E., KONDO N., SALDANHA E. S. P. B., LODDY M. M., CAREGHI C., DECUYPERE E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poult. Sci.** 82:1250–1256, 2003.

GRAU, R.; HAMM. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Fleisch. **Fleischwirtschaft.** 4:295-297, 1952.

LAMOT, D. M. I. B. van de LINDE, R. MOLENAAR, C. W. van DER Pol, P. J. A. WIJTEN, B. KEMP, and H. van den Brand. Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. **Poult. Sci.** 93 (10): 2604-2614 first published online July 28, 2014 doi:10.3382/ps.2014-04123. October 2014.

LONERGAN, S.M., DEEB, N., FEDLER, C.A. AND LAMONT, S.J. Breast meat quality and composition in unique chicken population. **Poult. Sci.** 82:1990-1994, 2003.

LYON C. E., LYON B. G., DICKENS J. A. Effects of Carcass Stimulation, Deboning Time, and Marination on Color and Texture of Broiler Breast Meat. **J. Appl. Poult. Res.** 7 : 53 – 60, 1998.

MAIORKA A., SANTIN E., DAHLKE F., BOLELI I. C., FURLAN R. L., MACARI M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **J. Appl. Poult. Res.** 12:483-492, 2003.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; CARGNELUTTI FILHO, A. Hematological values and body, heart and liver weights in male and female broiler embryos taken from eggs of young and old breeders. **Br. Poult. Sci.** 11:19-27, 2009.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; OLIVEIRA. J. A. Hematological and Incubation Parameters of Chicks from Young Breeders Eggs: Variation with Sex and Incubation Temperature. **Br. Poult. Sci.** 9 (6): 606-612, 2010.

OECD/Food and **Agriculture Organization of the United Nations** 2015. OECD–FAO Agricultural Outlook 2015. OECD Publishing, Paris. Accessed Aug. 2015. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en). doi:10.1787/agr\_outlook-2015-en.

POWELL, H. C., and J. C. BOWMAN. An estimate of maternal effects in early growth characteristics and their effects upon comparative tests of chicken varieties. **Br. Poult. Sci.** 5:121–132, 1964.

PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **Br. Poult. Sci.** 34:11-120, 1993.

PIESTUN, Y; DRUYAN, S; BRAKE, J; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler incubation alter performance of broilers to 70 days of age. **Poult. Sci.** 92 (5): 1155-1163, 2013.

PURSLOW, P.P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat Sci.** 70:435-447, 2005.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics. Cary, 2002. 466p.

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

TONA, K. , O. ONAGBESAN, B. DE KETELAERE, E. DECUYPERE, and V. BRUGGEMAN. Effects of age of broiler breeders on egg quality, hatchability, chick quality chick weight and chick post-hatch growth to 24 days. **J. Appl. Poult. Res.** 13:10–18, 2004.

VAN DE VEN L. J. F.; VAN WAGENBERG A. V.; DEBONNE M.; DECUYPERE E.; KEMP B.; VAN DEN BRAND, H. Hatching system and time effects on broiler physiology and posthatch growth. **Poult. Sci.** 90:1267–1275, 2011.

VAN DE VEN, L. J. F.; VAN WAGENBERG, A. V.; DECUYPERE, E.; KEMP, B.; AND VAN DEN BRAND, H. Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poult. Sci.** 92 (4): 1050-1061, 2013.

WILLEMSSEN, H; M. DEBONNE, Q. SWENNEN, N. EVERAERT, C. CAREGHI, H. HAN, V. BRUGGEMAN, K. TONA and E. DECUYPERE (2010). Delay in feed access and spread of hatch: importance of early nutrition. **Worlds Poult. Sci. J.** 66:177-188. doi:10.1017/S0043933910000243.

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

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

WOLANSKI, N. J. , E. J. LUITEN, R. MEIJERHOF, and A. L. J. VEREIJKEN. Yolk utilisation and chick length as parameters for embryo development. **Avian Poult. Biol. Rev.** 15:233–234, 2003.

## **CHAPTER 4 – Hatching time and incubation temperature influence thermal preference of broiler chickens**

**ABSTRACT** - This study investigated whether the duration of the time period between external pipping and the actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) associated or not to high incubation temperature from day 13 to hatching interferes with the thermal preference and response of broilers to heat stress throughout the rearing period. Fertile eggs from 56-week-old broiler breeders (Cobb-500) were used in a completely randomized trial with a 2x2 factorial arrangement ( $D_{EP-H}$ : short and long; incubation temperature: 37.5 °C and 39 °C from the 13<sup>th</sup> day). At hatching, male chicks were reared in two climatical chambers with 16 boxes each, maintained at the temperature recommended for this strain, with 6 replicates of 12 chicks per treatment. Broilers with short  $D_{EP-H}$  and from eggs incubated at 37.5°C preferred the lowest ambient temperature at all analyzed ages, whereas broilers with long  $D_{EP-H}$  and from eggs incubated at 39°C preferred the highest temperatures from 21 days of age. Heat-exposed broilers showed increased frequency of respiratory movements in all ages analyzed, which should have contributed to maintenance of their rectal (body) temperature. The  $D_{EP-H}$  did not influence feed intake, but broilers with long  $D_{EP-H}$  had better feed conversion, weight gain, and body weight. High incubation temperature reduced the feed consumption, as well as the weight gain and body weight by worsening the feed conversion. The results of this study show that  $D_{EP-H}$  associated or not to high incubation temperature influence the broiler thermal preference and heat response throughout the rearing period. In a practical view, they suggest that chicks with short and long  $D_{EP-H}$  should be reared separately.

**Keywords:** hatching period, incubation temperature, poultry, thermal preference, thermal stress

## INTRODUCTION

The ever-growing world population is increasing the demand for animal-derived protein, which in turn necessitates improvements in animal production systems. Indeed, global consumption of poultry meat may reach 128 million tons in 2022 (OECD/FAO Agricultural Outlook, 2015) and, to meet this demand, research is continuously searching for strategies to maximize broiler performance.

One of the approaches to increasing poultry meat production includes reaching high homogeneity of broiler batches by reducing asynchronic hatching, which is one of the factors promoting heterogeneity of batch performance. It exposes the hatchlings to distinct hydric and feed fasting periods until housing, therefore affecting the homogeneity of the chick batches and, consequently, their survival and performance (Halevy et al., 2000; Nichelmann et al., 2001; Careghi et al., 2005; Tzschentke, 2008; van de Ven et al., 2009; Riccardi et al., 2011). Anecdotal evidence suggests that the higher the amplitude of the hatching window the more heterogeneous is a broiler batch. Thus, it is very important to identify the factors determining asynchronism in the hatching. Our previous studies indicate that the hatching period promotes hatching asynchronism. Accordingly, we show variations in the duration of the period between internal and external pipping and/or external pipping and actual hatching, but not in the duration of the embryony plus fetal development, which corresponds to the period from day 1 of incubation up to internal pipping (Matos Júnior et al., submitted; Vicentini et al., submitted).

Incubation temperature (IT) also influences the duration of the hatching period as incubating eggs at 39°C during the fetal phase shortens the hatching period (Matos Júnior et al., submitted). The effects of asynchronic hatching on broiler performance can be accentuated when the rearing temperature is not adequate. Additionally, it is known that heat exposure during rearing reduces broiler performance and survival, since it physiologically affects poultry welfare by reducing their feed consumption and, consequently, worsening their feed conversion and weight gain (Yalçın et al., 1997; 2001). Heat exposure also alters the thermal preference of turkeys and laying chicks. According to Tzschentke (2008), turkeys derived from eggs incubated at 38.5°C from the 7<sup>th</sup> day onwards prefer high ambient temperatures. Walstra et al. (2010) reported that Lohmann chicks subjected to intermittent heat stress (4 hours/day at 40°C) in the period between the 14<sup>th</sup> to 18<sup>th</sup> day of incubation prefer low ambient temperatures up to the 7<sup>th</sup> day of life. Morita et al. (a, b, submitted) also

found that incubation temperature during the fetal phase affects the preferred rearing temperature of broilers. However, no studies to date have examined the effects of the association between IT and the duration of the hatching period (period between internal pipping and actual hatching) on the thermal preference and thermal tolerance of broilers during rearing.

This study examined whether the duration of the hatching period and the IT in the fetal phase affect the thermal preference and the response to thermal challenge of broilers throughout rearing.

## **MATERIALS AND METHODS**

The experimental protocol of this study was conducted in accordance with Ethical Principles in Animal Experimentation adopted by and approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA, Protocol N<sup>o</sup>. 022383/12, of 08/11/2012), of the Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences, São Paulo State University – UNESP, Jaboticabal, Brazil.

### ***Experimental conditions***

In this study, the experimental arrangement followed a factorial 2x2 design, with 2 incubation temperatures from the 13<sup>th</sup> day (37.5 and 39°C) and two durations of the period between external pipping and actual hatching (short: 6–10 hours, long: 20–26 hours). For this, about 900 fertile eggs of 56-week-old broiler breeders (Cobb-500) were obtained from a commercial hatchery (Globo Aves, Itirapina, SP). They were homogeneously distributed by weight (65–70g) in 10 incubators (Premium Ecológica IP120, Belo Horizonte, MG, Brazil) (N = 113 eggs/incubator) with automatic control of temperature and egg turning (every 2 hours). All incubators were kept at 37.5°C (the usual incubation temperature for broilers) from the 1<sup>st</sup> to the 12<sup>th</sup> day of incubation. From day 13 of incubation until hatching, 5 incubators had their temperature raised to 39 °C, whereas the other 5 incubators had their temperature maintained at 37.5 °C. Eggshell temperature (EST) was measured every 30 min from onset of incubation until day 18 of incubation using thermosensors (Alutal Type T; São Paulo, Brazil) placed on the shell of 8 eggs per incubator and stored in data loggers connected to a computer for further analysis. The average EST from day 13 was 37.5 ± 1.93 and 37.44 ± 2.01 for eggs incubated at 37.5°C that originated male chicks with short (N = 12 eggs) and

long (N = 7 eggs) time periods between external pipping and actual hatching; and  $39 \pm 1.83$  and  $38.9 \pm 1.59$  for eggs incubated at 39°C that originated male chicks with short (N = 8 eggs) and long time (N = 9 eggs) period between external pipping and actual hatching. Change in the incubation temperature from the 13<sup>rd</sup> day was based on establishment of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis already at this age (McNabb and Olsen, 1996). In all incubators, the relative humidity was maintained at 60% throughout the incubation period (504 hours) and egg turning until the 18<sup>th</sup> day of incubation.

To determine the duration of the time period between external pipping and actual hatching (short and long), all eggs were visually observed every 30 minutes from the 19<sup>th</sup> day of incubation, writing down the day and time of external pipping and actual hatching for each of the eggs. After hatching, 288 male chicks from each treatment were housed in two climatic chambers with automatic control of temperature and light period (light:dark = 22h:2h), containing 16 boxes each (1 x 2.50 m) (N = 9 chicks/box), kept at recommended temperature for the strain (Management Guide Cobb, 2013). The temperature and relative humidity in the chambers were 33.4°C and 67%, 29.5°C and 76%, 27.2°C and 68%, 25.3°C and 64%, 23°C and 65%, and 21°C and 60%, from the first to the sixth week of age, respectively. The chicks were vaccinated against Marek's disease and fowl pox Gumboro and Newcastle, according to the strain vaccination program. Water and feed were provided *ad libitum*. The rations were based on corn and soybean meal, and formulated in accordance with the recommendations of Rostagno et al. (2011) for initial (1 to 21 days of age; ME 2,883kcal/Kg, CP 21.27%) and growth (22 to 42 days of age; ME 3,121kcal/Kg, CP 18.86%) phases.

### ***Thermal Preference Tests***

The preferred thermal analysis was based on the methods of Myhre et al. (1975) and Walstra et al. (2010), modified by Morita et al. (approved). Briefly, we used two rectangular chambers (length x width x height: 160 x 50 x 60 cm) containing a temperature gradient (from 19 to 40°C along the length of the chambers) generated by two thermal resistances and one cold air intake located at opposite ends of the chambers, and recorded by 12 temperature sensors distributed in equidistant manner along of the length of one of the sides of the chamber. The positioning and displacement of the poultry inside the chambers were recorded by 12 infrared sensors distributed along the length of the chambers on the side opposite to the thermal sensors. The temperature data and bird positions in the chambers were registered and

stored per minute by means of software specifically developed for acquisition of these data, which was coupled to a computer. Based on Morita et al. (approved), thermal preference tests were run simultaneously in both chambers at the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, 28<sup>th</sup>, and 35<sup>th</sup> post-hatching day from 7:30 to 16:30h, using two birds per test in a total of 12 birds per treatment. Thermal preference tests lasted 90 minutes divided into two phases: initial 30 min for ambient recognition by the birds and 60 minutes for positioning and holding at a temperature of preference. After completion of the tests, from the software records we determined the ambient temperature preferred by each bird, which corresponded to ambient temperature at which the bird spent the longest time. If the birds remained for a long time at two or more temperatures, their preferred temperature was determined by calculation of the average. Subsequently, the birds were identified and again housed in the original climate chambers to be used in the thermal challenge tests on the following day and also to maintain the bird number per replicate. Rectal temperature of birds was measured prior to and after the thermal preference tests.

### ***Thermal Challenge Tests***

The birds were subjected to thermal challenge tests according to the methodology of Walstra et al. (2010) adapted by Morita et al. (approved), as follows: we used two acrylic climate chambers (side x side x height: 80 x 80 x 80 cm) containing automatic control of temperature, relative humidity, and air movement, making it possible to vary the ambient temperature from 15 to 40°C as well as the relative humidity. Thermal challenge tests were performed on the 2<sup>nd</sup>, 8<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 22<sup>nd</sup>, 28<sup>th</sup>, and 36<sup>th</sup> post-hatching day, using the birds submitted to thermal preference tests conducted the day before. As established by Morita et al. (approved), we used three birds per treatment for each test, totaling 12 birds/treatment/age. The thermal challenge test consisted of three consecutive phases of 45 minutes duration each, totaling 135 minutes. During the first phase of the thermal challenge test, the birds were exposed to their preferred temperature established in the preference test. During the thermal challenge phase, the birds were exposed to temperature 5°C higher than their preferred temperature. During the final phase of the challenge test, again the birds were exposed to their preferred temperature. The average time it took the thermostat to increase or reduce the temperature of the challenge chambers by 5°C degrees was approximately 4 minutes, which

was included in the total 45 minutes duration of the last two phases of the challenge tests. At the end of each phase, respiratory movement frequency ( $RM_f$ ; resp.mov.min<sup>-1</sup>) of the birds was determined visually. After this registration, the rectal temperature of the birds was measured using a digital thermometer for veterinary use (Incoterm, model 5198, range between 34 and 44 and 0.1°C error limit). Different birds were used on each test day to prevent the birds' adaptation to the chambers and to avoid thermal conditioning at high temperatures during the functional maturation period of the thermoregulatory system of the birds, which occurred approximately until day 10 of age (Tazawa et al., 1988; Jenkins and Porter, 2004).

### *Statistical Analysis*

The effects of the duration of the time period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ : short and long), incubation temperature (IT: 37.5°C and 39°C), and the interaction between both ( $D_{EP-H} \times IT$ ) on the preferred temperature, the rectal temperature before and after the thermal preference tests, frequency of respiratory movements, and rectal temperature during the thermal challenge tests (before, at the end the thermal challenge, and after the thermal challenge), obtained at different ages, were analyzed using the experimental model:  $Y_{ijk} = \mu + (D_{EP-H})_i + IT_J + (D_{EP-H} \times IT)_{ij} + e_{ijk}$ . The rectal temperatures and the frequency of respiratory movements obtained for each phase of the thermal challenge tests (before, at the end, and after the thermal challenge) were compared within each treatment and age. All data were submitted to analysis of variance ANOVA using the GLM procedure of SAS (SAS Institute, 2002), and statistical significance was set at  $P \leq 0.05$ . In case of significant interactions, the Tukey test was applied for comparison among means.

