

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**TÉCNICA DE MANIPULAÇÃO TÉRMICA PRÉ-NATAL: EFEITOS SOBRE O
RENDIMENTO DE INCUBAÇÃO E CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE PINTOS DE CORTE**

TAÍS PINHEIRO BORGES DA SILVA

**SALVADOR – BA
MARÇO – 2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**TÉCNICA DE MANIPULAÇÃO TÉRMICA PRÉ-NATAL: EFEITOS SOBRE O
RENDIMENTO DE INCUBAÇÃO E CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE PINTOS DE CORTE**

TAÍS PINHEIRO BORGES DA SILVA
Zootecnista

**SALVADOR – BA
MARÇO – 2018**

TAÍS PINHEIRO BORGES DA SILVA

**TÉCNICA DE MANIPULAÇÃO TÉRMICA PRÉ-NATAL: EFEITOS
SOBRE O RENDIMENTO DE INCUBAÇÃO E
CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE PINTOS DE
CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Não Ruminantes

Orientador: Prof.^a Dr.^a Vanessa Michalsky Barbosa
Co-orientador: Dr.^a Viviane de Souza Morita

**SALVADOR – BA
MARÇO – 2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586 Silva, Taís Pinheiro Borges da

Técnica de manipulação térmica pré-natal: efeitos sobre o rendimento de incubação e características morfofisiológicas de pintos de corte / Taís Pinheiro Borges da Silva. -- Salvador, 2018.

70 f. : il

Orientadora: Vanessa Michalsky Barbosa.

Coorientadora: Viviane de Souza Morita.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2018.

1. Desenvolvimento embrionário. 2. Epigenética. 3. Frangos de corte. 4. Temperatura da casca do ovo. 5. Incubação artificial. I. Barbosa, Vanessa Michalsky. II. Morita, Viviane de Souza. III. Título.

CDU: 636.5

**TÉCNICA DE MANIPULAÇÃO TÉRMICA PRÉ-NATAL: EFEITOS SOBRE
O RENDIMENTO DE INCUBAÇÃO E CARACTERÍSTICAS
MORFOFISIOLÓGICAS DE PINTOS DE CORTE**

Taís Pinheiro Borges da Silva


**Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia**

Salvador, 28 de março de 2018

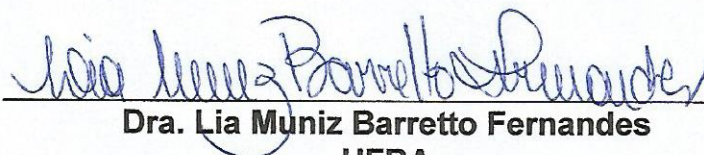
Comissão examinadora:



Dra. Vanessa Michalsky Barbosa
UFBA
Orientadora/Presidente



Dra. Juliana Cantos Faveri
UFBA



Dra. Lia Muniz Barretto Fernandes
UFBA

*“Quem escreve no mundo...
É como quem semeia no solo profundo...
A inteligência brilha sempre cheia de possibilidades infinitas.”*

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus por todas as oportunidades que foram colocadas em minha vida sempre me dando forças para seguir em frente e lutar, mesmo com tantos desafios, para conseguir chegar aos meus objetivos de vida e realizar os meus sonhos.

A minha mãe, Marcela, por ser o meu porto seguro, minha melhor amiga, minha mãe número um, que sempre fez o possível e impossível para que hoje eu esteja realizando um dos meus maiores sonhos, que é a conclusão da minha graduação e mestrado, sempre me ensinando os valores da vida e que eu posso chegar onde eu quiser chegar sem ter que pisar em ninguém.

A todos os meus familiares, entre tios e primos, que estiveram do meu lado me ajudando e incentivando a seguir firme a batalha pelo meu futuro.

A minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Vanessa Michalsky, que para mim é mais que um mestre, é a minha inspiração e se tornou uma grande amiga. Gostaria de agradecer infinitamente por toda sua compreensão, incentivo, paciência, preocupação, carinho, amizade, e principalmente por ter acreditado e confiado em mim durante os momentos decisivos da minha graduação e curso de mestrado, e por me incentivar a correr atrás do meu futuro profissional.

Aos meus companheiros do núcleo de pesquisa NUPIA, Izabela, Tayana, Larissa, Dayanna, Nayana, Vitor, Aloísio e Najela. Nossas vitórias tem o suor e a participação de cada um de vocês, como peça-chave para que tudo aconteça.

A minha amiga Carine Lima, por todo seu apoio voluntário para com nosso grupo de pesquisa, pelo apoio como amiga, principalmente acreditando e me incentivamos nos momentos de decisão.

As minhas amigas Isabela Cláudia e Camila Kataryne que mesmo distantes, são pessoas que me incentivaram, acreditaram e vibraram por mim durante a minha trajetória nos estudos.

A minha grande amiga-irmã Pollyanna, por fazer parte de muitos momentos da minha vida. Nesses 15 anos de amizade fomos muitos felizes, choramos, aprontamos, brigamos, fizemos as pazes e compartilhamos muitas etapas de nossas vidas. Hoje tenho que agradecer principalmente por todo seu apoio e amor de irmã e seus esforços para me ajudar no que pudesse quando muitas vezes passei por provações nessa vida.

A meu amigo Maurício Xavier, por todo amor, carinho, incentivo, respeito, confiança e principalmente por acreditar em meu potencial; seno além de amigo se tornou uma inspiração com seu exemplo de força, inteligência e superação.

Agradeço em especial a Tayana Nery e Izabela Azevêdo, vocês foram fundamentais em muitos momentos na minha vida pessoal e principalmente acadêmica, Tayana minha amiga-irmã e companheira de estudos desde o início da graduação até ao curso da pós-graduação; e Izabela, a amiga que a pós-graduação me trouxe de presente.

A todos os professores da Universidade Federal da Bahia, que por me passarem todo o conhecimento teórico, prático e principalmente de como ser um profissional.

Obrigada!

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mensuração da temperatura da casca do ovo.....	28
Figura 2. Pesagem do pintinho.....	30
Figura 3. Comprimento de pintinho.....	31
Figura 4. Escore de umbigo.....	32
Figura 5. Avaliação da hemogasometria.....	33
Figura 6. Órgãos separados para pesagem individual.....	34

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1-	Efeitos da temperatura de incubação, durante os últimos 5 dias, sobre a eclodibilidade e mortalidade tardia dos ovos incubados.....	9
Tabela 2-	Eclodibilidade, peso do corpo, e temperatura cloacal de pintos de corte.....	10
Tabela 3-	Eclodibilidade, peso do corpo e temperatura corporal após a incubação de pintos expostos à diferentes durações de manipulação térmica durante a embriogênese.....	11
Tabela 4-	Efeitos dos tratamentos de incubação controle (37,8°C) ou com manipulação térmica (39,5°C) nas fases FI, FF ou FI+FF, sobre a eclodibilidade.....	11
Tabela 5-	Médias do tempos de bicagem interna, bicagem externa, período de incubação, peso do pinto, escore e umbigo e pernas de pintos submetidos à manipulação térmica por frio e calor.....	13
Tabela 6-	Pesos médios e embriões (g) e órgãos (em relação ao peso embrionário) durante a incubação de ovos manipulados termicamente.....	14
Tabela 7-	Médias dos valores de glicose e ácido úrico de pintos do tratamento controle e com manipulação térmica (MT) no momento da eclosão e 7 dias pós-eclosão.....	19
Tabela 8-	Valores médios de pH sanguíneo, pressão parcial de CO ₂ e pressão parcial de O ₂ na pesquisas de Yalçin et al. (2008b) e Maatjens et al. (2014b).....	25
Tabela 9-	Valores médios da concentração sanguínea de bicarbonato (HCO ₃), hematócrito (Hct) e íons potássio (K ⁺), sódio (Na ⁺) e Cálcio (iCa) dos trabalhos de Yalçin et al. (2008a) e Maatjens et al. (1014).....	25
Tabela 10-	Parâmetros zootécnicos da incubação de ovos realizada em temperatura controle ou manipulada termicamente.....	36
Tabela 11-	Parâmetros de qualidade de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.....	37

Tabela 12- Peso de órgãos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino (%) dos recém-eclodidos submetidos a incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.....	39
Tabela 13- Parâmetros sanguíneos de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.....	40
Tabela 14- Parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

YFBM	Yolk Free Body Mass / Massa do corpo livre da gema
EST	Eggshell Temperature / Temperatura da casca do ovo
HT	High Temperature / Temperatura alta
MT	Manipulação Térmica
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
pO ₂	Pressão parcial de dióxido de oxigênio
SO ₂	Saturação de oxigênio
TCO ₂	Total de dióxido de carbono
Hct	Hematócrito
Hb	Hemoglobina
GR	Gema Residual
iCa	Cálcio ionizado

SUMÁRIO

TÉCNICA DE MANIPULAÇÃO TÉRMICA PRÉ-NATAL: EFEITOS SOBRE O RENDIMENTO DE INCUBAÇÃO E CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE PINTOS DE CORTE