## **RESULTS**

This study examined whether the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching and the incubation temperature in the fetal phase affect the thermal preference and the response to heat stress of broilers throughout rearing.

### ***Effects of $D_{EP-H}$ and IT on Thermal Preference***

The results of the tests to determine the broilers' thermal preference throughout rearing are shown in Table 1. We found significant interactions between  $D_{EP-H}$  and IT on the thermal preference at the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, and 35<sup>th</sup> day of age ( $P \leq 0.05$ ). On the first day, chicks derived from eggs incubated at 37.5°C and presenting short  $D_{EP-H}$  preferred the lowest temperatures. Chicks from all the other treatments showed similar rearing temperature preferences ( $P > 0.05$ ). At the 7<sup>th</sup> day, chicks derived from eggs incubated at 37.5 °C and with short  $D_{EP-H}$  continued to prefer the lowest whereas those presenting long  $D_{EP-H}$  favored the highest temperatures compared with the chicks from the other treatments. Similar rearing temperatures were elected by the chicks derived from eggs incubated at 39°C of long and short  $D_{EP-H}$  ( $P > 0.05$ ). At the 14<sup>th</sup> day of age, chicks derived from the 37.5°C egg incubation and with short  $D_{EP-H}$  persisted in their preference for low temperatures. Interestingly, at this stage, chicks from 39°C incubation and presenting long  $D_{EP-H}$  also privileged low temperatures whereas those presenting short  $D_{EP-H}$  favored the highest rearing temperatures. At the 21<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> days, no significant interactions between  $D_{EP-H}$  and IT were found for the preferred temperature ( $P > 0.05$ ), but significant effects of  $D_{EP-H}$  and IT were observed ( $P \leq 0.05$ ). At both ages, broilers showing long  $D_{EP-H}$  and broilers from eggs incubated at 39°C privileged higher rearing temperatures than broilers with short  $D_{EP-H}$  and from eggs incubated at 37.5°C, respectively. At day 35, significant interactions between  $D_{EP-H}$  and IT were detected ( $P \leq 0.05$ ). Once again, broilers of short  $D_{EP-H}$  and egg incubation at 37.5°C preferred the lowest temperatures and broilers of long  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 39°C privileged the highest temperatures ( $P > 0.05$ ). Taken together, independently of the existence of significant interactions between  $D_{EP-H}$  and IT, broilers of short  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 37.5 °C always preferred the lowest temperatures and broilers of long  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 39°C favored the highest rearing temperatures from day 21 onwards.

### ***Effects of $D_{EP-H}$ and IT on Rectal Temperature Before and After the Thermal Preference Tests***

Table 2 contains data of rectal temperatures presented by the broilers before and after the thermal preference test. There was no significant interaction between  $D_{EP-H}$  and IT for any

of the analyzed ages for rectal temperatures before the thermal preference test. However, a significant effect of IT was observed on rectal temperature of the chicks at the 1<sup>st</sup> and 14<sup>th</sup> day of age, where chicks presented higher rectal temperatures when egg incubation occurred at 37.5°C ( $P \leq 0.05$ ). None of the analyzed ages presented significant interaction between  $D_{EP-H}$  and IT for rectal temperatures after the thermal preference test. There was a significant effect of IT on the 14<sup>th</sup> and 35<sup>th</sup> day of age and  $D_{EP-H}$  on day 35 ( $P \leq 0.05$ ). At these ages, the rectal temperature was higher in broilers from eggs incubated at 37.5°C than at 39°C, and in broilers with long as opposed to short  $D_{EP-H}$ .

### ***Effects of $D_{EP-H}$ and IT on Respiratory Movement Frequency ( $RM_f$ ) During the Thermal Challenge Test***

The first phase of the thermal challenge test consisted of exposing the broilers to their preferred rearing temperatures for 45 minutes and then taking the relevant measurements. The  $RM_f$  presented by broilers at the first phase of the thermal challenge test was not affected by the  $D_{EP-H}$  and IT. We did not find significant interactions between these factors at any of the analyzed ages. The  $RM_f$  of the broilers at the end of the thermal challenge phase was affected by interactions between the  $D_{EP-H}$  and IT at the 8<sup>th</sup> and 29<sup>th</sup> days of age and by IT at the 36<sup>th</sup> day (Table 3). As shown in Figure 1, at the 8<sup>th</sup> day, broilers with long  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 39°C presented higher  $RM_f$  than the broilers from the other treatments. At day 29, the  $RM_f$  differed between broilers with short  $D_{EP-H}$  from eggs incubated at 37.5°C and 39°C, being higher in the former group than in the latter. At the final phase of the thermal challenge test, when broilers were returned to the preferred rearing temperatures, we found that  $D_{EP-H}$  and IT did not significantly affect their  $RM_f$  (Table 3).

### ***Effects of $D_{EP-H}$ and IT on the Rectal Temperature at the end of the Thermal Challenge Phase***

In this phase, the rectal temperature of broilers was influenced by IT at the 2<sup>nd</sup> day of age and an interaction between  $D_{EP-H}$  and IT was observed at the 36<sup>th</sup> day of age (Table 4). At the 2<sup>nd</sup> day, the rectal temperatures were higher in broilers from eggs incubated at 39°C than in those whose eggs were incubated 37.5°C. At day 36, broilers with short  $D_{EP-H}$  from eggs

incubated at 39°C presented the highest rectal temperature whereas no significant difference was found among broilers from the other three treatments (Figure 2A).

The actual thermal challenge phase consisted of exposing the broilers to temperatures 5°C above their preferred rearing temperatures for 45 minutes and then taking the relevant measurements. At the 2<sup>nd</sup> day of age, broilers subjected to thermal challenge were affected by IT. At this age, the rectal temperature remained higher in broilers from eggs incubated at 39°C than in those from eggs incubated at 37.5°C. An interaction between  $D_{EP-H}$  and IT was seen at the 15<sup>th</sup> day (Table 4). Rectal temperatures were higher in the broilers with short  $D_{EP-H}$  than in those with long  $D_{EP-H}$  of eggs incubated at 39 °C, and than in broilers with short  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 37.5°C (Figure 2B).

The third and final phase of the thermal challenge test consisted of returning the broilers to their preferred rearing temperatures for 45 minutes and then taking the relevant measurements. The rectal temperatures after thermal challenge were affected by IT at the 22<sup>nd</sup> day of age, and were higher in broilers whose eggs were incubated at 37.5°C than those derived from eggs incubated at 39°C (Table 4).

#### ***Variation of the Respiratory Movement Frequency ( $RM_f$ ) Throughout the Phases of the Thermal Challenge Test***

Figure 3 depicts the comparative analyses of the  $RM_f$  at the end of each phase of the thermal challenge test: before thermal challenge, the actual challenge, and after the challenge for each and treatment. Independent of the ages and treatments, almost all broilers increased their  $RM_f$  when thermally challenged and then reduced their frequencies when returned to their preferred rearing temperatures after thermal challenge to values similar to those observed before thermal challenge. This observation was not seen for broilers from eggs incubated at 39°C with short and long  $D_{EP-H}$  at the 8<sup>th</sup> and 2<sup>nd</sup> day of age, respectively (Figure 3C and D).

#### ***Variation of the Rectal Temperature During the Thermal Challenge Test***

In Figure 4 we compare the rectal temperatures of broilers in the first phase of the thermal challenge test, at the end of the actual thermal challenge, and in the final phase of the challenge within each age and for each treatment. Broilers from eggs incubated at 37.5°C with short  $D_{EP-H}$  did not change their rectal temperatures during the thermal challenge test up to the

29<sup>th</sup> day of age. However, at day 36, their rectal temperatures increased with the thermal challenge and then returned to the temperatures they exhibited before the challenge when the broilers were exposed once again to their preferred rearing temperatures (Figure 4A). For broilers with long  $D_{EP-H}$  whose eggs were incubated at 37.5°C, we found that significant variations in rectal temperature during the thermal challenge test occurred only at the 15<sup>th</sup> day of age, when they reduced their rectal temperatures once they were returned to their preferred rearing temperatures after the challenge (Figure 4B). The thermal challenge test did not affect the rectal temperatures of broilers with both short and long  $D_{EP-H}$  derived from eggs incubated at 39°C. However, when the birds were exposed back to their preferred rearing temperature after thermal challenge, we observed reduction of their rectal temperatures at days 15, 22, and 36 for the short and at days 22 and 36 for the long  $D_{EP-H}$  broilers ( $P \leq 0.05$ ) (Figure 4C and D).

### ***Effects of $D_{EP-H}$ and IT on Broiler Performance***

The results relative to broiler performance are shown in the Table 5. Broilers with long and short  $D_{EP-H}$  presented similar feed intake, but the former had better feed conversion that resulted in higher weight gain. Broilers from egg incubation at 39°C compared to broilers from eggs incubated at 37.5°C had lower feed consumption, resulting in worse feed conversion, weight gain, and body weight.

## **DISCUSSION**

Here we show that broiler thermal preference, heat tolerance, and performance during rearing are affected by  $D_{EP-H}$  with or without interaction with IT, confirming our previous anecdotal evidence.

When eggs were incubated at 37.5°C, broilers with long  $D_{EP-H}$  preferred higher ambient temperature than those with short  $D_{EP-H}$  during the whole rearing period. However, when egg incubation occurred at 39°C, broilers with long  $D_{EP-H}$  preferred higher rearing temperatures after the 21<sup>st</sup> day of age. Our data suggest that broilers with short and long  $D_{EP-H}$  should be reared under distinct ambient temperatures. In a previous study, we observed that broiler hatchlings derived from eggs incubated at 37.5°C with short  $D_{EP-H}$  presented lower

RBC (counts of blood red cells) and Hb (hemoglobin concentration) than those with long  $D_{EP-H}$ . We also found broiler hatchlings from eggs incubated at 39°C had higher Hct (hematocrit) and MCH (mean corpuscular hemoglobin) values than hatchlings from eggs incubated at 37.5°C (Matos Júnior et al., submitted). Considering that these erythrocyte variables determine the bird potential for blood gas exchange (Borges et al. 2003; Mushtaq et al., 2005), it is plausible that the preference for lower or higher ambient rearing temperatures results from lesser or greater blood potential for gas exchange respectively. However, whether the thermal preferences over the rearing period continue to be related to the erythrocyte variables will need to be investigated in future studies. Further, broiler hatchlings of eggs incubated at 39°C presented rectal temperature 1.21°C lower than hatchlings of eggs incubated at 37.5°C. According to Morita et al. (submitted), broiler hatchlings of eggs incubated at 39°C have thinner and more vascularized skin than hatchling of eggs incubated at 37.5°C, which may indicate that the former have a higher heat loss potential by conduction than the latter. Thus, it is possible that the preference for higher ambient rearing temperatures and the lower rectal temperatures found in hatchlings from egg incubated at 39°C (our data) are due to greater heat loss by conduction through the skin. Our results agree with those in turkeys obtained by Tzschentke (2008), who showed that these birds prefer higher ambient rearing temperatures when their eggs were exposed to 38.5°C after the 7<sup>th</sup> day of incubation. In contrast, Walstra et al. (2010) found that chicks of the layer strain (Lohmann) submitted to intermittent heat stress (4h/day at 40°C) from the 14<sup>th</sup> to the 18<sup>th</sup> day of incubation preferred lower ambient rearing temperature up to the 7<sup>th</sup> day of life. These differences may be related to the specific metabolism of each strain as well as the difference between the intensity and duration of the IT changes. It is noteworthy that independently of the  $D_{EP-H}$  and incubation temperature, broilers preferred lower rearing temperatures than those recommended for the chick strain (see Cobb, 2013).

The current broiler chicken lines selected by breeders for greater weight gain and faster growth present high metabolic heat production, which imposes a need for heat loss to maintain body temperature. Heat transference only occurs from a warmer to a cooler ambient temperature (Lin et al., 2005). Thus, because of the current strains' increased metabolic heat production, the ambient temperature should be lowered throughout the rearing period for heat loss to occur. It is known that when rearing temperature elevates, broilers reduce their feed consumption and activity to decrease their metabolic heat production. At the same time, they

increase the  $RM_f$  as well as peripheral blood circulation and hydric intake to further promote their heat loss (Wolfenson, 1983; Yahav et al., 2004). However, if the rearing temperature reaches values above those tolerated by broilers, high or total mortality occurs. Thermal challenge was used in this study to verify whether broilers with short and long  $D_{EP-H}$  respond differently to heat exposure during rearing and whether incubation at 39°C during the fetal phase made these birds more tolerant to heat. Our results show that, regardless of the IT and  $D_{EP-H}$ , broilers subjected to thermal challenge (5°C higher than the preferred rearing temperature) presented increased  $RM_f$  without changing their rectal temperature in all analyzed ages, except at the 2<sup>nd</sup> and 36<sup>th</sup> day of age. At the 36<sup>th</sup> day of age, broilers of eggs incubated at 37.5°C with short  $D_{EP-H}$  did not increase rectal temperature in response to thermal challenge. In contrast, at the 2<sup>nd</sup> day of age, broilers of eggs incubated at 39°C with long  $D_{EP-H}$  did not alter their  $RM_f$  in response to thermal challenge and, consequently, maintained their rectal temperature. These findings indicate that all broilers, independently of the IT and  $D_{EP-H}$ , used heat loss by evaporation to maintain their body temperature, but that the 36-day-old broilers derived from eggs incubated at 37.5°C with short  $D_{EP-H}$  failed to maintain body temperature. Additionally, the absence of a thermal challenge effect on hatchlings of eggs incubated at 39°C with long  $D_{EP-H}$  may be related to these chicks' higher body temperatures and suggests that the sudden increase in ambient temperature (5°C higher than the preference) did not consist a real challenge for these hatchlings.

Although feed consumption had not been affected by  $D_{EP-H}$ , broilers with long  $D_{EP-H}$  showed better feed conversion and, consequently, greater weight gain during the rearing period and body weight at 42 days of age compared to broilers with short  $D_{EP-H}$ . Further, broilers of eggs incubated at 39°C reduced feed consumption and worsened feed conversion resulting in lower body gain and body weight. The worse performance of broilers with short  $D_{EP-H}$  and of broilers derived from eggs incubated at 39°C suggests that the rearing temperatures used in the present study (as recommended by the Management Guide for Broiler, Cobb, 2013) were not those that would foster the best performance, because the birds preferred different rearing temperatures.

In summary, the data presented herein show that duration of the hatching period between external pipping and hatching ( $D_{EP-H}$ ) associated or not with IT during fetal phase affects the broilers' thermal preference and performance throughout the rearing period. Broilers with short  $D_{EP-H}$  prefer lower temperatures than broilers with long  $D_{EP-H}$  during the

whole rearing period when their eggs were incubated at 37.5°C and from the 21<sup>st</sup> day of age when their eggs were incubated at 39°C. Incubation at 39°C from the fetal phase increased the preferred rearing temperature of broilers with short and long  $D_{EP-H}$ , but this effect was observed in the latter after the 21<sup>st</sup> day of age. Further, better performance was observed for broilers with long  $D_{EP-H}$  and for broilers of eggs incubated at 37.5°C than for broilers with short  $D_{EP-H}$  and for broilers of eggs incubated at 39°C with long  $D_{EP-H}$ .

Based on our findings, we recommend that broilers with short and long  $D_{EP-H}$  should be raised apart and that the rearing temperature suggested for the lines should be revised. Indeed, taking into consideration the duration of the hatching period, broilers of the line used herein (Cobb) preferred a lower rearing temperature than prescribed by the Management Guide for Broiler (Cobb, 2013).

The demand for animal protein is expected to rise by 70–80% in 2050 and therefore we face an enormous challenge to feed the 9 billion people the earth is expected to hold by then (Dilorenzo et al., 2014). Poultry-derived protein will certainly play a major role in meeting this demand but every effort will count to raise broiler performance and production results. Therefore, the data presented here may be of great interest to companies (hatcheries) to develop new incubation management strategies and obtain more homogeneous chick batches with improved performance and production.

## CONCLUSION

From a husbandry point of view, the results indicate that chicks with short and long  $D_{EP-H}$  should be treated separately. However, in practice, the handling becomes difficult when using open sheds and even closed sheds that do not have efficient control of room temperature.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP for the doctoral fellowship given to J.B.M.Jr (process n° 2012/14428-0).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

## REFERENCES

- Borges, S. A., A. V. Fischer da Silva, J. Ariki, D. M. Hooge, and k. R. Cummings. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens under moderately high ambient temperatures and relative humidities. *Poult. Sci.* 82:301–308. doi:10.1093/ps/82.2.301
- Careghi, C., K. Tona, O. Onagbesan, J. Buyse, E. Decuyper, and V. Bruggeman. 2005. The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. *Poult. Sci.* 84:1314–1320. doi:10.1093/ps/84.8.1314
- Cobb. Broiler management guide. 2013. Arkansas, Cobb-Vantress USA, 65 p. Accessed Jun. 2015. <http://cobb-vantress.com/docs/default-source/guides/cobb-broiler-management-guide---english.pdf>.
- Decuyper, E. 1984. Incubation temperature in relation to postnatal performance in chickens. *Arch. Exp. Vet. Med.* 38:439–449.
- Decuyper, E., and H. Michels. 1992. Incubation temperature as a management tool: a review. *Worlds. Poult. Sci. J.* 48:28–38. doi:10.1079/WPS19920004
- Dilorenzo, N., G. C. Lamb, J. D. Ubeux, J. arthington, J. Vendramini, and P. Lancaster. 2014. Environmental Impact of Beef Cattle Production Systems. UF/IFAS Extension – University of Florida. AN302. Accessed Aug. 2015. <http://edis.ifas.ufl.edu/an302>.
- Halevy, O., A. Geyra, M. Barak, Z. Uni, and D. Sklan. 2000. Early Posthatch Starvation Decreases Satellite Cell Proliferation and Skeletal Muscle Growth in Chicks. *J. Nutr.* 130:858–864.
- Jenkins, S. A., and T. E. Porter. 2004. Ontogeny of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in the chicken embryo: a review. *Domest. Anim. Endocrinol.* 26:267–75. doi:10.1016/j.domaniend.2004.01.001

- Lin, H., H. F. Zhang, H. C. Jiao, T. Zhao, S. J. Sui, X. H. Gu, Z. Y. Zhang, J. Buyse, and E. Decuypere. 2005. Thermoregulation responses of broiler chickens to humidity at different ambient temperatures. I. One week of age. *Poult. Sci.* 84:1166–1172. doi:10.1093/ps/84.8.1166
- McNabb, A., and J. M. Olsen. 1996. Development of thermoregulation and its hormonal control in precocial and altricial birds. *Poult. Avian Biol. Res.* 7:111–125.
- Mushtaq, T., M. Sarwar, H. Nawaz, Aslam Mirza, and T. Ahmad. 2005. Effect and interactions of dietary sodium and chloride on broiler starter performance (hatching to twenty-eight days of age) under subtropical summer conditions. *Poult. Sci.* 84:1716–1722. doi:10.1093/ps/84.11.1716.
- Myhre, K., M. Cabanaca, and G. Myhre, 1975. Thermoregulatory behavior and body temperature in chicks of willow grouse (*Lagopus lagopus Zagopus*). *Poult. Sci.* 54:1174–1179. doi:10.3382/ps.0541174
- Nichelmann, M., O. Janke, and B. Tzschentke. 2001. Efficiency of thermoregulation in precocial avian species during the prenatal period. *J. Therm. Biol.* 26:273–280. doi:10.1016/S0306-4565(01)00030-4
- OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations 2015. OECD–FAO Agricultural Outlook 2015. OECD Publishing, Paris. Accessed Aug. 2015. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en). doi:10.1787/agr\_outlook-2015-en.
- Riccardi, R. R., E. B. Malheiros, and I. C. Boleli. 2011. Comparison of intestinal response of chicks from light and heavy eggs to posthatch fasting. *Int. J. Poult. Sci.* 10:23–29. doi:10.3923/ijps.2011.23.29

- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, S. L. T. Barreto, and R. F. Euclides. 2011. *Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais*, 3rd ed. Univ. Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil. (in Portuguese)
- SAS Institute. 2002. *SAS—Statistical Analysis System. Version 9.1*. SAS Institute, Cary, NC.
- Tazawa, H., H. Wakayama, J. S. Turner, and C. V. Paganelli. 1988. Metabolic compensation for gradual cooling in developing chick embryos. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 89:125–129. doi:10.1016/0300-9629(88)91068-7
- Tzschentke, B. 2008. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. *Comp. Electron. Agric.* 64:61–71. doi:10.1093/ps/86.5.1025
- van de Ven L. J. F., A. V. van Wagenberg, P. W. G. Groot Koerkamp, B. Kemp, and H. van den Brand. 2009. Effects of a combined hatching and brooding system on hatchability, chick weight, and mortality in broilers. *Poult. Sci.* 88:2273–2279. doi:10.3382/ps.2009-00112
- Walstra, I., J. ten Napel, B. Kemp, and van den Brand, H. 2010. Temperature manipulation during layer chick embryogenesis. *Poult. Sci.* 89:1502–1508. doi:10.3382/ps.2009-00568
- Wolfenson D. 1983. Blood flow through arteriovenous anastomoses and its thermal function in the laying hen. *J. Physiol.* 334:395–407. doi:10.1113/jphysiol.1983.sp014501
- Yalçın, S., P. Settar, S. Ozkan, and A. Cahaner. 1997. Comparative evaluation of three commercial broiler stocks in hot versus temperate climates. *Poult. Sci.* 76:921–929 doi:10.1093/ps/76.7.921

Yalçın, S., S. Özkan, L. Türkmüt, and P. B. Siegel. 2001. Responses to heat stress in commercial and local broiler stocks. 1. Performance traits. *Br. Poult. Sci.* 42:149–152. doi:10.1080/00071660120048375

Yahav, S., A. Straschnow, D. Luger, D. Shinder, J. Tanny, and S. Cohen. 2004. Ventilation, sensible heat loss, broiler energy, and water balance under harsh environmental conditions. *Poult. Sci.* 83:253–258. doi:10.1093/ps/83.2.253

**Table 1.** Thermal preference of broilers during the rearing period, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and incubation temperature (IT) during the fetal phase.

Treatments	Days of age					
	1 <sup>st</sup>	7 <sup>th</sup>	14 <sup>th</sup>	21 <sup>st</sup>	28 <sup>th</sup>	35 <sup>th</sup>
$D_{EP-H} \times IT$						
Short-37.5°C	32.50±0.53 <sup>b</sup>	28.37±1.50 <sup>c</sup>	27.12±0.83 <sup>c</sup>	25.87±0.35	24.87±0.35	23.25±0.46 <sup>c</sup>
Short -39°C	33.87±0.35 <sup>a</sup>	30.25±0.46 <sup>b</sup>	29.37±0.91 <sup>a</sup>	26.62±0.74	25.50±0.53	24.62±0.51 <sup>b</sup>
Long-37.5°C	33.75±0.70 <sup>a</sup>	31.12±0.35 <sup>a</sup>	28.25±0.46 <sup>b</sup>	26.12±0.64	25.12±0.35	24.87±0.35 <sup>b</sup>
Long-39°C	34.25±0.46 <sup>a</sup>	30.00±0.53 <sup>b</sup>	27.75±0.46 <sup>bc</sup>	27.62±0.74	26.00±0.00	25.50±0.53 <sup>a</sup>
$D_{EP-H}$						
Short	33.18±0.83	29.31±1.44	28.25±1.43	26.25±0.68 <sup>b</sup>	25.18±0.54 <sup>b</sup>	23.93±0.85
Long	34.00±0.63	30.56±0.72	28.00±0.51	26.87±1.02 <sup>a</sup>	25.56±0.51 <sup>a</sup>	25.18±0.54
IT						
37.5°C	33.12±0.88	29.75±1.77	27.68±0.87	26.00±0.51 <sup>b</sup>	25.00±0.36 <sup>b</sup>	24.06±0.93
39°C	34.06±0.44	30.12±0.50	28.56±1.09	27.12±0.88 <sup>a</sup>	25.75±0.45 <sup>a</sup>	25.06±0.68
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.0002	0.0003	0.3216	0.0101	0.0072	<0.0001
IT	<0.0001	0.2226	0.0015	<0.0001	<0.0001	<0.0001
$D_{EP-H} \times IT$	0.0270	<0.0001	<0.0001	0.1091	0.3423	0.0329
CV (%)	1.57	2.84	2.49	2.41	1.44	1.92

CV: coefficient of variation. a-b: means followed by distinct letters differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 2.** Rectal temperature before and after the thermal preference test of broilers, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.

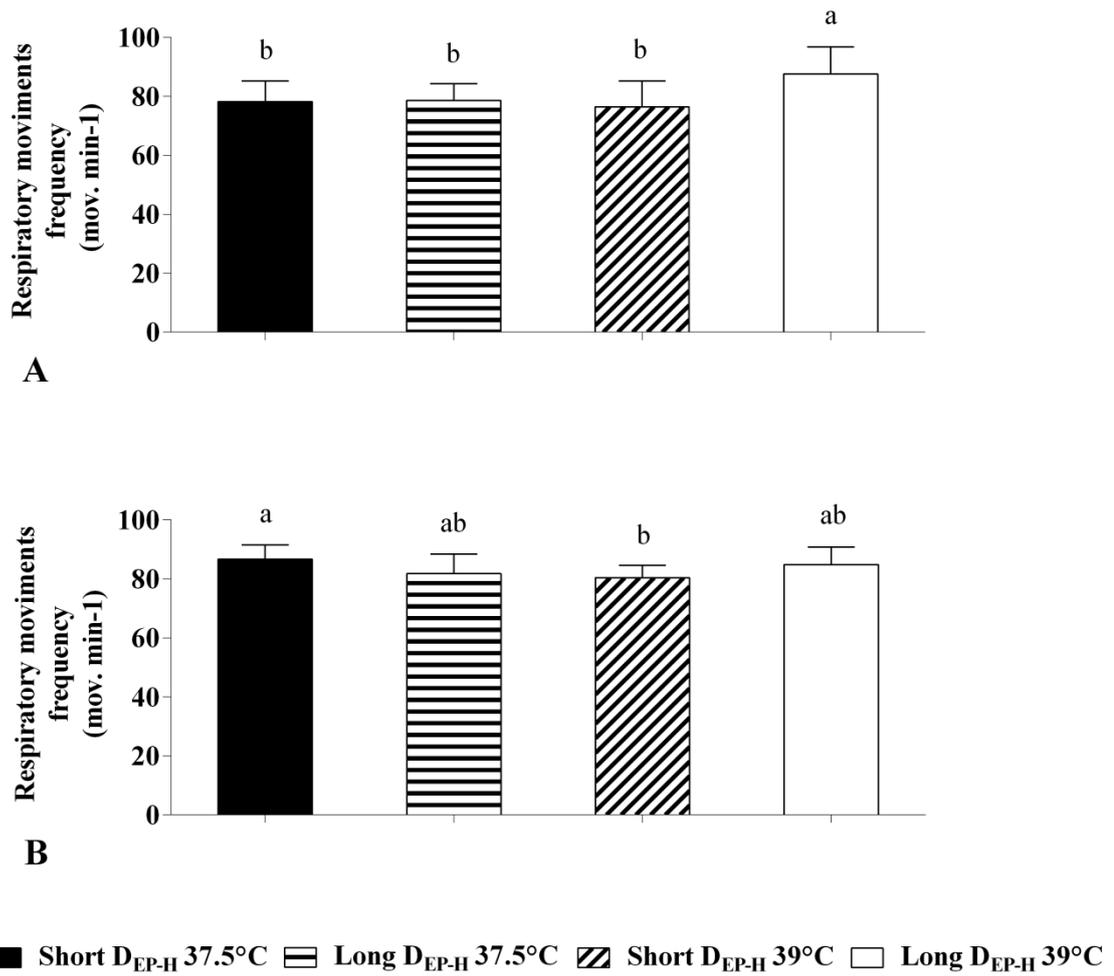
Treatments	Days of age					
	1 <sup>st</sup>	7 <sup>th</sup>	14 <sup>th</sup>	21 <sup>st</sup>	28 <sup>th</sup>	35 <sup>th</sup>
Before the Thermal Preference Tests						
$D_{EP-H}$						
Short	38.81±0.86	40.80±0.36	41.75±0.34	41.98±0.46	42.05±0.19	42.10±0.25
Long	38.66±0.70	40.85±0.21	41.66±0.40	41.90±0.47	41.98±0.23	42.05±0.18
IT						
37.5°C	39.34±0.50 <sup>a</sup>	40.86±0.25	41.88±0.40 <sup>a</sup>	41.93±0.38	41.96±0.26	42.02±0.16
39°C	38.13±0.47 <sup>b</sup>	40.79±0.33	41.52±0.22 <sup>b</sup>	41.95±0.53	42.06±0.12	42.13±0.26
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.3798	0.6476	0.4650	0.6618	0.3612	0.5829
IT	<0.0001	0.4939	0.0047	0.8839	0.2160	0.1880
$D_{EP-H} \times IT$	0.8045	0.9089	0.9165	0.9418	0.4539	0.9373
CV (%)	1.27	0.75	0.80	1.14	0.49	0.52
After the Thermal Preference Tests						
$D_{EP-H}$						
Short	40.09±0.47	40.68±0.41	41.23±0.34	41.71±0.41	41.53±0.30	41.46±0.23 <sup>b</sup>
Long	40.08±0.69	40.86±0.35	41.41±0.28	41.70±0.28	41.67±0.58	41.87±0.32 <sup>a</sup>
IT						
37.5°C	40.25±0.46	40.75±0.38	41.46±0.28 <sup>a</sup>	41.61±0.29	41.61±0.55	41.77±0.34 <sup>a</sup>
39°C	39.92±0.65	40.79±0.40	41.18±0.30 <sup>b</sup>	41.80±0.38	41.51±0.35	41.56±0.33 <sup>b</sup>
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.9507	0.2248	0.0602	0.9584	0.4222	0.0002
IT	0.1159	0.7922	0.0056	0.1144	0.8833	0.0419
$D_{EP-H} \times IT$	0.1300	0.6610	0.0782	0.0938	0.5583	0.7491
CV (%)	1.41	0.97	0.65	0.80	1.14	0.65

CV: coefficient of variation. a-b: means followed by distinct letters differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 3.** Respiratory movement frequency (mov. min<sup>-1</sup>) of broilers in the phases of the thermal challenge, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.