	Página
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. SISTEMA	
TERMORREGULATÓRIO.....	2
2.1.1. Mecanismos fisiológicos de termorregulação.....	2
2.1.2. Sistema termorregulatório em embriões durante a incubação.....	3
2.1.3. Sistema termorregulatório das aves pós-eclosão.....	5
2.2. MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A EMBRIOGÊNESE.....	6
2.2.1. Influência da manipulação térmica sobre os parâmetros de incubação...	8
2.2.2. Influência da manipulação térmica sobre o peso de órgãos e qualidade dos pintos recém-eclodidos.....	12
2.2.3. Influência da manipulação térmica sobre a fisiologia embrionária.....	15
2.2.3.1. Parâmetros bioquímicos do sangue.....	15
2.2.3.2. Equilíbrio ácido-básico/parâmetros hemogasométricos.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....;	26
3.1. Local.....	26
3.2. Ovos.....	26

3.3. Pré-incubação e incubação dos ovos.....	27
3.4. Ovos inférteis e embriões com mortalidade inicial observada na ovoscopia...	28
3.5. Nascimento dos pintos.....	28
3.6. Análises de rendimento de incubação.....	29
3.6.1. Perda de peso dos ovos durante o período de incubação.....	29
3.6.2. Mortalidade embrionária e fertilidade (%)......	29
3.6.3. Taxa de eclosão total em relação ao número de ovos férteis (%)......	30
3.7. Análises morfofisiológicas.....	30
3.7.1. Peso dos pintos no momento da eclosão.....	30
3.7.2. Comprimento do pintinho (cm).....	31
3.7.3. Escore de umbigo.....	31
3.7.4. Hemogasometria.....	32
3.7.5. Glicose, lactato e ácido úrico.....	33
3.7.6. Peso dos órgãos e peso do pinto sem saco vitelino.....	34
3.7.7. Glicogênio hepático.....	34
3.8. Análise Estatística.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

Técnica de manipulação térmica pré-natal: efeitos sobre o rendimento de incubação e características morfofisiológicas de pintos de corte

RESUMO

Foram avaliados os efeitos da técnica de manipulação térmica pré-natal com controle da temperatura de casca do ovo sobre o rendimento de incubação e características morfofisiológicas de pintos de corte. 720 ovos de matrizes pesadas da linhagem Cobb[®], com idade de 49 semanas, foram distribuídos em quatro incubadoras Premium Ecológica[®] 200D de estágio único, com capacidade para 200 ovos. As incubadoras foram reguladas para manter a temperatura da casca do ovo (EST) em 37,8°C (100°F) e o teor de UR de 55% durante o período de incubação. Entre o 8º e 18º dia de incubação, duas máquinas foram reguladas para manter a EST em 38,9°C (102°F), durante seis horas diariamente (Tratamento AT), e as outras duas incubadoras não sofreram mudança de temperatura (Tratamento Controle). Às 516 horas (21 dias) de incubação, os pintos eclodidos foram retirados para contagem de pintos nascidos, e posteriormente uma amostra ao acaso de 40 pintos por tratamento (20 pintos por máquina) foi separada para as análises posteriores. Os resultados não demonstraram diferença significativa nos parâmetros de incubação e qualidade do pintinho ($P > 0,05$). Foram observadas alterações significativas na bioquímica sanguínea. Pintos oriundos do grupo MT apresentaram menores níveis ($P \leq 0,05$) de glicemia e glicogênio hepático e maiores níveis de lactato no plasma, além de diminuição no índice hematócrito, quando comparados aos pintos do grupo controle. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos nos outros parâmetros hemogasométricos avaliados (pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, iCa, HCO₃⁻, TCO₂, SO₂ e hemoglobina). A manipulação térmica utilizada no presente trabalho alterou o metabolismo energético dos embriões, mas não foi suficiente para afetar o equilíbrio ácido-básico dos pintos. Concluiu-se que esta técnica pode ser aplicada sem causar prejuízo no desempenho zootécnico de incubação.

Palavras-chave: Desenvolvimento embrionário, epigenética, frangos de corte, temperatura da casca do ovo

Prenatal thermal manipulation technique: effects on incubation yield and chick morphophysiological characteristics

ABSTRACT

It was evaluated the effects of prenatal thermal manipulation technique, with egg shell temperature control, on incubation yield, morphological and physiological characteristics of broiler chicks. 720 eggs from Cobb® broiler breeders at 49 weeks old, were distributed in four single-stage Premium Ecológica® 200D incubator machines, with capacity for 200 eggs. Incubators were set to maintain egg shell temperature (EST) at 37.8°C (100°F) and RH content of 55% during incubation period. Between 8th and 18th day of incubation, two machines were regulated to maintain EST at 38.9°C (102°F) for six hours daily (HT Treatment), and the other two incubators did not change temperature (Control Treatment). At 516 hours (21 days) incubation, hatched chicks were removed for counting born chicks, and a random sample of 40 chicks per treatment (20 chicks per machine) was separated for further analysis. The results showed no significant difference in incubation parameters and chick quality ($P > 0.05$). Significant changes in blood biochemistry were observed. Chicks from HT group had lower levels ($P \leq 0.05$) of glucose and hepatic glycogen, and higher levels of lactate in plasma, besides a decrease in hematocrit index when compared to chicks of control group. No significant differences were found between treatments in other hemogasometric parameters evaluated (pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, iCa, HCO₃⁻, TCO₂, SO₂ and hemoglobin). Thermal manipulation used in the present study altered energetic metabolism of embryos, but it was not enough to affect acid-base balance of chicks. It was concluded that this technique can be applied without detriment to zootechnical performance of incubation.

Key words: embryonic development, epigenetics, broiler breeders, egg shell temperature

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o avanço nas áreas de nutrição, sanidade, manejo e seleção genética proporcionaram uma significativa melhora nos resultados zootécnicos dos frangos de corte. Entretanto, a ausência do desenvolvimento paralelo dos seus sistemas viscerais, ocasionou maior sensibilidade para suportar variações nas condições de temperatura ambiental durante a criação. Em regiões de clima tropical, o estresse por calor tem sido responsável por um aumento na taxa de mortalidade, além da diminuição do consumo de ração e ganho de peso.

Para minimizar as perdas econômicas, pesquisas têm apontado a técnica de manipulação térmica na incubação como uma ferramenta eficiente para melhorar a aquisição de termotolerância durante a vida pós-eclosão das aves. Estudos demonstram que, o período ideal para a realização da manipulação térmica deve estar de acordo com o intervalo em que ocorre o desenvolvimento dos eixos hipotálamo-hipófise-tireóide e hipotálamo-hipófise-adrenal, que compreende o 4º e 19º dia de incubação (THOMMER, 1985; YAHAV et al., 2004). Porém, o desenvolvimento do embrião é caracterizado por intensas reações fisiológicas e metabólicas. A tentativa de manter ou dissipar o calor incluem mudanças na taxa de respiração e nos íons plasmáticos, metabólitos sanguíneos e balanço ácido-básico do organismo (MORAES et al., 2004; MORAN, 2007). Desta forma, oscilações na temperatura de incubação podem interferir no rendimento do processo e na qualidade do pintinho de um dia.

Um importante fator a ser considerado no uso da manipulação térmica é que o ajuste da incubadora deve permitir manter a temperatura da casca do ovo nos níveis desejados, pois, na maioria dos trabalhos existentes na literatura, os tratamentos de temperatura aplicados aos ovos consideram apenas a temperatura da máquina de incubação, o que pode ocasionar um superaquecimento dos embriões e influenciar os resultados dos estudos.

Por meio da presente pesquisa, objetivou-se verificar se a técnica de manipulação térmica pré-natal com o controle da temperatura da casca (38,9°C por 6 horas diárias, entre os dias 8 e 18 de incubação), afeta o rendimento de incubação e as características morfofisiológicas de pintos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. SISTEMA TERMORREGULATÓRIO

Dentre os sistemas reguladores da homeostase do organismo das aves, o sistema termorregulatório está entre os mais importantes e críticos, tendo como objetivo manter a temperatura corporal do animal dentro dos limites toleráveis, estabilizando o meio interno para o bom funcionamento dos sistemas que compõem o organismo vivo na maioria das condições ambientais (FURLAN e MACARI, 2002; TZSCHENTKE, 2007).

Tzschentke (2007) afirmou que em frangos de corte, o desenvolvimento precoce de funções corporais adaptativas, como o sistema termorregulador, caracteriza-se pelas seguintes peculiaridades: em primeiro lugar, o desenvolvimento de mecanismos termorreguladores periféricos e nervosos centrais que começam durante a ontogenia pré-natal; em segundo lugar, sua maturidade é alcançada durante os primeiros dias de vida pós-eclosão. Sendo assim, esta fase de desenvolvimento precoce e muito sensível é de grande importância para a adaptabilidade do organismo durante a vida adulta.

2.1.1. Mecanismos fisiológicos da termorregulação

As funções de controle na temperatura corporal das aves são realizadas por estruturas do sistema nervoso central, que por sua vez controlam as interações hormonais em seu organismo. O desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) do frango começa na sua fase embrionária, mais precisamente no segundo dia de incubação, e entende-se até o momento da eclosão (BAARENDSE et al., 2007).

O complexo termorregulatório das aves é formado por quatro diferentes sistemas: receptor, controlador, efetor e sistema passivo. Os receptores percebem os estímulos externos, e a sua integração com o sistema nervoso induz a ativação de mecanismos controladores da temperatura corporal. Os sistemas efetores participam induzindo as respostas para a manutenção da homeotermia. Portanto, pode-se dizer que o controle da temperatura das aves ocorre a partir do balanço de duas variáveis: uma

associada às respostas promovidas pelo aumento da temperatura e outra pela redução da temperatura (TZSCHENTKE, 2007).

É assumida a existência de duas populações de neurônios no hipotálamo (responsivos ao calor e ao frio). Os neurônios responsivos ao calor são ativados por meio do aumento da temperatura corporal, induzindo o animal a ter respostas de perda de calor; e os neurônios responsivos ao frio induzem uma regulação térmica (FURLAN e MACARI, 2002). Esses neurônios promovem mudanças nos sistemas circulatório, respiratório e o metabolismo em geral. Assim, esses sistemas possuem a capacidade de integrar suas atividades, participando de reações adequadas e coordenadas, resultando no controle da temperatura corporal das aves (NICHELMANN et al., 2001).

Nichelmann et al. (2002) informaram que, dentre os meios que levam à termorregulação, o metabolismo energético é o mais importante para a ocorrência dessa função, pois os hormônios que estão relacionados ao controle do metabolismo energético das aves, como as catecolaminas, corticosteróides e hormônios tireoidianos, ocorrem muito cedo no sangue e no líquido alantóico durante o desenvolvimento embrionário.

Darras et al. (2000) relataram que os hormônios tireoidianos regulam a taxa de metabolismo basal e são essenciais para a manutenção da temperatura corporal constante em animais homeotérmicos. O hormônio T_3 é o principal fator que estimula a termogênese por ser o principal agente controlador do metabolismo basal. A concentração circulante de T_3 é reduzida em altas temperaturas, enquanto que em baixas temperaturas, a concentração aumenta (YAHAV e HURWITZ, 1996; YALÇIN et al., 2009). Portanto, pode-se afirmar que a indução de termotolerância por condicionamento de temperatura está intimamente associada à modulação da concentração plasmática de T_3 .

2.1.2. Sistema termorregulatório em embriões durante a incubação

Durante a fase de incubação, período em que ainda existe uma baixa eficiência das reações endotérmicas, o embrião tem uma capacidade limitada de estabilizar sua

temperatura corporal, quando expostos à temperatura ambiente. Nesse período, mudanças agudas nas condições ambientais induzem as primeiras reações não coordenadas e não adaptativas. Mais tarde, as reações não adaptativas descoordenadas se transformam em reações coordenadas (adaptativas). Neste momento, o ambiente modula o desenvolvimento dos respectivos sistemas de controle fisiológico para todo o período de vida, especialmente por promover mudanças na neuroorganização e expressão de genes efetores relacionados. Essas reações podem interferir positivamente com uma adaptação epigenética às condições ambientais esperadas (TZSCHENTKE, 2007).

O sistema termorregulatório das aves começa a se desenvolver ainda nos primeiros dias de incubação, a partir do início desenvolvimento do sistema nervoso central e periférico, que são responsáveis pelos mecanismos de regulação térmica das aves, e se estende até os primeiros dias de vida do pintinho. A extensão do desenvolvimento pré-natal desse sistema está diretamente relacionada com velocidade da maturação dos mecanismos de regulação da temperatura corporal nos primeiros dias após o nascimento, o que é importante para o desempenho de todo o organismo (NICHELMANN et al., 2001; NICHELMANN E TZSCHENTKE, 2002; 2003).

Com a progressão da incubação, o calor produzido pelos embriões, determinado pelo consumo de oxigênio, aumenta em função exponencial (JANKE et al., 2002). Antes da eclosão, o sistema regulatório do embrião passa de sistema aberto, sem controle de feedback, para sistema fechado, controlado com mecanismos de feedback. Essa mudança provavelmente ocorre com o desenvolvimento da circulação corioalantóide (TZSCHENTKE e PLAGEMANN, 2006). Nessa fase, a produção de calor é estabilizada, pois os mecanismos termorreguladores e sistemas fisiológicos já se encontram bem desenvolvidos.

De acordo com Tazawa et al. (1971), outra estratégia de termorregulação é definida pelas contrações rítmicas da musculatura respiratória, iniciadas antes do processo de bicagem interna. Estes autores explicaram que a ocorrência desses mecanismos se dá com ausência de ventilação pulmonar, havendo também como objetivo, a consolidação da morfologia do sistema respiratório do pintinho.

Posteriormente, o embrião perfura a membrana corioalantóide e a membrana interna da casca e inicia a respiração pulmonar (TAZAWA e WHITTOW, 2000).

Durante o terço final da incubação, os embriões de aves também são capazes de reagir à mudanças na temperatura do ambiente externo com alterações no fluxo sanguíneo, por meio da vasodilatação e a vasoconstrição, sendo considerados como mecanismos termorreguladores que contribuem para a proteção do animal em hipertermia ou hipotermia (TZSCHENTKE, 2007). Nichelmann e Tzschentke (2003) observaram uma mudança no fluxo sanguíneo de embriões de frango no 19° e 20° dia de incubação, onde esse fluxo aumentou durante o aquecimento e diminuiu durante o resfriamento. Alterações semelhantes foram encontradas por Tzschentze e Basta (2002), que trabalharam com embriões de patos Muscovy.

2.1.3. Sistema termorregulatório das aves após a eclosão

Logo após o nascimento, a ave entra na sua segunda fase do desenvolvimento do sistema regulatório, compreendendo o primeiro dia pós-eclosão até o seu 10° de vida (NICHELMANN e TZSCHENTKE, 2002). Nessa fase, o pintinho irá apresentar uma capacidade de manter sua temperatura corporal maior, porém ainda limitada, quando exposto às oscilações de temperatura no ambiente, comparando-se com a fase pré-natal.

Por fim, a partir do 10° dia de vida pós-eclosão, o pintinho adquire a capacidade de manter sua temperatura constante, sobre uma ampla faixa de variação térmica ambiental. Nesse momento, o sistema de termorregulação torna-se eficiente em sua totalidade, assim a ave passando a ser homeotérmica (NICHELMANN e TZSCHENTKE, 2002).

Furlan e Macari (2002) afirmaram que a manutenção da temperatura corporal das aves é feita através de mecanismos de produção e perda de calor. Portanto, à medida que a temperatura corporal se eleva, configurando um estresse calórico, processos fisiológicos são ativados com a finalidade de aumentar a dissipação de calor e reduzir a produção metabólica de calor.

2.2. MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A EMBRIOGÊNESE

A temperatura experimentada durante momentos críticos na embriogênese está intimamente relacionada com o mecanismo neural de termossensibilidade, e com o critério de expressão dos genes, denominada de programação epigenética (JANKE et al., 2002; TZSCHENTKE e PLAGEMANN, 2006).

Tzschentze e Tatage (2013) afirmaram que a adaptação epigenética ao calor na fase perinatal envolve mudanças na regulação hormonal e metabólica, que aumentam a resistência da ave ao estresse calórico no período pós-eclosão. A adaptação epigenética, pode ser uma vantagem prática para aliviar os problemas associados ao controle da termorregulação das aves durante a criação (NICHELMANN, 2002; TZSCHENTKE 2007). Assim, esses autores estabeleceram que a modificação das temperaturas padrão de incubação, por meio de “desafios térmicos”, pode ser uma forma de melhorar a capacidade dos frangos de corte de se adaptarem ao ambiente quente ou frio durante a sua vida pós-natal.

Em seu estudo, Iqbal et al. (1990) encontraram um aumento na resistência ao estresse térmico agudo durante a criação, a partir da elevação na temperatura de incubação entre os dias 11 e 20. Nichelmann e Tzschentke (1999) relataram que a temperatura de incubação menor que a habitual, durante a última semana de desenvolvimento embrionário, pode induzir ajuste termorregulador e aumentar o potencial de tolerância ao frio, concordando com a pesquisa de Nichelmann et al. (1994). Estes pesquisadores observaram que a redução da temperatura ambiente durante os últimos 7 dias de incubação aumentou a resistência de patos ao frio após a eclosão.

Estudos revelaram resultados positivos da manipulação térmica durante a embriogênese, a respeito de características do desempenho zootécnico do frango de corte, como por exemplo, efeitos benéficos sobre a composição corporal e rendimento de carcaça dos frangos aos 42 dias de idade. Portanto, pode-se dizer que a manipulação térmica com calor pode ser empregada para adaptar os organismos a altas temperaturas ambientais pós-natais (TZSCHENTKE e NICHELMANN, 1997).