Treatments	Days of age					
	2 <sup>nd</sup>	8 <sup>th</sup>	15 <sup>th</sup>	22 <sup>nd</sup>	29 <sup>th</sup>	36 <sup>th</sup>
RM <sub>f</sub> at the preferred rearing temperature before thermal challenge						
$D_{EP-H}$						
Short	57.64±6.48	72.22±6.35	67.33±7.29	64.88±5.58	60.44±4.73	53.33±4.33
Long	56.00±3.88	72.47±4.87	62.88±6.40	66.22±5.59	61.77±8.14	52.44±4.52
IT						
37.5°C	56.66±5.53	70.88±5.27	66.00±8.70	65.55±5.51	61.55±6.15	52.44±4.09
39°C	56.94±5.20	73.88±5.67	64.22±5.21	65.55±4.78	60.66±7.16	53.33±4.75
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.3862	0.8627	0.0661	0.4366	0.5632	0.5595
IT	0.8905	0.1267	0.4522	1.0000	0.6995	0.5595
$D_{EP-H} \times IT$	0.1895	0.9540	0.8503	0.1249	1.0000	0.5595
CV (%)	9.36	7.80	10.76	7.74	11.20	8.54
RM <sub>f</sub> at the end of the thermal challenge						
$D_{EP-H}$						
Short	68.88±10.76	77.33±7.76	72.70±4.94 <sup>a</sup>	79.11±6.65	83.55±5.46	84.00±5.98
Long	65.33±11.31	83.11±8.73	69.25±4.05 <sup>b</sup>	76.88±8.51	83.33±6.32	82.88±4.71
IT						
37.5°C	68.66±11.58	78.44±6.15	70.66±5.78	77.11±7.23	84.22±6.20	81.11±4.29 <sup>b</sup>
39°C	65.55±10.55	82.00±10.47	71.33±3.94	78.88±8.09	82.66±5.48	85.77±5.35 <sup>a</sup>
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.3506	0.0337	0.0333	0.3971	0.9044	0.5011
IT	0.4133	0.1815	0.6099	0.4973	0.4031	0.0074
$D_{EP-H} \times IT$	0.9065	0.0488	0.3970	0.4973	0.0161	0.3479
CV (%)	16.77	9.73	6.49	9.95	6.60	5.87
RM <sub>f</sub> at the preferred rearing temperature after thermal challenge						
$D_{EP-H}$						
Short	58.11±6.34	68.22±7.93	65.11±4.90	64.00±3.62	59.77±5.21	54.00±5.00
Long	55.33±4.17	69.55±5.15	63.77±3.75	64.22±4.00	60.00±5.65	54.22±4.38
IT						
37.5°C	57.33±5.82	69.33±5.13	64.00±4.75	63.55±3.60	59.55±6.70	52.66±3.69
39°C	56.00±5.09	68.44±7.98	64.88±4.01	64.66±3.94	60.22±3.75	55.55±5.11
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.1458	0.5457	0.3725	0.8634	0.9059	0.8824
RT	0.4612	0.6866	0.5507	0.3923	0.7232	0.0615
$D_{EP-H} \times IT$	0.1458	0.0762	0.3725	0.3923	0.9059	0.1892
CV (%)	9.31	9.50	6.86	5.99	9.34	8.26

CV: coefficient of variation. a-b: means followed by distinct letters differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).



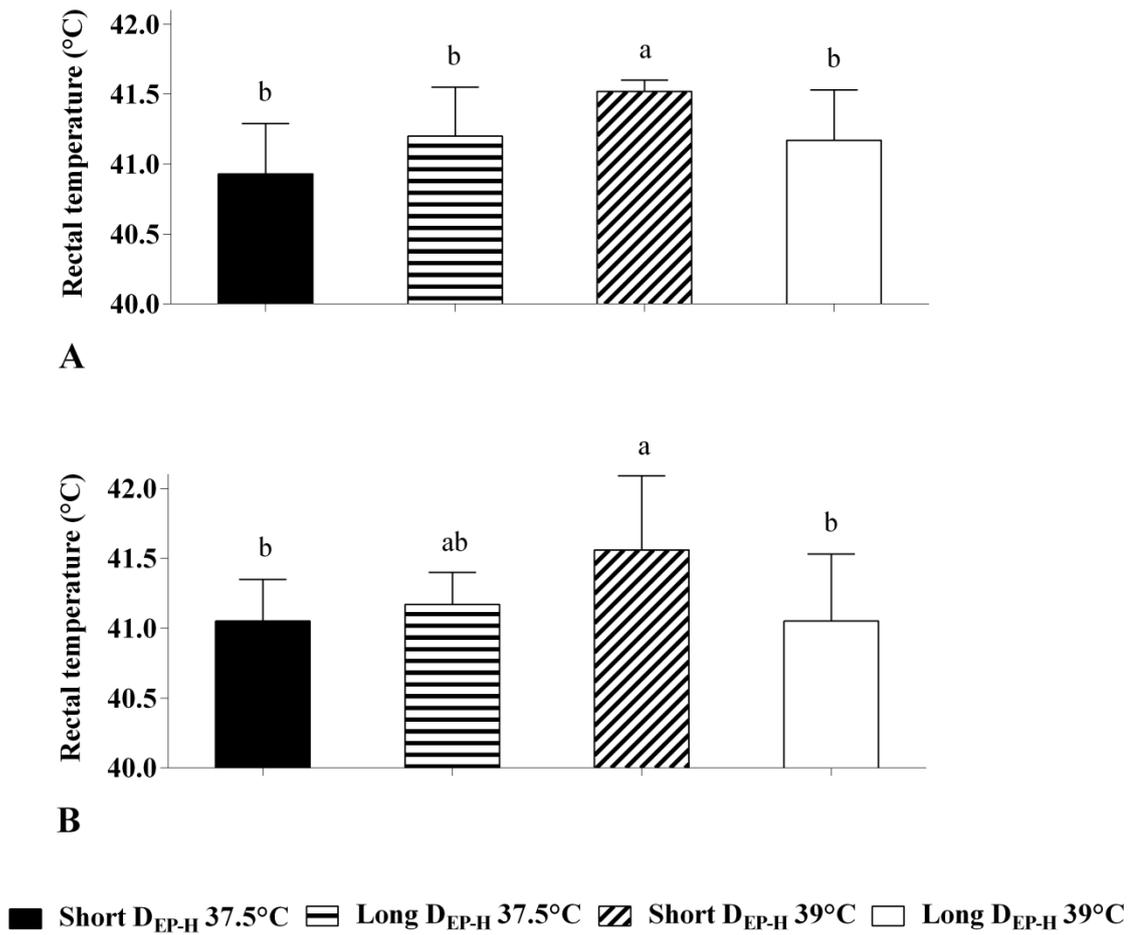
**Figure 1.**

Respiratory movement frequency ( $RM_f$ ) of broilers aged 8 (A) and 29 (B) days, at the end of the thermal challenge phase, with the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature during fetal phase. a-b: means with distinct letters differ significantly (Tukey test,  $P \leq 0.05$ ).

**Table 4.** Rectal temperature (RT) of broilers in the phases of the thermal challenge test, with duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase.

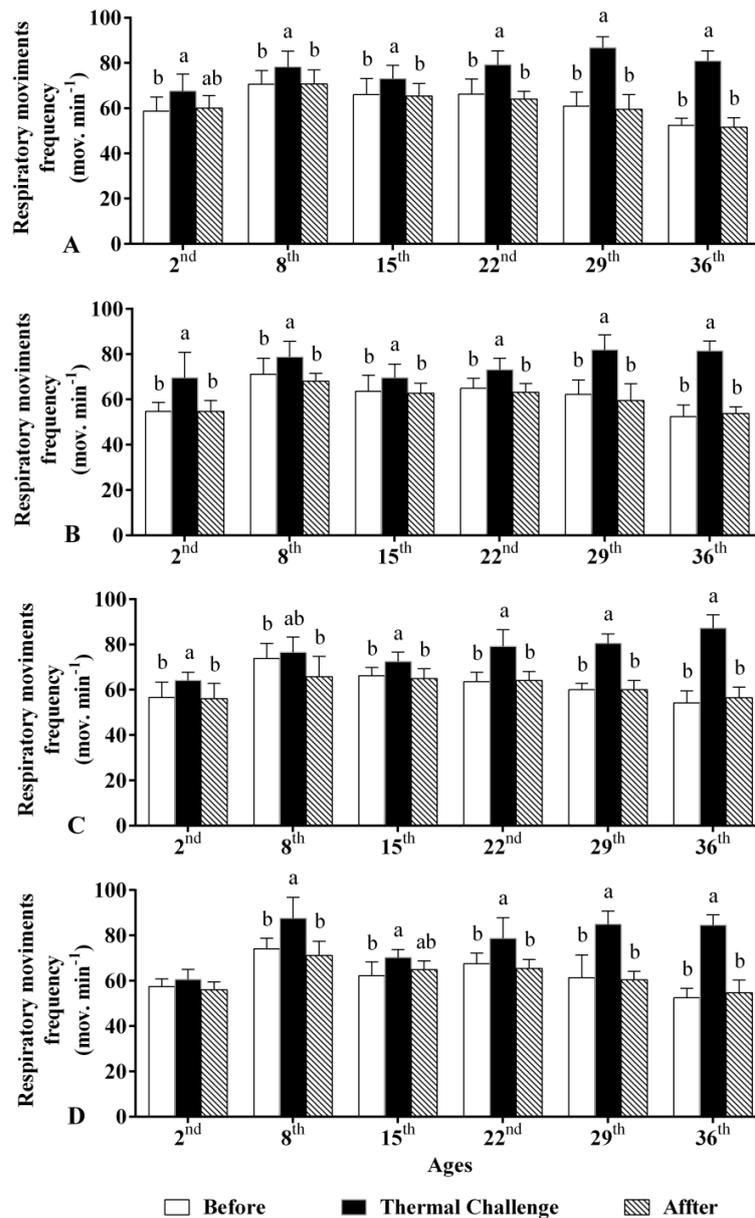
Treatments	Days of age					
	2 <sup>nd</sup>	8 <sup>th</sup>	15 <sup>th</sup>	22 <sup>nd</sup>	29 <sup>th</sup>	36 <sup>th</sup>
RT at preferred rearing temperature before thermal challenge (°C)						
$D_{EP-H}$						
Short	40.16±0.27	40.86±0.28	41.08±0.54	41.31±0.23	41.17±0.26	41.22±0.39
Long	40.10±0.43	40.86±0.13	41.03±0.40	41.21±0.32	41.01±0.30	41.18±0.34
IT						
37.5°C	40.00±0.37 <sup>b</sup>	40.88±0.19	40.95±0.42	41.25±0.23	41.06±0.32	41.06±0.37
39°C	40.26±0.29 <sup>a</sup>	40.84±0.25	41.16±0.50	41.27±0.33	41.12±0.27	41.35±0.31
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.6248	0.9860	0.7165	0.2910	0.0873	0.7125
IT	0.0240	0.5862	0.1736	0.8600	0.4856	0.0108
$D_{EP-H} \times IT$	0.2083	0.7649	0.0566	0.8711	0.1095	0.0063
CV (%)	0.84	0.56	1.10	0.69	0.69	0.76
RT at the end of the thermal challenge (°C)						
$D_{EP-H}$						
Short	40.35±0.20	40.82±0.27	41.31±0.49	41.44±0.24	41.16±0.36	41.32±0.41
Long	40.42±0.27	40.88±0.22	41.11±0.37	41.47±0.31	41.05±0.39	41.26±0.32
IT						
37.5°C	40.25±0.22 <sup>b</sup>	40.89±0.26	41.11±0.27	41.49±0.31	41.03±0.37	41.29±0.34
39°C	40.52±0.17 <sup>a</sup>	40.81±0.23	41.31±0.55	41.42±0.23	41.17±0.38	41.28±0.39
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.3277	0.4742	0.1622	0.6728	0.3688	0.6353
IT	0.0004	0.3308	0.1622	0.4453	0.2860	0.9655
$D_{EP-H} \times IT$	0.3277	0.5577	0.0263	0.4453	0.6363	0.8969
CV (%)	0.50	0.62	0.98	0.68	0.93	0.92
RT at the preferred reading temperature after thermal challenge (°C)						
$D_{EP-H}$						
Short	40.07±0.29	40.70±0.34	40.74±0.24	41.10±0.24	40.98±0.34	40.95±0.46
Long	40.15±0.30	40.71±0.32	40.71±0.31	40.97±0.38	40.92±0.33	40.95±0.37
IT						
37.5°C	40.10±0.28	40.75±0.29	40.76±0.27	41.16±0.28 <sup>b</sup>	40.93±0.32	41.03±0.32
39°C	40.12±0.32	40.66±0.36	40.69±0.29	40.91±0.31 <sup>a</sup>	40.97±0.35	40.86±0.48
<i>P</i> -value						
$D_{EP-H}$	0.3719	0.8837	0.7312	0.1994	0.6360	1.0000
IT	0.8532	0.4665	0.4932	0.0174	0.7762	0.2476
$D_{EP-H} \times IT$	0.3191	0.4098	0.6472	0.4502	0.7048	0.5344
CV (%)	0.75	0.83	0.70	0.73	0.85	1.03

CV: coefficient of variation. a-b: means followed by distinct letters differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).



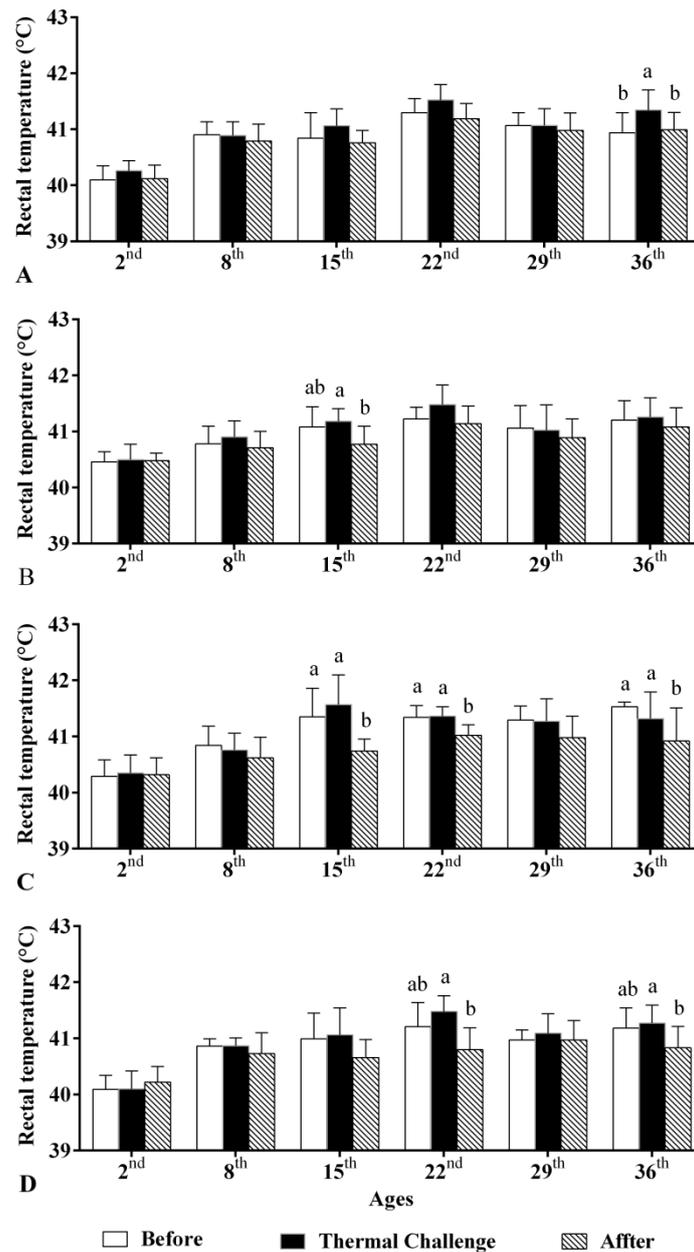
**Figure 2.**

Rectal temperature (RT) of broilers at the first (A) and at the thermal challenge (B) phases of the thermal challenge test, with the interaction amongst the duration of the hatching period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and the incubation temperature (IT) during the fetal phase. a-b: means with distinct letters differ significantly (Tukey test,  $P \leq 0.05$ ).



**Figure 3.**

Frequency of respiratory movements (RM<sub>f</sub>) of broilers from eggs incubated at 37.5 °C with short (A) and long (B) duration of hatching period between pipping external and actual hatching (D<sub>EP-H</sub>) and at 39 °C with short (C) and long D<sub>EP-H</sub> (D) obtained at the preferred temperature before thermal challenge, at thermal challenge, and after thermal challenge, according to age. a-b: different letters in each age indicate significant differences among means by Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).



**Figure 4.**

Rectal temperature of broilers from eggs incubated at 37.5 °C with short (A) and long (B) time period between external pipping and actual hatching ( $D_{EP-H}$ ) and at 39 °C with short (C) and long  $D_{EP-H}$  (D) obtained at the preferred temperature before thermal challenge, at thermal challenge, and at preferred temperature after thermal challenge, according to age. a-b: different letters in each age indicate significant differences among means by Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).

**Table 5.** Overall performance of broilers, according to the time period between external pipping and hatching ( $D_{EP-H}$ ) and incubation temperature during fetal phase (IT).

Treatments	Feed intake (g)	Weight gain (g)	Feed conversion (g/g)	Body weight (g)
$D_{EP-H}$				
Short	5404±225	2698±303 <sup>b</sup>	2.01±0.16 <sup>a</sup>	2721±326 <sup>b</sup>
Long	5436±168	2801±258 <sup>a</sup>	1.95±0.13 <sup>b</sup>	2824±280 <sup>a</sup>
IT				
37.5°C	5549±165 <sup>a</sup>	3008±118 <sup>a</sup>	1.84±0.63 <sup>b</sup>	3054±118 <sup>a</sup>
39°C	5296±140 <sup>b</sup>	2507±105 <sup>b</sup>	2.11±0.57 <sup>a</sup>	2506±104 <sup>b</sup>
<i>P</i> -value				
$D_{EP-H}$	0.5919	0.0113	0.0020	0.0113
IT	0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001
$D_{EP-H} \times IT$	0.2450	0.1428	0.1543	0.1431
CV (%)	2.84	3.55	2.58	3.53

CV: coefficient of variation. a-b: means followed by distinct columns differ significantly ( $P \leq 0.05$ ).

## **CAPÍTULO 5 – DURAÇÃO DO PERÍODO DE ECLOSÃO E A TEMPERATURA DE CRIAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE FRANGO**

**RESUMO** – No presente estudo analisou se a duração do período entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ , curto e longo Cap 2), e a temperatura de criação (recomendada para a linhagem e preferida pelas aves no teste de preferência Cap 4) interferem no desempenho, rendimento e qualidade de carne de frangos de corte. Frangos com curta e longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem apresentaram peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar similares aos 42 dias de idade; independente da temperatura de criação (TC) frangos com longa  $D_{BE-SC}$  consumiram menos ração do que os frangos com curta  $D_{BE-SC}$  o que resultou em menor ganho de peso e peso corporal aos 42 dias de idade. O melhor desempenho dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  sob temperatura de preferência resultou em maior peso do peito do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  também criados na preferência térmica. A perda por cocção, força de cisalhamento, pH, índices  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e tamanho das fibras musculares da carne do peito dos frangos não foram influenciadas pela  $D_{BE-SC}$  e TC, contudo, a capacidade de retenção de água foi menor nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na mesma condição térmica e do que nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura de preferência. No que se refere à qualidade da carne da sobrecoxa entre frangos com a mesma  $D_{BE-SC}$  criados em temperaturas diferentes, verifica-se aumento da rigidez e diminuição da maciez da carne dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  quando estes são criados na temperatura de preferência. Os dados do estudo mostram que duração do período de eclosão interfere no desempenho, rendimento de carcaça e cortes, e na qualidade da carne do peito e sobrecoxa dos frangos.

**Palavras-chave:** incubação, desempenho, preferência térmica, rendimento de carcaça, músculo

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a seleção genética dos frangos de corte tem preconizado o desenvolvimento muscular de crescimento rápido sem considerar que isso geraria maior quantidade de calor metabólico, impondo às aves a necessidade de melhorar o sistema de perda de calor, para que tenham condições de manter a temperatura corporal. A dificuldade de perder calor metabólico resultante da alta taxa de crescimento diminui o desempenho e aumenta a taxa de mortalidade dos frangos expostos ao calor, podendo, em casos extremos, chegar a 100% de perdas, causando prejuízos econômicos irreparáveis (Sandercock et al., 2001; St-Pierre et al., 2003). Exposição ao calor na criação também altera a qualidade da carne dos frangos, afetando pH, cor, textura, suculência (Petracci et al., 2004; Yalçin et al., 2005; AKSIT et al., 2006; Lovau et al., 2014).

Manipulação das condições térmicas de incubação tem sido analisada para induzir adaptação epigenética nos pintos, de modo que estes apresentem maior tolerância ao calor durante o período de criação, o que envolve alterações na termossensibilidade neuronal no hipotálamo, nos mecanismos de termorregulação periféricos, no limiar de resposta termorreguladora e o metabolismo das aves (Tzschentke; Plagemann, 2006; Tzschentke, 2007; Piestun et al., 2008a, 2011; Yahav, 2009). Vários estudos têm se dedicado a determinar janelas no desenvolvimento embrionário e/ou fetal das aves, durante as quais a indução de termotolerância ao calor possa ser induzida por manipulação térmica da incubação. Tais grupos, contudo, utilizam manipulações térmicas distintas quanto à duração, intensidade e período de aplicação do estresse por calor e/ou frio (Decuypere, 1984; Tzschentke; Nichelmann 1997, Tzschentke et al., 2001; Janke et al., 2002; Tzschentke; Basta, 2002; Yahav et al., 2004a, b; Piestun et al., 2008a, b, 2014). Outros estudos associam temperatura de incubação com injeção de anti-estressores in ovo (Ferreira et al., 2015).

A temperatura de incubação, contudo, altera a duração total do período de incubação (Wilson, 1991; Morita et al., 2009; Halle; Tzschentke, 2011; Willemsen et al., 2011) e, conseqüentemente, a janela de eclosão, fator importante na prática de incubação, já que determina o tempo de jejum hídrico e alimentar dos pintos entre eclosão e o alojamento e, por conseguinte, sua qualidade e desempenho (Halevy et al., 2000; Nichelmann; Tzschentke, 2003; Tzschentke, 2008; Riccardi et al., 2010). No caso de pintos de corte, sob incubação à 37,5-37,8°C e 60% de umidade relativa, a janela de eclosão foi de 30 horas, considerando-se 21 dias de incubação (Vieira; Pophal, 2000; Morita et al., 2010). Em estudos prévios, nós

verificamos que o efeito da temperatura de incubação sobre a janela de eclosão está relacionada com o tempo que os pintos demoram para eclodir e não com a duração do desenvolvimento embrionário + fetal (Matos Junior et al., em preparo) e que a duração do período de eclosão, associada ou não com alteração da temperatura de incubação, afeta a preferência térmica dos frangos ao longo da criação (Morita et al., aprovado; Matos Junior Cap 2).

Embora haja grande interesse por parte das empresas (incubatórios) em estabelecer novos manejos de incubação que propiciem a redução da janela de eclosão, faltam estudos analisando o efeito dos fatores determinantes da janela de eclosão sobre a temperatura de criação, desempenho e qualidade da carne de frangos pós-eclosão. Assim, no presente estudo analisa se a duração do período entre a bicagem externa e a saída da casca associada ou não com alta temperatura de incubação na fase fetal (a partir do 13º dia) interfere no desempenho, rendimento, qualidade da carne de frangos de corte criados sob as temperaturas recomendadas para a linhagem e nas temperaturas de preferência.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo experimental do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (protocolo nº 022383/12, 08/11/2012), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal.

### **Condução experimental**

O delineamento experimental seguiu um fatorial 2x2, que consistiu de 2 durações do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca (curto: 6-10 horas, longo: 20-26 horas) e 2 temperaturas de criação (recomendas para a linhagem, de acordo com o Manual de Manejo (Cobb®, 2013) e preferidas pelas aves, determinadas em experimento de preferência térmica por Matos Junior et al., submetido). Para isso, 1.130 ovos férteis de matrizes de frangos de corte (Cobb®-500) com 56 semanas de idade, provenientes de incubatório comercial (Globo Aves, Itirapina-SP), foram distribuídos homogeneamente pelos pesos (65-70g) em 10 incubadoras horizontais (Premium Ecológica, IP120) (N=113 ovos/incubadora), com controle automático de temperatura e giro à cada 2 horas. As incubadoras foram mantidas à 37,5°C e 60% de UR durante todo o período de incubação (504 horas) e a viragem dos ovos desligada a partir do 18º dia de incubação. Para determinação da duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca (curto e longo), os ovos foram observados à

cada 30 minutos a partir do 19º dia de incubação, anotando-se o dia e horário da bicagem externa e da saída da casca em cada ovo.

Após a eclosão, 352 pintos machos foram distribuídos pelo peso corporal em três câmaras climáticas com controle automático do período de luz (claro:escuro = 22h/2h) e de temperatura ambiente. Uma das câmaras foi mantida ao longo da criação nas temperaturas recomendadas para a linhagem com curta e longa  $D_{BE-SC}$ , outra nas temperaturas preferidas pelas aves com curto período de eclosão e a terceira nas temperaturas preferidas pelas aves com longo período de eclosão. Em tais câmaras foram alojados 16 repetições de 11 aves (8 repetições de aves com curta e 8 repetições com longa duração entre bicagem externa e saída da casca). As temperaturas das câmaras climáticas ao longo da criação constam da Tabela 1. Os pintos foram vacinados contra doença de Marek e Bouda Aviária, Gumboro e Newcastle, de acordo com o programa de vacinação da linhagem.

Durante todo o período de criação, as aves receberam água e ração *ad libitum*. As rações utilizadas foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) (Tabela 2), para as fases inicial (1 a 21 dias de idade) e de crescimento (22 a 42 dias de idade).

**Tabela 1** – Temperatura média de criação, de acordo com o tratamento e semana de criação.

Semanas	Temperatura ambiente (°C)		
	Curto $D_{BE-SC}-TP^1$	Longo $D_{BE-SC}-TP^1$	Curto e Longo $D_{BE-SC}-TR^2$
1º	32.16±0.57	34.13±0.65	33.08±0.53
2º	28.02±0.79	31.16±0.53	29.12±0.60
3º	27.04±0.81	28.14±0.40	28.03±0.72
4º	26.15±0.33	26.05±0.47	26.01±0.55
5º	25.11±0.74	25.11±0.54	25.15±0.71
6º	23.05±0.53	25.15±0.62	24.04±0.61

<sup>1</sup>Curto  $D_{BE-SC}-TP$  e Longo  $D_{BE-SC}-TP$ : curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), respectivamente. <sup>2</sup>Curto  $D_{BE-SC}-TR$  e Longo  $D_{BE-SC}-TR$ : curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013).

**Tabela 2** – Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de criação.

Ingredientes (%)	1-21 dias (Inicial)	22-42 dias (Crescimento)
Milho	60,83	63,74
Farelo de soja 45%	35,15	29,79
Óleo soja	-	3,12
Fosfato bicálcico	1,63	1,16
Calcário	0,84	0,76
Sal	0,42	0,44
L-Lisina HCL (78%)	0,25	0,21
DL-Metionina (99%)	0,29	0,23
L-Treonina	0,08	0,04
BHT	0,01	0,01
Premix vitamínico e mineral*	0,50	0,50
TOTAL	100,00	100,00
Composição nutricional calculada (na material natural)		
Proteína bruta (%)	21,27	18,86
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.883	3.121
Ca (%)	0,85	0,69
Na (%)	0,19	0,20
Fósforo disponível (%)	0,42	0,32
Metionina + cistina dig. (%)	0,88	0,77
Metionina dig. (%)	0,56	0,49
Lisina dig. (%)	1,22	1,05
Treonina dig. (%)	0,79	0,68
Triptofano dig. (%)	0,24	0,21
Arginina dig. (%)	1,32	1,16

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

## **Desempenho**

Foram analisados o consumo de ração, o peso corporal médio, o ganho de peso, e a conversão alimentar semanais e no período total de criação (1-42 dias de idade). O peso corporal das aves foi determinado a partir do peso médio por repetição. O consumo de ração foi estabelecido por repetição, pela diferença entre o peso da ração fornecida e da ração não ingerida. O ganho de peso correspondeu à diferença entre o peso corporal no início e final da semana. A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo de ração pelo ganho de peso (g/g).

## **Rendimento de carcaça e partes**

Aos 42 dias de idade, 16 aves/tratamento, com peso corporal próximo ao peso médio da respectiva repetição (2 aves/repetição), foram utilizadas nas análises de rendimento, totalizando 60 aves. Para isso, as aves foram identificadas individualmente por anilhas e mantidas sob jejum de ração por oito horas. Em seguida, elas foram sacrificadas utilizando-se eletroinsensibilização, seguido de sangria. Após a retirada das penas e das vísceras, foi realizada a pesagem das carcaças, as quais foram submetidas a cortes para avaliação do rendimento de carcaça (sem cabeça e pés), peito, coxa + sobrecoxa, asas e dorso. O rendimento de carcaça e partes foi calculado em relação ao peso vivo individual de cada ave, obtido imediatamente antes do abate.

## **Qualidade de carne**

Para a análise de qualidade da carne do peito (músculo *Pectoralis major*) e da sobrecoxa (músculo *Sartorius*), 16 aves/tratamento com 42 dias de idade (2 aves/repetição) e com o peso médio da respectiva repetição foram sacrificadas por eletroinsensibilização seguida de sangria. As análises de qualidade de carne foram realizadas 24 h pós-morte. Antes do abate, os frangos não foram alimentados durante 8 h. O pH foi determinado pela inserção de um eléctrodo diretamente na carne, utilizando um medidor de pH digital (Testo, modelo Testo-106, Lenzkirch, Alemanha). A cor da carne foi determinada na porção interna do músculo e ao longo da coxa, usando equipamento medidor de cromo CR-300 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japão) e o sistema tricromático CIELAB, que determina os valores da luminosidade (L\*), vermelhidão (a\*), e amarelecimento (b\*) da carne. A capacidade de retenção de água foi determinada em amostras com 2g, as quais foram pressionadas com um

peso de 10 kg por 5 minutos à 25°C. A capacidade de retenção de água (%) foi calculada pela diferença entre o peso das amostras antes e depois da compressão multiplicada por 100, cujo produto foi dividido pelo peso da amostra antes da compressão (Grau e Hamm, 1952). Para determinar as perdas por cozimento, as amostras foram colocadas em sacos plásticos e cozidas em banho-maria à 85°C durante 30 minutos, com temperatura interna final das amostras entre 75 à 80°C. Depois da liberação da água exsudada e do arrefecimento para atingir a temperatura ambiente, as amostras foram novamente pesadas e a perda por cocção calculada e expressa em porcentagem em relação ao peso inicial (Cason et al., 1997). Warner-Bratzler a força de cisalhamento foi determinada nas amostras submetidas anteriormente às análises de perda por cocção, usando um analisador de textura TAXT2i (Godalming, Surrey, Reino Unido), e expressa em quilogramas por centímetro quadrado (Lyon et al., 1998).

### **Morfometria das fibras musculares**

Aos 42 dias de idade, 10 aves/tratamento, com peso médio da respectiva repetição, foram sacrificadas por eletrosensibilização seguida de sangria para rápida remoção dos músculos *Peitoral major* (branco) e *Sartorius* (misto). Em seguida, amostras (3 x 1 x 0,6 cm) retiradas da região da *pars sternobrachialis* dos músculos peitorais e os músculos *Sartorius* foram congeladas em *n*-hexano resfriado em nitrogênio líquido, e mantidos em freezer -70°C até seu processamento histoquímico e imunoistoquímico. Cortes de congelamento transversais e semis-seriados, com 8-12µm de espessura, foram obtidos em criostato à -20°C e submetidos à técnica histoquímica de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Tetrazólio Redutase (NADH-TR) e imunoistoquímica indireta para marcação de fibras de contração lenta, possibilitando a identificação dos três tipos de fibras: fibras de contração lenta oxidativas (SO), fibras de contração rápida oxidativa-glicolíticas (FOG) e fibras de contração rápida e glicolíticas (FG).