Willemsen et al. (2011), alertaram que a manipulação térmica durante a embriogênese de frangos de corte pode influenciar o desenvolvimento embrionário, o

processo de incubação e a criação; no entanto, esta influência depende, em grande parte, do período e frequência, duração e amplitude da temperatura utilizada durante a técnica.

Sobre o período da prática da manipulação térmica, alguns autores aplicaram tratamentos de temperatura de incubação antes do 10º dia, sendo uma fase anterior ao estabelecimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide/adrenal (YAHAV et al., 2004, COLLIN et al., 2007, PIESTUN et al., 2008), enquanto que outros escolheram período que compreendem o 13º dia em diante de incubação (MORAES et al., 2003, 2004, YAHAV et al., 2004; COLLIN et al., 2005; TZSCHENTKE e HALLE, 2009), fase durante a qual a produção de hormônios tireoidianos aumenta significativamente.

Moraes et al. (2003) sugeriram que a manipulação térmica mediante à exposição de embriões de frangos de corte a 39,0°C, durante 2 horas diárias, entre o 13º e 17º dia de incubação, pode melhorar a capacidade de termorregulação na fase de produção, por meio de uma diminuição dos níveis de T3 plasmáticos em frangos oriundos do tratamento de manipulação térmica na embriogênese, quando comparados aos frangos do tratamento controle.

Posteriormente, Yahav et al. (2004), concluíram que o período ideal para a realização da manipulação térmica, deve estar de acordo com o intervalo em que ocorre o desenvolvimento e maturação dos eixos hipotálamo-hipófise-tireoide e hipotálamo-hipófise-adrenal. Esses eixos estão intimamente relacionados com a produção e liberação de hormônios que regulam o metabolismo energético das aves. Em 1985, Thommer et al. já afirmaram que o desenvolvimento desses eixos do sistema nervoso central compreendem o intervalo do dia 4.5 até 19.5 do desenvolvimento embrionário. Durante esse período considerado como “crítico”, o ambiente externo exerce grande influência na determinação de respostas duradouras no organismo, principalmente por meio de estratégias para influenciar o padrão da expressão gênica dessas características, e conseqüentemente à organização dos neurônios responsivos ao ambiente (TZSCHENTZE e PLAGEMANN, 2006).

Para avaliar o desempenho de frango de corte Ross 308[®] machos e fêmeas, Tzschentke e Halle (2009) incubaram ovos em temperatura normal (37,2–37,4°C) entre os dias 1 e 17 de incubação. Após o dia 18 até a eclosão, os ovos foram incubados em

três programas diferentes de temperatura: 37,2–37,4°C (controle), 1°C acima do padrão (38,2–38,4°C, incubação quente constante) e 1°C acima do padrão por 2 horas por dia (estimulação quente de curto prazo), e observaram resultados semelhantes aos de Hulet et al. (2007), cujos frangos estimulados durante ao calor (por curto prazo) durante a incubação, independente do sexo, apresentaram melhores resultados de ganho de peso e conversão alimentar na fase de produção.

Piestun et al., (2008, 2009) indicaram que a manipulação térmica no período entre os dias 7 e 16 de incubação, intervalo que já se encontra um significativo desenvolvimento de ambos os eixos regulatórios, pode diminuir a temperatura corporal do frango na criação. Esses autores validaram condições ideais para o tratamento térmico de embriões de frangos de corte Cobb 500[®] criados em gaiolas com 39,5°C durante 12 horas por dia. Nestas condições, a temperatura corporal dos frangos foi reduzida e a sobrevivência durante um desafio de calor aos 35 dias de criação foi elevada. Porém, em outros estudos o tratamento térmico em embriões foi realizado a temperaturas de 38,5 a 39,6°C durante 3 a 6 horas diárias, entre o 10° e 18° dia de incubação, e resultaram em aumento da termotolerância de frangos de corte a altas temperaturas ambiente (YAHAV et al., 2004; YALÇIN et al., 2005, 2008b; COLLIN et al., 2007; PIESTUM, 2011).

2.2.1. Influência da manipulação térmica sobre os parâmetros de incubação

Leandro et al. (2000) conduziram um experimento para avaliar o efeito de períodos de estresse térmico (40,0°C) durante a incubação sobre a eclodibilidade e qualidade dos pintos nascidos. Ovos de matrizes com 42 semanas de idade foram distribuídos em três incubadoras, reguladas para manter uma temperatura de 37,8°C e umidade relativa de 60%, do dia 1 ao 16 de incubação. No 16° dia de incubação, foi aplicada uma variação de temperatura 40,0°C (quente) ou 32,0°C (frio) durante cinco horas em duas máquinas. A terceira incubadora permaneceu com a temperatura de 37,8°C (controle). Os autores concluíram que a alteração da temperatura normal de incubação, com resfriamento ou aquecimento por 5 horas diárias no 16° dia em diante, não foi suficiente para prejudicar a eclodibilidade.

Yildirim e Yetisir (2004) incubaram ovos de matrizes pesadas com 52 semanas de idade a uma temperatura de 37,6°C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$) e umidade de 58%, do dia 1 ao 17 de incubação. No 17º dia, os autores distribuíram os ovos em tratamentos com temperatura baixa (36,1°C), controle (37,2°C), alta (38,3°C) e muito alta (39,9°C), e monitoraram a taxa de eclosão e mortalidade embrionária na fase final de incubação.

Tabela 1. Efeitos da temperatura de incubação durante os últimos 5 dias de incubação sobre a eclodibilidade dos ovos incubados.

Tratamento	Média da eclodibilidade (%)	Mortalidade embrionária final (%)
Controle	80,7 ^a $\pm 1,3$	2,3 ^b $\pm 1,1$
Baixa	64,4 ^b $\pm 1,3$	8,0 ^a $\pm 1,5$
Alta	82,3 ^a $\pm 2,2$	3,3 ^b $\pm 1,5$
Muito alta	75,8 ^{ab} $\pm 2,3$	4,2 ^b $\pm 0,9$

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$)

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$)

Fonte: adaptado de Yildirim e Yetisir (2004)

Os autores observaram que a eclodibilidade dos ovos tratados com temperatura alta (38,3°C) e muito alta (39,9°C) no nascedouro, não diferiram estatisticamente do tratamento controle (tabela 1). O índice de mortalidade embrionária final para os tratamentos com temperatura controle, alta e muito alta, não diferiram significativamente, enquanto que o grupo de temperatura baixa apresentou uma taxa de mortalidade significativamente maior que os demais tratamentos. Os autores concluíram que melhores índices de eclodibilidade serão obtidos se forem utilizadas temperaturas de incubação entre 37,2°C a 38,3°C nos últimos dias de incubação.

No mesmo ano, Yahav et al. (2004) publicaram um estudo que teve como objetivo elucidar os efeitos da manipulação térmica durante diferentes períodos do desenvolvimento embrionário sobre a eclodibilidade, peso corporal e termorregulação de pintos Ross[®] na eclosão. Os pesquisadores também investigaram a habilidade do pintinho para enfrentar o desafio térmico (TC) aos 3 dias de idade. Embriões do grupo controle foram incubados a 37,8°C e 56% de umidade relativa, enquanto os embriões da manipulação térmica foram tratados durante 3 horas a 39,5°C (1) ou 41,0°C (2) e 65% de umidade relativa, durante os dias 8 a 10 de incubação ou durante os dias 16 a 18. Os

dados obtidos (tabela 2) demonstram que a maior eclodibilidade significativa foi obtida quando os embriões foram manipulados com temperatura de 39,5°C por 3 horas diárias entre os dias 16 a 18 de incubação (manipulação tardia). Menores temperaturas corporais foram obtidas em pintos tratados a 39,5°C em ambos os períodos. Os autores sugeriram que a utilização de tratamento térmico com temperaturas de 39,5°C são benéficas para os resultados de incubação.

Tabela 2. Eclodibilidade, peso do corpo e temperatura corporal de pintos de corte.

Variáveis	Tratamentos				
	Controle	8-10d(1)	8-10d(2)	16-18d(1)	16-18d(2)
Nº de ovos eclod.	165	168	164	183	158
Eclodibilidade (%)	92.49b	89.89b	89.67b	97.88a	92.48b
Peso do corpo (g)	46.78±0.30	47.25±0.29	46.95±0.30	46.99±0.29	46.97±0.31
Tb (°C)	38.12±0.09ab	37.75±0.09b	37.97±0.09ab	37.72±0.09b	38.23±0.10a

Médias na mesma linha, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$)

Adaptado de Yahav et al. (2004).

Trabalhando com aves da linhagem Ross[®], Collin et al. (2005) testaram o efeito do tempo de exposição à manipulação térmica durante a embriogênese de frangos de corte sobre os resultados de incubação, peso corporal e temperatura cloacal do pintinho recém-eclodido. Os embriões controle foram incubados a 37,8°C durante toda incubação, enquanto que os embriões do tratamento de manipulação térmica foram incubados a 37,8°C e tratados a 38,9°C por 3h/dia (D1), 6h/dia (D2), 12h/dia (D3) ou 24h/dia (D4) entre o 16º e 18º dia de incubação (Tabela 3). Os pesquisadores constataram que as diferentes formas de manipulação térmica durante a embriogênese não prejudicaram os índices de eclosão e peso do pintinho, e ocasionaram temperaturas corporais significativamente mais baixas quando comparados aos pintos do tratamento controle. Isso sugere que os embriões tratados termicamente podem se transformar em pintos com maior termotolerância no período de criação.

Tabela 3. Eclodibilidade, peso do corpo e temperatura corporal (Tc) após incubação de frangos expostos a diferentes durações de manipulação térmica durante a embriogênese: 3 horas por dia (D1), 6 horas por dia (D2), 12 horas por dia (D3) ou 24 horas por dia (D4) de exposição a 39,5°C entre os dias 16 e 18 da embriogênese.

Variáveis	Tratamentos				
	Controle	D1	D2	D3	D4
Nº de ovos eclod.	158	153	158	170	161
Eclodibilidade (%)	87.8ab	82.7b	87.8ab	91.4a	91.0a
Peso do corpo (g)	45.49	45.53	45.74	45.52	45.67
Tc (°C)	36.86a	36.34b	36.40b	36.43b	36.46b

^{a,b} Médias na mesma linha, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$)

Adaptado de: Collin et al. (2005).

Posteriormente, para avaliar os efeitos da manipulação térmica durante fases da embriogênese sobre a taxa de eclosão e mortalidade embrionária, Collin et al. (2007) utilizaram tratamentos de temperatura de incubação de 39,5°C, por 3 horas diárias durante fase inicial (FI - do 8° ao 10° dia), fase final (FF - do 16° ao 18° dia) ou em ambas as fases (FI + FF). Os pesquisadores encontraram taxas de eclodibilidade de ovos férteis mais elevadas no tratamento com manipulação térmica na fase inicial (FI), e a segunda maior taxa de eclosão em ovos do tratamento FF (tabela 4). O tratamento FI + FF resultou em um decréscimo significativo na eclodibilidade dos ovos. Os autores concluíram que melhores taxas de eclodibilidade são encontradas em embriões tratados com manipulação térmica por curtos períodos da incubação.

Tabela 4. Efeitos dos tratamentos de incubação controle (37,8°C) ou com manipulação térmica a 39,5°C nas fases FI, FF ou FI+FF, sobre a eclodibilidade.

Item	Controle	FI	FF	FI+FF
Numero de ovos incubados	373	374	373	374
Ovos inférteis (%)	12.6	13.6	15.5	12.6
Taxa de eclosão sobre ovos férteis (%)	88.2c	96.3a	92.0b	75.5d

^{a,b} Médias na mesma linha, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$)

Controle (37,8°C durante toda incubação), FI (fase final), FF (fase inicial), FI+FF (fase inicial+fase final).

Adaptado de: Collin et al. (2007)

Yalçın et al. (2008a) trabalhando com aclimação ao calor durante a incubação, utilizando altas temperaturas de 39,6°C por 6 horas diárias, do 10° dia ao 18° dia, não

encontraram diferença na taxa de eclosão. Os autores concluíram que a manipulação térmica com calor não afeta negativamente o índice de eclodibilidade dos ovos. Posteriormente, Loyal et al. (2013) incubaram ovos de matrizes pesadas em condições controle (37,8°C) ou expostos a manipulação térmica (TM, 12 h/dia a 39,5°C), do dia 7 ao 16 de incubação. Os autores também observaram que a manipulação térmica não afetou a taxa de eclosão.

2.2.2. Influência da manipulação térmica sobre o peso de órgãos e qualidade de pintos recém-eclodidos

O desenvolvimento de todos os tecidos pode ser afetado pelas condições de temperatura durante a incubação (DECUYPERE e MICHELS, 1992), podendo alterar o tamanho do embrião, o crescimento dos órgãos e esqueleto, a taxa metabólica, o desenvolvimento fisiológico e o sucesso da incubação (YALÇIN e SIEGEL, 2003; BLACK e BURGGREN, 2004; TAZAWA et al., 2004; MORITA et al., 2016). Estes fatores indicam um potencial para manipular o desenvolvimento embrionário e pré-condicionar o metabolismo das aves às condições ambientais pós-eclosão por meio de alterações térmicas na fase pré-natal (AKSIT et al., 2010; TZSCHENTKE, 2011).

Temperaturas elevadas reduzem a o desenvolvimento do trato gastrointestinal e a atividade enzimática (WINELAND et al., 2006a, b; LEKSRISOMPONG et al., 2007). Alguns trabalhos demonstraram que temperaturas da casca do ovo mais elevadas durante a incubação, alteram o desenvolvimento do músculo cardíaco (CHRISTENSEN et al., 2004b; LEKSRISOMPONG et al., 2007, MAATJENS et al., 2014a). Willemsem et al.(2010) incubaram ovos em três temperaturas 34,6°C, 37,6°C e 40,6°C constantes entre os dias 16 e 18 de incubação, e encontraram menor peso corporal sem o saco de gema residual e maior peso de gema residual nos embriões incubados na maior temperatura na eclosão. Porém, os trabalhos citados utilizaram temperaturas contínuas aos dias estabelecidos para a manipulação, ou seja, 24 horas por dia.

Incubando ovos de um lote comercial de matrizes de corte com 42 semanas de idade, Leandro et al. (2000) concluíram que a alteração da temperatura de incubação, com resfriamento (32,0°C) ou aquecimento (40,0°C) por 5 h/dia a partir do 16° dia de

incubação, não foi suficiente para prejudicar a qualidade dos pintainhos, mas causou um aumento no período total de incubação. Os autores não encontraram diferenças significativas no peso do pintinho recém-eclodido, escore de umbigo e pernas (tabela 5). Os pesquisadores concluíram que as alterações na temperatura padrão de incubação, com resfriamento ou superaquecimento durante um breve período, não prejudicam a eclodibilidade e/ou qualidade dos pintainhos. Entretanto, o atraso na bicagem interna, bicagem externa e na eclosão, provocados pela variação térmica, sugerem que as modificações nas condições temperatura de incubação foram suficientes para provocar algum estresse nos embriões.

Tabela 5. Médias de tempos da bicagem interna e bicagem externa, período de incubação, peso do pintinho, escore de umbigo e de pernas em pintinhos submetidos à manipulação térmica por frio ou calor.

Características	Temperatura de incubação		
	Frio	Calor	Controle
Início da bicagem interna (h)	467,4 ± 2,35a	465,9 ± 2,31a	460,3 ± 2,02b
Início da bicagem externa (h)	495,2 ± 1,74a	494,0 ± 2,01a	482,2 ± 2,07b
Período de incubação (h)	506,5 ± 1,48a	504,2 ± 1,58a	496,3 ± 0,69b
Peso do pintinho (g)	51,1 ± 0,32a	50,8 ± 0,34a	51,7 ± 0,32a
Escore de umbigo	1,35 ± 0,07a	1,44 ± 0,08a	1,39 ± 0,08a
Escore de pernas	1,08 ± 0,04a	1,06 ± 0,04a	1,02 ± 0,02a

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças estatísticas $p \leq 0,05$.

Controle = 37,8°C / tratados: 1° ao 15°, 37,8°C e do 16° em diante, Calor= 40°C, Frio = 32°C)

Fonte: Adaptado de Leandro et al. (2000).

Yalçın e Sieguel (2003) observaram que pintinhos nascidos a partir de ovos tratados com temperatura de 39,6°C durante 6 horas diariamente (entre o dia 10 e 18 de incubação) apresentaram peso corporal e peso relativo do coração estatisticamente semelhante ao dos pintos do tratamento controle. Da mesma maneira, Yahav et al. (2004), utilizando tratamento térmico de 39,9°C (3h por dia, entre os dias 8 e 10 ou 16 e 18 de incubação); e Collin et al. (2005) utilizando temperatura de 38,9°C (3h/dia, 6h/dia, 12h/dia ou 24h/dia, entre o 16° e 18° dia de incubação), também observaram que a manipulação térmica não afetou o peso do pinto recém-eclodido.

Yalçin et al. (2008a) incubaram ovos de matrizes Ross® 308 onde, em uma incubadora (controle) foi mantida a temperatura de 37,5°C durante toda incubação e em outra incubadora os ovos foram aclimatados a 38,5°C (MT) por 6 horas diárias do dia 10 ao 18 de incubação. Os autores puderam observar que a aclimação por calor durante a incubação influenciou os pesos dos órgãos no embrião em desenvolvimento e o pinto na eclosão (tabela 6). Foram observados níveis inferiores de peso de fígado e coração para o grupo MT em comparação com o grupo controle, sem alterações no crescimento proporcional desses órgãos. No entanto, durante os últimos 4 dias de aclimação (do dias 14 ao 18 de incubação) o crescimento do embrião acelerou, indicando crescimento compensatório. Do 14° ao 18° dia de incubação, os pesos do fígado e dos pulmões aumentaram mais rapidamente do que o peso do embrião, resultando em um aumento significativo da porcentagem desses órgãos, sugerindo um crescimento proporcional diferencial. Foram registrados pintos mais pesados na eclosão para o grupo MT em comparação ao grupo controle, demonstrando que os pintinhos de grupo MT ganharam mais peso desde o final da aclimação até o momento da eclosão. Assim, os autores concluíram que os embriões podem tolerar a temperatura mais alta sem reduzir a taxa de eclosão. Esta observação está de acordo o trabalho anterior (YALÇIN e SIEGEL, 2003), sugerindo que a aclimação iniciada aos 10 dias de incubação não prejudica o desenvolvimento do embrião.