Para o processamento histoquímico pela técnica NADH-TR, os cortes foram mantidos à temperatura ambiente por 30 min para secagem e fixação na lâmina histológica. Depois, seguindo o método descrito por Dubowitz e Brooke (1984), os cortes foram incubados com solução contendo NADH (forma reduzida: 0,08%) e nitro azul de tetrazólio (0,1%) (Sigma, St. Louis, MO) em tampão Tris-HCL 0,2M pH 7,4 durante 40 minutos à 37°C. Em seguida, os cortes foram lavados com água destilada (3 x 5 min), fixado em 5% de formol tamponado e pH 7,0 por 5 minutos e lavados novamente com água destilada (3 vezes). Eles foram, então, desidratados em série de concentração crescente de etanol (60, 70, 80, 90 e 100%),

diafanizados em xilol (100%) e montados com Entellan. As fibras SO, FOG e FG foram identificadas pela coloração escura, intermediária e clara, respectivamente.

Para o processamento imunistoquímico, o procedimento geral de D'Ángelis et al. (2005) foi seguido. Cortes semi-seriados transversais, de 8µm de espessura, obtidos da mesma amostra utilizada para as análises histoquímicas, foram submetidos ao método imunistoquímico indireto (peroxidase anti-peroxidase) para a marcação de fibras contendo miosina de contração lenta. Inicialmente, os cortes permaneceram durante 30 minutos à temperatura ambiente para a secagem e aderência às lâminas histológicas. Em seguida, eles foram fixados em formalina 3,5% por 30 minutos, lavados em tampão fosfato 0,1M (pH 7,2; 2 x 2 minutos cada) e incubados com 3% de peróxido de hidrogênio em metanol, por 5 minutos, para realização do bloqueio de peroxidases endógenas. Os cortes foram lavados novamente com tampão fosfato e incubados com soro inespecífico de coelho (1:50 em tampão fosfato) durante 30 minutos em câmara úmida à 4°C, para controle do "background". Posteriormente, os cortes incubados com anticorpo primário monoclonal anti-miosina de contração lenta produzido em camundongo (NOQ7.5.4D, Sigma, St. Louis, MO) por 150 min em câmara úmida à 4°C. Novamente, os cortes foram lavados com tampão fosfato (2 x 4 min cada, sob agitação suave) e, em seguida, incubados com anticorpo secundário conjugado com peroxidase cabra anti-IgG de camundongo (1:1000 em tampão fosfato) (Sigma, St. Louis, MO) durante 90 min em câmara úmida à 4°C. Uma nova lavagem com tampão fosfato foi então realizada (2 x 4 min cada). Os complexos antígeno-anticorpo foram revelados por incubação dos cortes com diaminobenzidina (0,2 mg/1,5 mL de 3,3'-diaminobenzidina por tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) (Sigma, St. Louis, MO) à temperatura ambiente, contendo 2 a 3 gotas de peróxido de hidrogênio. A intensidade da coloração foi controlada visualmente e a revelação bloqueada com a lavagem dos cortes com o tampão fosfato. Posteriormente, os cortes foram desidratados em série de concentração crescente de etanol (60, 70, 80, 90 e 100%), diafanizados (xilol 100%) e montados com Entellan. As fibras de contração lenta apresentaram coloração dourada com o uso do anticorpo anti-miosina de contração lenta, enquanto que as fibras de contração rápida não foram marcadas. O controle negativo da reação antígeno-anticorpo foi realizada omitindo-se a incubação com anticorpo primário.

### Análises estatísticas

Os dados de todas as variáveis foram analisados quanto aos efeitos da duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ ), temperatura de criação (TC) e interação entre ambos ( $D_{BE-SC} \times TC$ ), usando modelo experimental:  $Y_{ijk} = \mu + (D_{BE-SC})_i + TC_j + (D_{BE-SC} \times TC)_{ij} + e_{ijk}$ . Os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM do programa SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 2002). em caso de diferença significativa, foi aplicado o teste de Tukey (5%), para comparação de médias.

## RESULTADOS

### Desempenho

A Tabela 3 mostra os dados do consumo de ração, do ganho de peso e da conversão alimentar semanais e no período total de criação (1-42 dias de idade). O consumo de ração foi influenciado ( $P \leq 0,05$ ) pela duração da eclosão entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC), mas apenas na 6ª semana de criação, quando foi menor nas aves com longa  $D_{BE-SC}$  e nas criadas sob TC de preferência; todavia, não ocorreu interação entre ambos. O consumo total de ração (1-42 dias) foi afetado apenas pela  $D_{BE-SC}$  ( $P \leq 0,05$ ), sendo que aves com longa  $D_{BE-SC}$  consumiram menos ração. No que se refere ao ganho de peso e conversão alimentar, houve interação entre  $D_{BE-SC}$  e TC ( $P \leq 0,05$ ) para ganho de peso na 6ª semana e ganho de peso total (1-42d) e para conversão alimentar na 5ª semana. Como mostrado na Tabela 4, frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida apresentaram menor ganho de peso na 6ª semana e de 1-42 dias do que os frangos dos demais tratamentos. Frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida apresentaram menor conversão alimentar que os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e os com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada. Além disso, não houve diferença ( $P > 0,05$ ) na conversão alimentar dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada em comparação com os frangos dos outros tratamentos.

Referente ao peso corporal das aves, houve interação significativa entre  $D_{BE-SC}$  e TC apenas aos 42 dias de idade ( $P \leq 0,05$ ), no qual frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na

temperatura preferida apresentaram menor peso corporal que os frangos dos demais tratamentos (Figura 1).

**Tabela 3**– Desempenho de frangos de corte, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC).

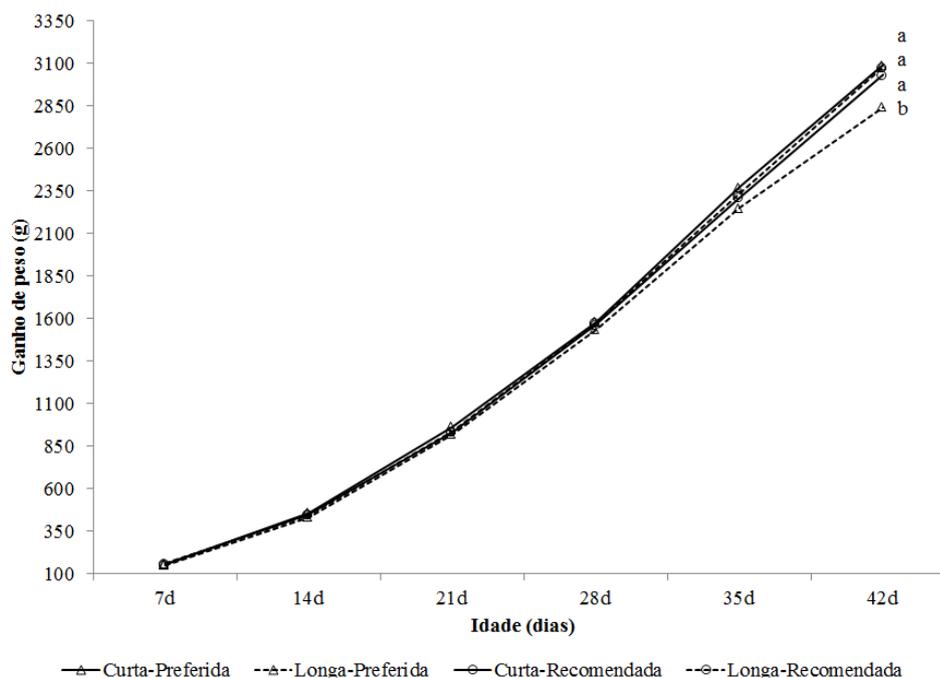
Tratamento <sup>1</sup>	1 semana	2 semana	3 semana	4 semana	5 semana	6 semana	Total
Consumo de ração (g)							
$D_{BE-SC}$							
Curto	127	421	671	1442	1490	1414	5568
Longo	138	398	684	1408	1477	1296	5393
TC							
Preferida	137	404	676	1419	1486	1262	5387
Recomendada	130	412	680	1426	1479	1431	5549
<i>P</i> -valor							
$D_{BE-SC}$	0.2676	0.1120	0.4679	0.2249	0.5823	0.0203	0.0208
TR	0.4553	0.7194	0.8964	0.8404	0.7029	0.0031	0.0552
$D_{BE-SC} \times TC$	0.6327	0.0997	0.5092	0.6487	0.6454	0.0920	0.0652
SEM	13.17	14.23	10.88	43.07	28.81	67.89	97.00
Ganho de peso acumulado (g)							
$D_{BE-SC}$							
Curto	115	293	493	621	769	718	3011
Longo	111	282	487	625	752	664	2909
TC							
Preferida	109	289	494	612	766	643	2898
Recomendada	115	285	485	634	754	731	3008
<i>P</i> -valor							
$D_{BE-SC}$	0.2140	0.1187	0.7100	0.8546	0.3285	0.1030	0.0703
TR	0.0827	0.4336	0.5236	0.2950	0.3740	0.0231	0.1155
$D_{BE-SC} \times TC$	0.6171	0.1603	0.4482	0.8532	0.1025	0.0226	0.0113
SEM	6.30	6.17	7.85	16.26	20.69	12.40	46.39
Conversão alimentar (g/g)							
$D_{BE-SC}$							
Curto	1.11	1.44	1.36	2.32	1.94	1.96	1.84
Longo	1.24	1.41	1.39	2.27	1.97	2.01	1.85
TC							
Preferida	1.25	1.39	1.34	2.33	1.95	2.03	1.86
Recomendada	1.12	1.44	1.41	2.26	1.96	1.96	1.84
<i>P</i> -valor							
$D_{BE-SC}$	0.1348	0.5052	0.5904	0.5901	0.2488	0.7400	0.7216
TR	0.1260	0.3416	0.1652	0.3890	0.5464	0.7350	0.7216
$D_{BE-SC} \times TC$	0.7200	0.4997	0.6147	0.9078	0.0249	0.3040	0.0994
SEM	0.13	0.04	0.01	0.07	0.02	0.07	0.02

<sup>1</sup>Curto e Longo: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo) e a temperature recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013).

**Tabela 4-** Interação entre a duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC) para ganho de peso na 6ª semana e de 1-42 dias e conversão alimentar na 5ª semana

Variables	Curto $D_{BE-SC}-TP^1$	Longo $D_{BE-SC}-TP^1$	Curto $D_{BE-SC}-TR^2$	Longo $D_{BE-SC}-TR^2$	P-valor
Ganho de peso na sexta semana (g)	718a	587b	718a	742a	0.0075
Ganho de peso acumulado total (g)	3042a	2790b	2981a	3027a	0.0032
Conversão alimentar quinta semana (g/g)	1.89b	2.00a	1.98a	1.95ab	0.0201

<sup>1</sup>Curto  $D_{BE-SC}-TP$  e Longo  $D_{BE-SC}-TP$ : curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), respectivamente. <sup>2</sup>Curto  $D_{BE-SC}-TR$  e Longo  $D_{BE-SC}-TR$ : curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013).



**Figura 1** – Peso corporal de frangos, de acordo com duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação.

### Rendimento de carcaça e partes

A Tabela 5 mostra que não ocorreu efeito ( $P > 0,05$ ) dos tratamentos sobre o peso corporal vivo e o peso das asas, do fígado e do coração. O peso relativo da carcaça foi influenciado pela  $D_{BE-SC}$ , sendo maior nos frangos com curta do que com longa  $D_{BE-SC}$  ( $P \leq 0,05$ ). No que se refere à coxa+sobrecoxa, ocorreu efeito ( $P \leq 0,05$ ) apenas da  $D_{BE-SC}$  e sobre seu peso relativo, que foi maior nos frangos com curta do que com longa  $D_{BE-SC}$ . Ocorreu interação significativa entre  $D_{BE-SC}$  e TC sobre os pesos absoluto e relativo do peito e sobre o peso relativo do dorso. De acordo com a interação (Tabela 6), o peso absoluto do peito foi maior nos frangos com curta do que nos com longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida, mas não houve diferença no peso do peito entre os frangos desses dois tratamentos e os frangos dos outros dois tratamentos. O peso relativo do peito foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida do que nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada, mas não houve diferença no peso registrado para esses tratamentos em comparação com os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e na temperatura recomendada. O peso relativo do dorso foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$

criados na temperatura recomendada do que nos frangos dos outros tratamentos, que não diferiram entre si.

**Tabela 5** – Rendimento de carne de frangos de corte com 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura criação (TC).

Tratamentos		$D_{BE-SC}$		TC <sup>2</sup>		SEM	P-valor		
		Curto <sup>1</sup>	Longo <sup>1</sup>	Preferida	Recomendada		$D_{BE-SC}$	CT	$D_{BE-SC} \times TC$
Variáveis									
Peso Corporal	(g)	3053	2961	3040	2973	56.79	0.1149	0.2386	0.0532
Peso Carcaça	(g)	2430a	2318b	2379	2369	34.60	0.0226	0.7746	0.1266
	(%)	80.18a	77.93b	78.68	79.43	1.02	0.0121	0.4911	0.6556
Coxa e sobre-coxa	(g)	634	633	629	638	17.82	0.9293	0.5618	0.4169
	(%)	26.30b	27.00a	26.70	26.60	0.38	0.0403	0.8686	0.1350
Asas	(g)	231	227	228	230	5.52	0.4296	0.6800	0.2021
	(%)	9.53	9.75	9.61	9.67	0.14	0.0726	0.5856	0.3309
Fígado	(g)	49	47	46	49	1.81	0.4296	0.1109	0.2936
	(%)	2.00	1.98	1.94	2.03	0.08	0.8773	0.2503	0.4900
Coração	(g)	16	16	15	16	0.55	0.9831	0.1986	0.9492
	(%)	0.64	0.66	0.63	0.67	0.02	0.4126	0.2039	0.4525
Peito	(g)	947	924	935	936	30.21	0.3932	0.9889	0.0481
	(%)	39.45	39.41	39.75	39.14	0.59	0.7704	0.2160	0.0173
Dorso	(g)	571	538	545	563	18.40	0.0559	0.2827	0.5589
	(%)	23.94	23.04	23.35	23.58	0.26	0.0247	0.5195	0.0170

<sup>1</sup>Curto e Longo: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca. <sup>2</sup>Temperatura de criação preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), e temperature recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013).

**Tabela 6** - Interação entre duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação para peso do peito e dorso de frangos com 42 dias de idade

Variables	Curto D <sub>BE-SC</sub> -TP <sup>1</sup>	Long D <sub>BE-SC</sub> -TP <sup>1</sup>	Curto D <sub>BE-SC</sub> -TR <sup>2</sup>	Longa D <sub>BE-SC</sub> -TR <sup>2</sup>	<i>P</i> -valor
Peito (g)	976a	896b	919ab	952ab	0.0482
(%)	40a	39ab	38b	39ab	0.0137
Dorso (%)	23b	23b	24a	22b	0.0355

<sup>1</sup>Curto D<sub>BE-SC</sub>-TP e Longo D<sub>BE-SC</sub>-TP: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), respectivamente. <sup>2</sup>Curto D<sub>BE-SC</sub>-TR e Longo D<sub>BE-SC</sub>-TR: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013).

### Qualidade da carne do peito

Como mostrado na Tabela 7, a perda por cocção, a força de cisalhamento, o pH, os índices de luminosidade ( $L^*$ ) e cor ( $a^*$ ,  $b^*$ ), e a área em corte transversal das fibras de contração rápida e glicolíticas não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos. Houve interação significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre  $D_{BE-SC}$  e TC para a capacidade de perda de água, a qual foi menor nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada do que nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e nos com longa  $D_{BE-SC}$  criados em temperatura recomendada. Adicionalmente, não ocorreu diferença na capacidade de perda de água dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida em comparação com os frangos dos outros tratamentos (curta  $D_{BE-SC-TC}$  preferida, longa  $D_{BE-SC-TC}$  preferida, curta  $D_{BE-SC-TC}$  recomendada, longa  $D_{BE-SC-TC}$  recomendada:  $36.94 \pm 1.17a$ ;  $35.80 \pm 2.13ab$ ;  $35.27 \pm 2.41b$ ;  $36.94 \pm 2.15a$ ; respectivamente,  $P < 0.001$ ).

**Tabela 7** - Qualidade da carne, e área da secção transversal das fibras do músculo do peito de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC).

Variables	$D_{BE-SC}$		TC		SEM	<i>P</i> -valor		
	Curto <sup>1</sup>	Longo <sup>1</sup>	Preferida <sup>2</sup>	Recomendada <sup>2</sup>		$D_{BE-SC}$	TC	$D_{BE-SC} \times TR$
Perdas por cocção (%)	26.64	26.30	26.39	26.54	0.12	0.5428	0.7745	0.6341
Força de cisalhamento (kgf cm <sup>-2</sup> )	1.32	1.27	1.23	1.37	0.09	0.5374	0.1459	0.0675
pH	6.00	6.02	6.03	5.99	0.03	0.5741	0.3830	0.3416
Capacidade de perda de água (%)	36.11	36.37	36.37	36.10	0.30	0.6155	0.6075	0.0100
Índices de cores	L*	55.42	54.79	55.37	0.78	0.4405	0.5223	0.1798
	a*	2.70	2.52	2.74	0.53	0.6929	0.5571	0.8192
	b*	4.41	4.15	4.41	0.32	0.5847	0.5679	0.6073
FG <sup>5</sup> (µm <sup>2</sup> )	6.82	6.72	6.65	6.87	0.31	0.6650	0.4380	0.3011

<sup>1</sup>Curto e Longo: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo). <sup>2</sup>Temperature recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013). a\*: teor de vermelho. b\*: teor de amarelo. L\*: luminosidade. FG: fibras glicolíticas rápidas.

### Qualidade da Carne da sobrecoxa

Como mostrado na Tabela 8, o índice de luminosidade ( $L^*$ ) não foi influenciado ( $P>0.05$ ) pelos tratamentos, o índice de cor ( $a^*$ ) foi afetado apenas pela TC, sendo maior nos frangos criados na temperatura preferida do que na temperatura recomendada ( $P\leq 0,05$ ), e houve interação entre  $D_{BE-SC}$  e TC para todas as demais variáveis ( $P\leq 0,05$ ).

De acordo com a Tabela 9, o índice  $b^*$  foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e recomendada, os quais não diferiram entre si e nem dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada. A maior perda de água por cocção foi apresentada pelos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida, os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida e os de curta  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura recomendada apresentaram perda por cocção similar, porém menor do que a registrada para os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura recomendada. A força de cisalhamento foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida dos que nos frangos dos outros três tratamentos, que não diferiram entre si. O pH da carne também foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida, porém também foi maior nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida do que nos frangos com curta e longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura recomendada, que apresentaram pH similares.

A capacidade de perda de água pela carne do peito dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida e recomendada foi similar, porém menor do que a registrada nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  e criados na temperatura preferida e recomendada; todavia ela foi menor nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida do que nos frangos com longa  $D_{BI-SC}$  criados na temperatura recomendada. A área em corte transversal das fibras SO foi maior nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida, e ambos apresentaram área de fibra similar à dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e recomendada, os quais não diferiram entre si. Com relação à área em corte transversal das fibras FOG, não houve diferença entre os frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida e os com longa  $D_{BI-SC}$  criados na temperatura recomendada e entre os frangos com longa  $D_{BI-SC}$  criados na temperatura preferida e os com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada, mas nos primeiros a área foi maior do que nos últimos. A área das fibras FG foi maior nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura preferida do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$

SC criados na temperatura preferida e nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada, que apresentaram área similar entre si e à registrada para frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada.

**Tabela 8** - Qualidade da carne da sobrecoxa de frangos de corte 42 dias de idade, de acordo com a duração da bicagem externa e saída da cascan ( $D_{BE-SC}$ ) e temperatura de criação (TC).

Variables	$D_{BE-SC}$		TC <sup>2</sup>		SEM	P-valor		
	Curto <sup>1</sup>	Longo <sup>1</sup>	Preferida	Recomendada		$D_{BE-SC}$	TR	$D_{BE-SC} \times TR$
Índice de cores L*	52.94	54.33	53.64	53.60	0.81	0.0876	0.9308	0.9977
a*	6.56	5.25	6.99	4.81	0.98	0.2292	0.0481	0.9174
b*	4.80	4.94	5.21	4.53	0.23	0.7148	0.0717	0.0089
Perdas por cocção (%)	33.83	33.59	34.29	33.15	0.31	0.4130	0.0049	0.0001
Força de cisalhamento (kgf cm <sup>-2</sup> )	1.20	1.08	1.21	1.07	0.10	0.0101	0.0048	0.0001
pH	6.22	6.20	6.26	6.16	0.00	0.0096	0.0001	0.0271
Capacidade de perda de água (%)	29.98	31.87	30.66	31.17	0.22	0.0001	0.0161	0.0001
SO <sup>3</sup> (μm <sup>2</sup> )	3.60	3.58	3.52	3.66	0.20	0.9260	0.4870	0.0467
FOG <sup>4</sup> (μm <sup>2</sup> )	4.35	4.20	4.27	4.28	0.20	0.4413	0.9438	0.0003
FG <sup>5</sup> (μm <sup>2</sup> )	5.35	5.06	5.27	5.13	0.26	0.1153	0.4040	0.0065

<sup>1</sup>Curto e Longo: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca. <sup>2</sup>Temperatura de criação preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), e temperatura recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013). a\*: teor de vermelho. b\*: teor de amarelo. L\*: luminosidade. <sup>3</sup>SO: fibras oxidativas lentas. <sup>4</sup>FOG: fibras oxidativas-glicolíticas rápidas. <sup>5</sup>FG: fibras glicolíticas rápidas.

**Tabela 9** - Interação entre duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca e temperatura de criação para qualidade de carne da coxa e área em corte transversal das fibras do músculo *Sartorius* de frangos com 42 dias de idade.

Variables	Curto D <sub>BE-SC</sub> -TP <sup>1</sup>	Long D <sub>BE-SC</sub> -TP <sup>1</sup>	Curto D <sub>BE-SC</sub> -TR <sup>2</sup>	Longa D <sub>BE-SC</sub> -TR <sup>2</sup>	P-valor
	Coxa-sobrecoxa				
Índice de cor b*	5.77±1.33a	4.64±0.91b	4.96±1.67ab	4.10±1.62b	0.0022
Perda por cocção (%)	35.71±1.18a	32.87±0.82c	32.08±1.33c	34.30±2.03b	0.0096
Força de Cisalhamento (kgf cm <sup>-2</sup> )	1.48±0.33a	1.02±0.16b	1.00±0.09b	1.14±0.25b	0.0004
pH	6.28±0.03a	6.24±0.02b	6.16±0.03c	6.16±0.03c	0.0006
Capacidade de pera de água (%)	30.22±0.83c	31.10±0.66b	29.76±1.04c	32.58±0.40a	0.0038
SO <sup>3</sup> (µm <sup>2</sup> )	3.74±0.65ab	3.30±0.65b	3.46±0.63ab	3.86±0.61a	0.0490
FOG <sup>4</sup> (µm <sup>2</sup> )	4.80±0.62a	3.78±0.73b	3.93±0.70b	4.62±0.57a	0.0071
FG <sup>5</sup> (µm <sup>2</sup> )	5.72±0.78a	4.87±0.58b	5.02±0.35b	5.26±0.51ab	0.0122

<sup>1</sup>Curto D<sub>BE-SC</sub>-TP e Longo D<sub>BE-SC</sub>-TP: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura preferida (estabelecida por Matos Junior et al., em preparo), respectivamente. <sup>2</sup>Curto D<sub>BE-SC</sub>-TR e Longo D<sub>BE-SC</sub>-TR: curta e longa duração entra a bicagem externa e saída da casca sobre a temperatura recomendada (de acordo com manual de linhagem Cobb, 2013). b\*: teor de amarelo. <sup>3</sup>SO: fibras oxidativas lentas. <sup>4</sup>FOG: fibras oxidativas-glicolíticas rápidas. <sup>5</sup>FG: fibras glicolíticas rápidas.

## DISCUSSÃO

O presente estudo mostra, pela primeira vez na literatura, que a duração do período de eclosão entre bicagem externa e saída da casca ( $D_{BE-SC}$ ) e a criação na temperatura de preferência influenciam o desempenho e o rendimento de carcaça e partes, bem como a qualidade da carne do peito e sobrecoxa dos frangos de corte.

### Desempenho

De acordo com os resultados, frangos com curto e longa  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem apresentaram peso corporal aos 42 dias de idade e ganho de peso e conversão alimentar no período de criação similares; todavia, frangos com longa  $D_{BE-SC}$  consumiram 3,12% menos de ração. Considerando que o custo da ração é o item que onera o custo da produção (Schoulten, et al, 2003), tais dados mostram que frangos que demoram mais para sair da casca dos ovos após bicagem externa apresentam melhor desempenho do que os que saem da casca em menor tempo. Nossos resultados também mostram menor consumo de ração para os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  do que curta  $D_{BE-SC}$  quando foram criados na temperatura de preferência. Todavia, em tais condições de temperatura de criação, embora não tenha ocorrido alteração na conversão alimentar, frangos com longa  $D_{BE-SC}$  apresentaram menor ganho de peso de 1 a 42 dias, o que resultou em seu menor peso corporal aos 42 dias de idade. Ainda no presente estudo, embora frangos com curta  $D_{BE-SC}$  tenham apresentado melhor conversão alimentar quando criados na temperatura de preferência do que na temperatura recomendada para a linhagem, em ambas as temperaturas de criação seu consumo de ração e ganho de peso de 1 a 42 dias e o peso corporal aos 42 dias foram similares. Diferentemente, contudo, frangos com longa  $D_{BE-SC}$  apresentaram menor ganho de peso total e, conseqüentemente, menor peso corporal aos 42 dias, quando criados na temperatura de preferência do que na temperatura recomendada para a linhagem.

Segundo Matos Junior (Cap 2), pintos com curta e longa  $D_{BE-SC}$  apresentam curto e longo período total de eclosão (período entre bicagem interna e saída da casca). Isso nos possibilita dizer que, comparados aos pintos que demoram mais para eclodir, pintos com período mais curto de eclosão apresentam um pior desempenho quando criados na temperatura recomendada no Manual de Criação da linhagem (Cobb®, 2013) e desempenho maior quando criados sob a temperatura de preferência. Do ponto de vista prático, os dados acima mostram que, para obtenção de melhor desempenho do lote, pintos com longa  $D_{BE-SC}$

devem ser criados na temperatura recomendada, enquanto que os pintos com curta  $D_{BE-SC}$  devem ser criados na temperatura de preferência, na qual seu desempenho se torna similar ao desempenho dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$ . Pior desempenho relacionado com menor consumo de ração, menor ganho de peso, pior conversão alimentar e, conseqüentemente menor peso aos 42 dias de idade, dos pintos que eclodem primeiro já foi relatado em literatura (Nir; Levanon, 1993; Halevy et al., 2000; Fletcher, 2002; Cançado; Baião, 2002; Gonzales et al., 2003; Genchev et al., 2005; van Den Vem et al., 2011, 2013). Tais estudos, contudo, analisaram o desempenho dos frangos em relação ao tempo que tais aves permanecem em jejum entre eclosão e alojamento, enquanto que o presente estudo está revelando, pela primeira vez na literatura, que o desempenho dos frangos é influenciado pelo tempo que os pintos demoram para eclodir e que essa influencia pode ser eliminada pela temperatura de criação utilizada.

Almeida et al. (2015) e Morita et al. (submetido) não verificaram diferença no desempenho entre frangos criados na temperatura recomendada para a linhagem e na de preferência das aves. Nossos resultados mostram que isso ocorre apenas em frangos com curta  $D_{BE-SC}$ , uma vez que os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  apresentaram piora no desempenho quando criados na sua temperatura de preferência. Tais dados são importantes, pois mostram que, embora a temperatura recomendadas pelo Manual de Criação (Cobb®, 2013) da linhagem seja considerada a que lhes concede melhor desempenho, isso só ocorre para aves com longa  $D_{BE-SC}$ , ou seja, para aves que demoram mais para eclodir. Preferência térmica de aves de produção tem sido foco de estudos de vários pesquisadores (Walstra, et al., 2010; Toro-Velasquez, 2014; Morita et al., aprovado). Do ponto de vista fisiológico, embora o esperado fosse que aves criadas na temperatura de preferência apresentassem melhor desempenho, no presente estudo, isso ocorreu para frangos com curta  $D_{BE-SC}$ , mas não para os frangos com longa  $D_{BE-SC}$ .

### **Rendimento de carcaça e cortes**

Vários estudos têm demonstrado que temperatura de criação influencia no rendimento de carcaça, cortes e órgãos (Leksrisompong et al., 2007; Willemsen et al., 2011; Piestun et al. 2013) mas efeitos da duração do período de eclosão sobre o rendimento de carcaça dos frangos estão sendo apresentados pela primeira vez. De acordo com os dados, embora frangos com curta e longa  $D_{BE-SC}$  tenham apresentado melhor desempenho quando criados na

temperatura de preferência e na temperatura recomendada para a linhagem, respectivamente, essa melhora não foi convertida em maior peso de carcaça, de coxa+sobrecoxa, de asa, de dorso e de fígado e coração. Todavia, melhor desempenho dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  sob temperatura de preferência resultou em peso de peito 8,2% (80g) maior do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  também criados na preferência térmica, o que deve ter sido resultante da maior ingestão de ração e melhor conversão alimentar.

Quando o rendimento de carcaça, corte e órgãos foi analisada em relação ao peso corporal, verificou-se que criação dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  na temperatura de preferência aumentou em 5,3% o rendimento de peito e diminuiu em 4,2% o rendimento de dorso, em comparação à criação na temperatura recomendada para a linhagem. Além disso, independentemente da temperatura de criação, frangos com curta  $D_{BE-SC}$  apresentaram rendimento de carcaça 2,9% maior e rendimento de coxa+sobrecoxa 2,6% menor que os frangos com longa  $D_{BE-SC}$ .

### **Qualidade de carne**

A duração do período entre bicagem externa e saída da casca e a temperatura de criação não influenciaram a perda por cocção, força de cisalhamento, pH, índices  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e tamanho das fibras musculares da carne do peito dos frangos. No entanto, a capacidade de perda de água na carne do peito dos frangos foi menor nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na mesma condição térmica e do que nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura de preferência no peito foi menor nos frangos com curta do que com longa  $D_{BE-SC}$ . A capacidade de retenção de água esta relacionada com textura e suculência da carne (Baeza et al., 1998; Fletcher, 2002; Purslow, 2005), quanto menor a capacidade de retenção de água, menor a maciez e a suculência da carne (Barbut et al., 2005; Genchev et al., 2010). Nesse contexto, nossos dados mostram que maior capacidade de perda de água não foram convertidas em maior maciez do peito nos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura de preferência, uma vez que não ocorreu aumento na força de cisalhamento. Da mesma forma, menor capacidade de retenção de água também não tornou a carne do peito menos suculenta, já que a perda por cocção não foi alterada. Ao mesmo tempo, a maior capacidade de retenção de água da carne do peito dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  criados na temperatura recomendada para a linhagem do que nos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  criados na mesma temperatura de criação,

também não resultou em maior maciez e suculência da carne, já que a perda por cocção e a força de cisalhamento não foram alteradas. Tamanho, cor, luminosidade, acidez, textura e suculência da carne são características que determinam a aceitação da carne pelo consumidor (Lonergan et al., 2003; Fraqueza et al., 2005; Genchev et al., 2005, 2010). O presente estudo demonstrou que criação dos pintos com curta  $D_{BE-SC}$  na temperatura de preferência melhorou seu desempenho e rendimento de peito, sem causar alterações na cor, luminosidade, acidez, textura, e suculência da carne. Além disso, também foi demonstrado que maior desempenho dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$  na temperatura recomendada para a linhagem ocorre sem alteração na qualidade da carne do peito.