Tabela 6. Pesos médios de embriões (g) e órgãos (em relação ao peso embrionário) durante a incubação de ovos manipulados termicamente.

Idade embrionária	Tratamento	Embrião (g)	Fígado (%)	Coração (%)	Pulmão (%)
14 dias	Controle	15.57a	1.72	0.80	—
	MT	14.07b	1.68	0.78	—
18 dias	Controle	33.74	1.81b	0.61	0.69b
	MT	33.78	1.99a	0.59	0.90a
Eclosão	Controle	44.55b	2.25a	0.73a	0.58
	MT	46.70a	1.82b	0.62b	0.61

^{a-b} Médias na mesma linha com letras diferente diferem significativamente ($P \leq 0,05$). Controle = incubado a 37,8°C (em toda incubação); MT (expostos a 38,5°C por 6h/dia do 10° ao 18° dia de incubação)

Adaptado de: Yalçin et al. (2008a)

Em outro estudo, Willemsen et al. (2011) observaram que o peso relativo de embrião sem gema não foi afetado significativamente pelo tratamento intermitente de baixa (34,6°C) ou alta (40,6°C) temperatura, por 4h horas diárias no dia 16 ao 18. Entretanto, Al-zghuol et al. (2016) observaram que pintinhos tratados termicamente durante os dias 12 aos 18 de incubação, com 9, 12 ou 18 horas diárias à 39,0°C apresentaram maiores pesos significativos na eclosão.

2.2.3. Influência da manipulação térmica sobre a fisiologia embrionária

Oscilações na temperatura do ambiente promovem mudanças fisiológicas nos frangos de corte, tanto em fase embrionária, quanto em sua vida pós-natal. A tentativa de manter ou dissipar o calor corporal incluem mudanças na taxa de respiração, nos íons plasmáticos e metabólitos sanguíneos, sendo que estas alterações podem resultar em efeitos sobre os índices zootécnicos (MORAES et al., 2004; MORAN, 2007).

2.2.3.1 Parâmetros bioquímicos do sangue

No momento da postura, ovos de frango de corte contêm, em média, 65,6% de água, 12,1% de proteína, 10,5% de lipídios, 0,9% de carboidratos e 10,9% de minerais. Esses embriões se desenvolvem e crescem durante os 21 dias de incubação, por meio da utilização dos nutrientes contidos em seu interior (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949; WILSON, 1997).

As proteínas do ovo são utilizadas principalmente para o desenvolvimento do corpo durante a incubação (ROMANOFF, 1967). Os principais nutrientes energéticos utilizados pelos embriões em desenvolvimento consistem em gordura da gema e carboidratos (STARCK e RICKELEFS, 1998), sendo os lipídios a maior fonte de energia durante a incubação (aproximadamente 90%) (NOBLE e COCCHI, 1990). No entanto, a glicose é a principal fonte energética necessária para o seu desenvolvimento, crescimento e manutenção e é um componente importante das membranas celulares, glicoproteínas e glicolípidos (FOYE e FERKET, 2006).

De acordo com Moran (2007), os principais processos fisiológicos que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário das aves podem ser subdivididos em três fases importantes: A primeira fase compreende a primeira semana de incubação, e se caracteriza pela formação dos compartimentos do ovo (âmnio, córion, alantóide e saco vitelino), os quais fornecem suporte para a sobrevivência do embrião em desenvolvimento. Na segunda fase, que se inicia por volta do 8º dia de incubação, o embrião encontra-se em intenso crescimento e ocorre a maturação da membrana corioalantóide, com conseqüente melhora no suprimento de oxigênio para o embrião antes da sua transição para a respiração pulmonar. Por último, a terceira fase inicia-se a partir da bicagem da membrana interna da casca até a eclosão (do 19º ao 21º dia de incubação). Nessa fase, o embrião inicia o estabelecimento da respiração pulmonar, sendo caracterizada pela intensa demanda energética do embrião para o seu processo de nascimento (WILSON, 1997; BARBOSA, 2011; MARTINS, 2017).

Durante a primeira semana de incubação, a membrana corioalantóide (CAM) não se encontra totalmente desenvolvida, limitando o fornecimento de O₂ necessário para a oxidação completa de lipídios. Neste período, grande parte da energia obtida pelo embrião, resulta da via glicolítica sem a presença de O₂, a partir da glicose disponível no albúmen. Isto resulta em um aumento transitório na concentração de lactato, até que a CAM se torne funcional (KUCERA et al., 1984).

O lactato é conhecido como um importante metabólito intermediário, sendo produzido a partir a oxidação anaeróbica da glicose (OLIVEIRA et al., 2013). Este metabólito tem a capacidade de liberar energia mais rapidamente e é facilmente transportado através de membranas celulares sem a necessidade da sinalização hormonal por insulina. Também é considerado um bom indicador de esforço físico, situação enfrentada pelos embriões no final da incubação, quando grande quantidade de energia é utilizada pelos músculos para realização de movimentos de rotação do corpo e para a bicagem da casca (CHRISTENSEN et al. 2001).

Entre o 7º e 8º dia de incubação, os anexos embrionários córion e alantóide se encontram ligados, compondo a membrana corioalantóide (CAM). A CAM constitui uma rede de vasos sanguíneos, ligados aos poros da casa do ovo, que facilita as trocas gasosas entre o embrião e o ambiente externo. Nesse momento o embrião se encontra na

segunda fase do seu desenvolvimento, caracterizada pelo aumento da oxidação lipídica (principalmente TAG), intenso aumento do metabolismo e do desenvolvimento embrionário (SATO et al., 2006; DECUYPERE, 1991).

A partir da quantidade total de gordura no ovo antes da incubação, cerca de 20% é encontrada no pinto recém-eclodido, 40% permanece na gema residual e 40% é oxidado fornecendo energia para o seu desenvolvimento (ROMANOFF, 1967). O glicerol, resultante da hidrólise dos triglicerídeos, pode ser encaminhado para a via da gliconeogênese.

Segundo Foye et al. (2006), para sintetizar a glicose, a atividade das enzimas gliconeogênicas aumenta ao longo da incubação com aminoácidos glicogênicos, glicerol ou lactato como potenciais precursores. A gliconeogênese das proteínas que compõe a albumina acontece por meio da utilização dos carboidratos inerentes para formar glicogênio, ao mesmo tempo em que preserva os aminoácidos essenciais para síntese protéica (MURAMATSU et al., 1990, MORAN, 2007). Como resultado, a glicemia sanguínea aumenta progressivamente sendo direcionada para a síntese de glicogênio no fígado, músculos e membranas do saco vitelino para posteriormente serem utilizados no processo de eclosão (FOYE et al., 2006; MORAN, 2007).

Os sete últimos dias são decisivos para que o embrião suporte a sua transição para pintinho de um dia de boa qualidade (MORAN, 2007). Entre o 15º dia de incubação e o momento da bicagem da membrana interna, a troca de O₂ e CO₂ é restrita, devido a um limite máximo na condutância da casca do ovo, determinada pela quantidade de poros da casca e da membrana corioalantóide, o que resulta em uma fase de platô na produção de calor do embrião (LOURENS et al., 2007).

Por volta do 18º e 19º dia de incubação, o pintinho encontra-se em alta taxa metabólica, ocorrendo o estado de hipóxia (diminuição das taxas de oxigênio no sangue arterial ou nos tecidos). Em busca do suprimento de O₂, o pintinho inicia a bicagem da câmara de ar. Nesse momento, o glicogênio hepático é preferencialmente mobilizado quando o pintinho começa o processo de bicagem interna até a eclosão (FREEMAN, 1969; GARCÍA et al., 1986; FOYE et al., 2006). Após o consumo do oxigênio presente na câmara de ar, o acesso ao oxigênio retorna a ser limitado. Em consequência, o

embrião volta a metabolizar a glicose de forma anaeróbica, novamente ocorrendo um aumento da concentração sanguínea de lactato (UNI et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2013).

Lu et al. (2007) afirmaram que altos níveis de glicose plasmática durante a bicagem interna e a eclosão podem indicar que a glicose está sendo utilizada como uma fonte de energia, durante este período crítico, para que o embrião sobreviva. Os pesquisadores encontraram médias de glicose plasmática de pintos incubados a 37,8°C entre 218.18 ± 3.22 para fêmeas e 227.09 ± 5.50 mg/dL para machos. Yalçin et al. (2008a) observaram pintinhos nascidos de ovos tratados com manipulação térmica a 38,5°C por 6 horas diárias do dia 10 aos 18 de incubação e obtiveram menores médias dos níveis de glicose sanguínea na eclosão, quando comparados a pintos controle (177mg/dL x 199mg/dL). Os autores explicaram que este fato foi ocasionado pelo aumento da taxa metabólica dos embriões tratados termicamente, refletido pelo aumento da concentração do hormônio T₃ circulante no sangue desses animais.

Molenaar et al. (2010) determinaram que em elevada temperatura contínua da casca do ovo (38,9°C), a oxidação da glicose é aumentada e a síntese de glicogênio diminuída. Maatjens et al.(2014b) afirmaram que, em altas temperaturas contínuas da casca, pode ocorrer aumento na utilização da glicose sanguínea para obtenção energia imediata desviando parte da glicose que seria enviada para a síntese de glicogênio.

No entanto, manipulando os embriões termicamente para o frio (34,6°C) e calor (40,6°C) continuamente entre os dias 16 e 18 de incubação, Willemsen et al. (2010) não observaram diferença significativa entre as médias de glicogênio no fígado dos pintinhos. Em 2011, trabalhando com manipulação térmica intermitente, os mesmos autores também não encontraram diferença significativa para os valores de glicogênio hepático na eclosão dos pintos termicamente tratados com calor (40,6°C por 4h/dia, do 16° ao 18° dia de incubação) quando comparado aos pintos do grupo controle (WILLEMSEN et al., 2011).

A alta demanda energética durante o processo de eclosão, principalmente quando há uma significativa diminuição na quantidade estocada nos tecidos em forma de glicogênio, pode provocar o aumento de vias que produzem energia por meio de

degradação de proteínas musculares do corpo, e consequente aumento da produção de ácido úrico (CHRISTENSEN et al. 2001). O ácido úrico é o principal produto do catabolismo das proteínas, nitrogênio e de bases púricas em aves, constituindo aproximadamente, 60 a 80% do total do nitrogênio que é excretado através da urina (SAKOMURA et al., 2014).

Moraes et al. (2004) relataram que o aquecimento de ovos a 39,0°C do dia 13 ao 17 de incubação, durante 2 horas diárias, com finalidade de aquisição de termotolerância, não afetou as concentrações plasmáticas de ácido úrico. Entretanto, Yalçin et al. (2008a) observaram que pintos oriundos de ovos aclimatados a 39,6°C por 6 horas diárias entre o 10° e 18° dia de incubação, tiveram menores níveis plasmáticos de glicose e ácido úrico em comparação com o grupo controle (tabela 7).

Tabela 7. Valores médios de glicose e ácido úrico de pintos todos os tratamentos controle e manipulação térmica (MT) nos momentos de pós eclosão e 7 dias pós-eclosão.

Item	Glicose mg/d		Ácido Úrico mg/d	
	Eclosão	7 dias	Eclosão	7 dias
Temp. de incubação ¹				
Controle	199a	248a	7.3a	6.6a
MT	177b	211b	2.9b	5.6b

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

¹ Temperatura de incubação: controle (incubado a 37,8°C por 21 dias); MT (exposto ao aquecimento a 38,5°C por 6h/dia do 10° ao 18° dia de incubação).
Adaptado de: Yalçin et al. (2008a)

2.2.3.2. Equilíbrio ácido-básico / parâmetros hemogasométricos

A manutenção do equilíbrio ácido-base tem grande importância fisiológica e bioquímica, visto que a preservação do estado estrutural das proteínas e consequentemente o funcionamento ideal das células que constituem o organismo vivo, é influenciada pela concentração hidrogeniônica sanguínea. Pequenas variações das concentrações na escala de pH, desviando-se do valor normal para cada espécie, podem causar mudanças acentuadas e até mesmo prejudiciais nos processos orgânicos vitais (FURLAN e MACARI, 2002).

Desequilíbrios metabólicos podem decorrer do acúmulo excessivo de ácidos, gerando uma queda no pH sanguíneo (acidose metabólica), ou acúmulo excessivo de bases (alcalose metabólica). Mecanismos respiratórios podem também ocorrer em consequência do excessivo acúmulo de CO₂ (acidose respiratória) ou por excesso na sua eliminação (alcalose respiratória) (KARKOW et al., 2012).

No entanto, o balanço ácido-básico deve ser definido a respeito da concentração de íons de H⁺ no sangue, da pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂) e pressão parcial de oxigênio (pO₂), mas também deve-se considerar a quantidade de bicarbonato (HCO₃⁻) e outras bases. Desta forma o estudo completo dos parâmetros hemogasométricos auxilia na avaliação do status fisiológico dos animais (FURLAN e MACARI, 2002).

pH

Nos primeiros dias de incubação, o pH sanguíneo do embrião de frango diminui progressivamente (de 7,52 para 7,31) devido ao aumento da pCO₂ e acidificação metabólica. Um platô de 7,38 ocorre entre os dias 13 e 17 de incubação, por meio do aumento das quantidades de bicarbonato no sangue durante essa fase (EVERAERT e DECUYPERE, 2013).

Yalçin et al. (2008a) documentaram valores de pH sanguíneo na eclosão de 7,34 para aves incubadas a temperatura padrão durante toda a incubação, e 7,38 para pintos tratados como manipulação térmica (38,5°C por 6 h/dia entre os 10 a 18 dias), havendo diferença estatística entre os valores (tabela 8). Maatjens et al. (2014b) não detectaram diferença significativa no pH sanguíneo de pintos tratados termicamente (38,9°C do 19º dia até a eclosão) e pintos do grupo controle (tabela 8).

Pressão parcial de oxigênio (pO₂)

A pressão parcial de oxigênio indica a quantidade de moléculas de oxigênio (mmHg) que encontram-se dissolvidas na solução sanguínea em um determinado

momento. No início da incubação a pO_2 encontra-se em níveis mais baixos, em consequência da baixa capacidade de trocas gasosas entre o ambiente externo e o embrião, por meio da membrana do saco vitelínico (DEEMING, 2002). Posteriormente, no 9º de incubação, o aparecimento da membrana corioalantóide promove o aumento da difusão de O_2 para a artéria embrionária, assim aumentando a pO_2 do sangue. A temperatura interfere no requerimento de O_2 , pois influencia a taxa metabólica (EVERAERT e DECUYPERE, 2013).

Na pesquisa de Yalçin et al. (2008a) a média de pO_2 pós-nascimento foi de 35,67 mmHg para os animais do grupo controle e 25,61 mmHg para o grupo termicamente tratado, havendo diferença significativa entre os tratamentos (tabela 8). Maatjens et al. (2014b) obtiveram valores médios referentes à pO_2 de 30,4 mmHg para grupo controle e 28,4 mmHg para grupo manipulado com temperatura alta, não havendo diferença estatística entre os grupos (tabela 8).

Pressão parcial e dióxido de carbono (pCO_2)

Indica a concentração de moléculas e CO_2 (mmHg) dissolvidas no sangue. Um aumento na temperatura de incubação pode influenciar na taxa de consumo de O_2 , por meio do aumento da taxa metabólica do embrião. Um maior consumo de O_2 , no entanto, leva a uma maior produção de CO_2 , o que aumenta a pressão parcial de CO_2 no sangue (pCO_2) (EVERAERT et al., 2008).

Yalçin et al. (tabela 8) demonstraram valores médios de pCO_2 pós-nascimento de 35,67 mmHg para grupo controle e 31,28 mmHg para o grupo MT (valores diferentes estatisticamente) (tabela 8). No trabalho de Maatjens et al. (2014b) as médias de pCO_2 , tanto para o grupo controle, quanto para o grupo MT-alta foram de 32,3 mmHg (tabela 8).

iCa

O iCa do sangue representa a concentração íons de cálcio livre no plasma. O cálcio nos sangue das aves está presente em 3 formas: cálcio complexados às proteínas, cálcio complexado aos ácidos orgânicos (lático e pirúvico) e cálcio na forma livre ou ionizado. Esse mineral é um dos principais do tecido ósseo e tem papel fundamental no controle de funções celulares dos tecidos muscular, nervoso, de atividades hormonais e na coagulação sanguínea (FURLAN e MACARI, 2002).

No 8º dia de incubação o embrião começa a absorver o cálcio da gema promovendo o começo da mineralização, e durante a última semana de incubação o teor de cálcio aumenta devido à absorção de Ca^{2+} a partir da casca do ovo (FREEMAN e VINCE, 1974; EVERAERT e DECUYPERE, 2013).

Uma queda no pH sanguíneo resulta em aumento no nível de cálcio difusível, devido à liberação de cálcio que estão ligados a proteínas, e a elevação do pH terá um efeito oposto (FURLAN e MACARI, 2002). Uma descarga de lactato no sangue é prejudicial para a manutenção do nível de cálcio ionizado no mesmo, pois esse ácido orgânico tem a capacidade de se complexar com o Ca^{2+} o indisponibilizando para funções do organismo (FURLAN e MACARI, 2002). Maatjens et al. (2014b) obtiveram valores médios de iCa para o grupo controle e o grupo MT-alta de 1,02 mmol/L e 1,06 mmol/L respectivamente, não havendo diferença estatística entre estes valores (tabela 9).