No que se refere à qualidade da carne da sobrecoxa, a capacidade de retenção de água foi menor e a perda por cocção maior nos frangos com longa do que com curta  $D_{BE-SC}$ , quando criados na temperatura recomendada. Essa diferença deve ter sido resultante da maior área das fibras FOG dos primeiros (Le Bihan-Duval et al., 2008). No entanto isso mostra que, embora esses frangos tenham apresentado melhor desempenho que os de curta  $D_{BE-SC}$  na temperatura recomendada para a linhagem, a carne de sua sobrecoxa foi menos suculenta após cocção. Quando criados na temperatura de preferência, a carne da sobrecoxa dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  apresentou maior capacidade de retenção de água, porém maior perda por cocção e força de cisalhamento que a carne dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$ , bem como tom mais amarelada, o que pode ter sido resultante do maior valor de pH (Lonergan et al., 2003; Owens et al., 2000; Fraqueza et al., 2005) e da maior área das fibras FOG e FG (Le Bihan-Duval et al., 2008; Collin et al., 2007). Isso mostra que, embora os frangos com curta  $D_{BE-SC}$  tenham apresentado melhor desempenho e maior rendimento de peito que os com longa  $D_{BE-SC}$  sob criação na temperatura de preferência, a carne de sua sobrecoxa apresentou características indicativas de maior rigidez e menor suculência. Comparando a qualidade da carne da sobrecoxa entre frangos com mesma  $D_{BE-SC}$  criados em temperaturas diferentes, verifica-se aumento da rigidez e diminuição da suculência da carne dos frangos com curta  $D_{BE-SC}$  quando estes são criados na temperatura de preferência, uma vez que ocorreu aumento da força de cisalhamento, no pH e na perda por cocção, que resultam do maior tamanho das fibras FOG e FG. No caso dos frangos com longa  $D_{BE-SC}$ , a carne da sobrecoxa tenha apresentado maior capacidade de perda de água e pH mais ácido sob criação na temperatura recomendada, como resultado da maior área das fibras SO e FOG. Todavia, a força de cisalhamento da carne da sobrecoxa desses frangos não foi alterada e a perda de cocção foi maior, indicando menor

suculência mas não maior rigidez da carne quando os frangos com longa  $D_{BE-SC}$  são criados na temperatura recomendada para a linhagem. Cor, textura, suculência são características que determinam a escolha ou não da carne pelo consumidor (Berri et al, 2001, 2007; Le Bihan-Duval et al., 2003, 2008).

Nesse contexto, nossos dados de qualidade de carne chamam atenção, pois mostram que, independentemente da  $D_{BE-SC}$ , a temperatura de criação na qual as aves apresentam melhor desempenho não corresponde à temperatura sob a qual os frangos apresentam melhor qualidade de carne, do ponto de vista de suculência e textura. Isso indica que os caminhos a serem seguidos para a seleção genética de frangos precisam ser repensados e a qualidade da carne incluída como variável a ser analisada.

## **CONCLUSÃO**

O presente estudo mostrou que duração do período de eclosão interfere no desempenho, rendimento de carcaça e cortes, e na qualidade da carne do peito e sobrecoxa dos frangos. Do ponto de vista prático, de acordo com os resultados, para obtenção de melhor desempenho, pintos com curta  $D_{BE-SC}$  devem ser criados na sua temperatura de preferência e os pintos com longa  $D_{BE-SC}$ , criados na temperatura recomendada para a linhagem. Todavia, temperatura de criação para maior desempenho não correspondeu à temperatura para melhor qualidade de carne.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, V. R.; MORITA, V. S.; SGAVIOLI, S.; VICENTINI, T. I.; CASTIBLANCO, D. M. C.; and. BOLELI, I. C. Incubation temperature manipulation during fetal development reduces adiposity of broiler hatchlings. **Poult. Sci.** first published online November 2, 2015 doi:10.3382/ps/pev327

AKŞIT, M.; YALÇIN, S.; ÖZKAN, S.; METIN, K.; ÖZDEMİR, D. Effects of Temperature During Rearing and Crating on Stress Parameters and Meat Quality of Broilers. **Poult. Sci.** 85 (11): 1867-1874, 2006.

BAEZA, E.; GUY, G.; SALLICHON, M.R.; JUIN, H.; ROUSSELOT- PAILLEY, D.; KLOSOWSKA, D.; ELMINOWSKA-WENDA, G.; SRUTEK, M.; ROSINSKI, A. Influence of feeding systems, extensive vs intensive, on fatty liver and meat production in geese. **Arch. Geflugelk.** 62:169- 175, 1998.

BARBUT, S.; ZHANG, L.; and MCIRCONI, M. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. **Poult. Sci.** 84:797-802, 2005.

BERRI, C.; WACRENIER, N.; MILLET, N.; LE BIHAN-DUVAL, E. Effect of Selection for Improved Body Composition on Muscle and Meat Characteristics of Broilers from Experimental and Commercial Lines. **Poult. Sci.** 80 (7): 833-838 doi:10.1093/ps/80.7.833. 2001.

BERRI C, LE BIHAN-DUVAL, E.; DEBUT M.; SANTÉ-LHOUELIER, V.; BAÉZA E., GIGAUD V.; JÉGO Y.; DUCLOS, M. J. Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of Pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. **J Anim Sci.** Aug; 85 (8): 2005-11, 2007.

CANCADO, S. V.; BAIAO, N. C. Efeito do período de jejum entre o nascimento e o alojamento e da adição de óleo à ração sobre o desempenho de pintos de corte e digestibilidade da ração. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Belo Horizonte, 54(6): 630-635, Dec. 2002 .

CASON, J. A.; BAILEY, J. S.; STERN, N. J.; WHITTEMORE, A. D.; and COX, N. A. Relationship Between Aerobic Bacteria, Salmonellae, and Campylobacter on Broiler Carcasses. **Poult. Sci.** 76:1037-1041, 1997.

COBB. **Guia de manejo para frango de corte COBB 500.** S.l.: s.n., 2013, 60p.

COLLIN, A.; BERRI, C.; TESSERAUD, S. et al. Effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on thermotolerance and breast muscle characteristics in broiler chickens. **Poult. Sci.** 86:795–800, 2007.

D'ANGELIS, F. H.; FERRAZ, G. C.; BOLELI, I. C.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the gluteus medius muscle. **J Anim Sci.** Mar; 83 (3): 579-85, 2005

DUBOWITZ, V.; BROOKE, M. **Muscle biopsy: a modern approach.** London: W.B. Saunders Company, 472p. 1984.

DECUYPERE, E. Incubation temperature in relation to post-natal performance in chickens. **Arch. Exp. Vet. Med.** 38:439–449. 1984.

ETHERINGTON, D.J.; SIMS, T.J. Detection and estimation of collagen. **J. Sci. Food Agric.** 32:539-546, 1981.

FRAQUEZA, M. J.; CARDOSO, A. S.; FERREIRA, M. C.; BARRETO, A. S. Estudo das preferências dos consumidores portugueses em relação a cor da carne de peru e tipo de embalagem utilizada. **Rev. Port. Zoot.** 12 (2): 45-62, 2005.

FERREIRA, I. B.; MATOS JUNIOR, J. B.; SGAVIOLI, S.; VICENTINI, T. I.; MORITA, V.S.; BOLELI, I. C. Vitamin C prevents the effects of high rearing temperatures on the quality of broiler thigh meat. **Poult. Sci.** May; 94 (5): 841-51, 2015.

FLETCHER D. L. Poultry meat quality. **World's Poult. Sci. J.** 58:131–145, 2002.

GENCHEV A. G.; RIBARSKI S. S.; AFANASJEV G. D.; BLOHIN G. I. Fattening capacities and meat quality of Japanese quails of Faraon and White English breeds. **Cent. Eur. J. Agric.** 6:495–500, 2005.

GENCHEV A.; RIBARSKI S.; ZHELYAZKOV G. Physicochemical and technological properties of Japanese quail meat. **Trakia J. Sci.** 8:86–94, 2010.

GONZALES E.; KONDO N.; SALDANHA E. S. P. B.; LODDY M. M.; CAREGHI C.; DECUYPERE E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poult. Sci.** 82:1250–1256, 2003.

GRAU, R.; HAMM. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Fleisch. **Fleischwirtschaft.** 4:295-297, 1952.

LE BIHAN-DUVAL E.; BERRI, C.; BAÉZA, E.; SANTÉ, V.; ASTRUC, T.; RÉMIGNON, H.; LE POTTIER, G.; BENTLEY, J.; BEAUMONT, C.; FERNANDEZ, X. Genetic parameters of meat technological quality traits in a grand-parental commercial line of turkey. **Genet Sel Evol.** 35 (7): 623–635. Nov 15. doi: 10.1186/1297-9686-35-7-623. 2003.

LE BIHAN-DUVAL E.; DEBUT, M.; BERRI, C. M.; SELLIER, N.; SANTÉ-LHOUELIER, V.; JÉGO, Y.; BEAUMONT, C. Chicken meat quality: genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics. **BMC Genetics.** doi: 10,1186/1471-2156-9-53 9:53, 2008.

LEKSRISOMPONG, N.; ROMEEO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, P. W.; BRANNAN, K. E. and BRAKE, J. Broiler incubation. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. **Poult. Sci.** 86:2685–2691, 2007.

LOYAU, T.; BERRI, C.; BEDRANI, L.; MÉTAYER-COUSTARD, S.; PRAUD, C.; DUCLOS, M. J.; TESSERAUD, S.; RIDEAU, N.; EVERAERT, N.; YAHAV, S.; MIGNON-GRASTEAU, S.; COLLIN, A. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality. **J. Anim. Sci.** 91 (8): 3674-3685, 2014.

LONERGAN, S.M.; DEEB, N.; FEDLER, C.A.; and LAMONT, S. J. Breast meat quality and composition in unique chicken population. **Poultry. Sci.** 82:1990-1994, 2003.

LYON C. E.; LYON B. G.; DICKENS J. A. Effects of Carcass Stimulation, Deboning Time, and Marination on Color and Texture of Broiler Breast Meat. **J. Appl. Poult. Res.** 7:53–60, 1998.

MCCORMICK, R. J. Extracellular modifications to muscle collagen: implications for meat quality. **Poult. Sci.** 78:785-791, 1999.

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. **Int. J. Poult. Sci.** 9:606-612, 2010.

NIR, I.; LEVANON, M. Research note: effect of posthatch holding time performance and residual yolk and liver composition. **Poult. Sci.** 72:1994-1997, 1993.

OWENS, C. M.; HIRSCHLER, E. M.; MCKEE, S.R.; MARTINEZ-DAWSON, R.; SAMS, A.R. The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a commercial plant. **Poult. Sci.** 79:553-558. 2000.

PETRACCI, M.; BETTI, M.; CAVANI, C. Color variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy. **Poult. Sci.** 83:2085–2092, 2004.

PIESTUN, Y.; SHINDER D.; RUZAL M.; HALEVY, O.; BRAKE, J.; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: Effect on the acquisition of thermotolerance. **Poult. Sci.** 87:1516–1525, 2008.

PIESTUN, Y., HALEVY, O.; SHINDER, D.; RUZAL, M.; DRUYAN, S.; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post hatch performance under hot conditions. **Therm. Biol.** 36:469–474, 2011.

PIESTUN, Y.; DRUYAN, S.; BRAKE, J.; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler incubation alter performance of broilers to 70 days of age. **Poult. Sci.** 92 (5): 1155-1163, 2013.

PURSLOW, P. P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat Sci.** 70:435-447, 2005.

SANDERCOCK D. A.; HUNTER R. R.; NUTE G. R.; MITCHELL M. A.; HOCKING P. M. Acute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: Implications for meat quality. **Poult. Sci.** 80:418–425. 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics. Cary, 466p. 2002.

SCHOULTEN, N. A.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F.; CONTE, A. J.; SILVA, H. O. Desempenho de frangos de corte alimentados com ração contendo farelo de arroz e enzimas. **Ciênc. agrotec.** Lavras , 27 (6): 1380-1387, Dec. 2003.

SPSS Inc. 2010. PC + Statistics. 18.0. **SPSS Inc.**, Chicago, IL, USA, 2006.

ST-PIERRE N. R.; COBANOV B.; SCHNITKE G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **J. Dairy Sci.** 86(E. Suppl.): E52–E77. 2003.

VAN DE VEN L. J. F.; VAN WAGENBERG A. V.; DEBONNE M.; DECUYPERE E.; KEMP B.; VAN DEN BRAND, H. Hatching system and time effects on broiler physiology and posthatch growth. **Poult. Sci.** 90:1267–1275, 2011.

VAN DE VEN, L. J. F.; VAN WAGENBERG, A. V.; DECUYPERE, E.; KEMP, B.; and VAN DEN BRAND, H. Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poult. Sci.** 92 (4): 1050-1061, 2013.

TZSCHENTKE, B.; NICHELMANN, M. Influence of prenatal and postnatal acclimation on nervous and peripheral thermoregulation. **Ann. Biomed. Eng.** 813:87–94. 1997.

TZSCHENTKE, B.; BASTA, D.; NICHELMANN, M. Epigenetic temperature adaptation in birds: Peculiarities and similarities in comparison to acclimation. **News Biomed. Sci.** 1:26–31, 2001.

TZSCHENTKE, B.; BASTA, D. Early development of neuronal hypothalamic sensitivity in birds: Influence of epigenetic temperature adaptation. **Comp. Biochem. Physiol. A, Mol. Integr. Physiol.** 131:825–832, 2002.

TZSCHENTKE, B.; and PLAGEMANN, A. Imprinting and critical periods in early development. **World's Poult. Sci. J.** 62:626–638, 2006.

TZSCHENTKE, B. Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. **Poult. Sci.** 86:1025–1036, 2007.

TZSCHENTKE, B. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. **Comput. Electron. Agric.** 64:61–71, 2008.

TORO-VELAZQUES, P. A. **Alterações metabólicas e morfométricas induzidas por hipóxia em Gallus gallus**. 2014. 127 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

YAHAV, S.; COLLIN, A.; SHINDER, D.; PICARD, M. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: Effect of timing and temperature. **Poult. Sci.** 83:1959–1963, 2004a.

YAHAV, S.; SASSON RATH, R.; SHINDER, D. The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch. **J. Therm. Biol.** 29:245–250, 2004b.

YAHAV, S. Alleviating heat stress in domestic fowl: Different strategies. **Worlds Poult. Sci. J.** 65:719–732, 2009.

YALÇIN, S.; ÖNENÇ, A.; ÖZKAN, S.; GÜLER, H. C.; SIEGEL, P.B. 2005. Meat quality of heat stressed broilers: Effects of thermal conditioning at pre- and -postnatal stages. Page 265 in Book of Abstract. **XV IIth Eur. Symp. Qual. Poult. Meat**. Doorwert, The Netherlands. WPSA, Beekbergen, The Netherlands. 2005.

WALSTRA, I.; TEN NAPEL, J.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H. Temperature manipulation during layer chick embryogenesis. **Poult. Sci.** 89:1502- 1508, 2010.

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

WOESSNER, J. F. JR. The determination of hydroxyproline in the tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. **Arch. Biochem. Biophys.** 93:440-450, 1961.