Na⁺, K⁺

Esses íons exercem efeito sobre o balanço ácido-básico do sangue. Quando a concentração de K^+ e Na^+ no sangue aumenta o pH dessa solução também aumenta. O excesso de íons K^+ no plasma indica maior reabsorção de K^+ no túbulo distal renal e, em consequência, ocorre um aumento na excreção de H^+ pelos rins tendo em vista que o K^+ e H^+ competem pelo mesmo sítio de reabsorção no túbulo distal. O estresse calórico diminui a concentração de K^+ no fluido extracelular devido à menor retenção e maior excreção desse íon. O Na^+ tem como principal função a manutenção da osmolaridade do

plasma e do volume plasmático em consequência de um equilíbrio hídrico (FURLAN e MACARI, 2002).

Yalçın et al. (2008a) apresentaram valores médios de Na^+ e K^+ de 148 mmol/L e 3,41 mmol/L, respectivamente, para pintos do grupo controle, enquanto que o grupo manipulado termicamente obteve 148 mmol/L de Na^+ e 3,47 mmol/L de K^+ , onde nenhum desses valores diferiram estatisticamente (tabela 9). Maatjens et al. (2014b) demonstraram valores médios de K^+ de 3,3 mmol/L para o grupo controle e 3,6 mmol/L para o grupo MT-alta, onde os valores apresentaram diferença significativa (tabela 9).

Bicarbonato de sódio (HCO_3^-)

O bicarbonato faz parte do mais importante sistema tampão sanguíneo (sistema bicarbonato-dióxido de carbono). O bicarbonato tem o poder de se ligar ao íon de H^+ que está em excesso no sangue, para a formação posterior de CO_2 e água, assim controlando as quantidades de H^+ livres do sangue. Um aumento na concentração relativa de bicarbonato/ CO_2 no sangue reflete um estado de alcalose respiratória enquanto uma baixa na concentração reflete um estado de acidose respiratória (FURLAN e MACARI, 2002).

Segundo Girard (1971), por volta do 15º dia de incubação o sangue do embrião atinge um platô em um grau de acidose respiratória, indicando um estado estacionário de equilíbrio ácido-básico. O aumento de bicarbonato no sangue é estimulado pelo aumento da pCO_2 (ERASMUS et al., 1970). Everaert e Decuypere (2013) relatam que os íons de bicarbonato são fornecidos ao embrião pela casca do ovo, rins, assim como pela atividade da enzima anidrase carbônica.

Yalçın et al. (2008a) constataram valores médios de HCO_3^- de 18,98 mmol/L e 18,57 mmol/L para os grupos controle e MT-alta respectivamente, não havendo diferença significativa entre as médias (tabela 8b). Maatjens et al. (2014b) observaram valores médios de HCO_3^- de 21,1 mmol/L e 20,3 mmol/L para os grupos controle e grupo MT-alta, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos (tabela 9).

Hematócrito

O hematócrito (Hct) é um produto do volume corpuscular médio (MCV) e da concentração de glóbulos vermelhos (RBC) (ANDREWARTHA et al., 2011). A regulação do Hct é de importância crítica na eficácia final da oxigenação dos tecidos, ao passo que a principal função das hemácias é o transporte de O₂ para os tecidos que compõem o organismo vivo.

Os glóbulos vermelhos são produzidos nos órgãos hematopoiéticos nos primeiros dias de embriogênese e o seu volume aumenta à medida que a membrana corioalantóide se espalha sobre a membrana interna da casca e o metabolismo do embrião se eleva. Nos últimos dias de incubação, a hematopoiese pode aumentar sendo estimulada pela ação de hormônios, como a eritropoetina, que são liberados quando o animal entra em estado de hipóxia (FURLAN e MACARI, 2002). Parâmetros como pH sanguíneo e osmolaridade também são conhecidos por exercer influência no volume corpuscular médio (ANDREWARTHA et al., 2011).

Maatjens et al. (2014b) encontraram valores percentuais de hematócrito de 26,7% para o grupo controle e 26,2% para o grupo MT-alta, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (tabela 9).

Hemoglobina

É uma proteína existente na hemácia que tem como função transporte de O₂ (oxihemoglobina) e CO₂, uma ação tamponante para o sangue. Com sua estrutura desoxigenada, a hemoglobina tem função de ácido franco, removendo os íons de H⁺ da solução sanguínea. A hemoglobina, que serve como tampão de carbonato no sangue, aumenta durante a última metade da incubação e, portanto, é parcialmente responsável pela mudança no pH. A concentração da hemoglobina aumenta de 8 a 10 mmol/L nos dias 9 a 10 de incubação, a aproximadamente 17 mmol/L nos dias 15 a 18 (ERASMUS et al., 1970/1971; TAZAWA e PIIPER, 1984).

Tabela 8. Valores médios de pH sanguíneo, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂) e pressão parcial de oxigênio (pO₂) nas pesquisas de Yalçin et al. (2008a) e Maatjens et al. (2014b).

Trabalho	Temperatura (°C)	Período de incubação (dia)	Frequência	pH	pCO ₂ (mm Hg)	pO ₂ (mm Hg)
Yalçin et al. (2008a)						
Controle	37.5 ¹	1° ao 21°	Constante	7.34b	35.67a	30.18a
MT	38.5 ¹	10° ao 18°	6h/dia	7.39a	31.28b	25.61b
Maatjens et al. (2014)						
Controle	37.8 ²	1° ao 21°	Constante	7.46	30.4	28.0
MT-alta	38.9 ²	19° ao 21°	Constante	7.48	29.6	29.7

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, são significativamente diferentes (P<0,05)

¹ Temperatura de incubação

² Temperatura da casca do ovo

Adaptado de: Yalçin et al. (2008a) e Maatjens et al. (2014b)

Tabela 9. Valores médios da concentração sanguínea de bicarbonato (HCO₃⁻), hematócrito (Htc) e íons de potássio (K⁺), sódio (Na⁺) e Cálcio (iCa) para os trabalhos de Yalçin et al. (2008a) e Maatjens et al. (2014b)

Trabalho	Temperatura (°C)	Período de incubação (dia)	Frequência	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	Htc (%)	K ⁺ (mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	iCa (mmol/L)
Yalçin et al. (2008a)								
Controle	37.5 ¹	1° ao 21°	Constante	18.98	-	3.41	148	-
MT	38.5 ¹	10° ao 18°	6h/dia	18.57	-	3.47	148	-
Maatjens et al. (2014)								
Controle	37.8 ²	1° ao 21°	Constante	21.6	26.7	3.8	-	1.02
MT-alta	38.9 ²	19° ao 21°	Constante	21.9	26.2	4.1	-	1.02

^{a,b} Médias na mesma coluna, com letras diferentes, são significativamente diferentes (P<0,05).

¹ Temperatura de incubação

² Temperatura da casca do ovo

Adaptado de: Yalçin et al. (2008a) e Maatjens et al. (2014b)

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os protocolos experimentais utilizados estão de acordo com as diretrizes da Universidade Federal da Bahia e do Comitê de Ética do Uso de Animais – CEUA (nº 23/2017).

Os tratamentos foram definidos pela realização de manipulação térmica entre os dias 8 e 18 de incubação ou pela incubação controle:

- Tratamento C (Controle)
- Tratamento MT (Manipulação térmica)

3.1. Local

O experimento foi realizado entre Março e Junho de 2017, no Núcleo de Pesquisa em Incubação Artificial de Ovos (NUPIA-UFBA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (Salvador-BA).

3.2. Ovos

720 ovos de matrizes pesadas da linhagem Cobb[®] com idade de 49 semanas, provenientes do Matriseiro da Granja Asa Branca (Estância-SE), foram utilizados no experimento. Os ovos pertenciam à segunda coleta do dia. Após a coleta, os ovos foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de 10g/m³ e posteriormente transportados para o incubatório em veículo climatizado, com temperatura programada para 20°C (abaixo do ponto zero fisiológico).

A seleção dos ovos foi realizada no incubatório, onde os ovos considerados como não incubáveis (sujos, trincados, quebrados, pequenos e deformados) foram descartados. Em seguida, foi realizada uma seleção por peso, e aqueles entre 63 a 66g foram separados em bandejas de incubação. 720 ovos foram selecionados e identificados aleatoriamente, sendo 360 ovos identificados como tratamento C (Controle) e 360 ovos foram identificados como tratamento MT (Manipulação Térmica).

O armazenamento dos ovos foi realizado por quatro dias. Na sala de armazenamento, as médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR) foram 20,6°C e 79%, respectivamente. Após o armazenamento, os ovos foram encaminhados para o NUPIA em veículo climatizado, com temperatura inferior ao ponto zero fisiológico.

3.3. Pré-incubação e incubação dos ovos

Antes do início da incubação, o pré-aquecimento dos ovos foi realizado durante 5 horas sem temperatura média de 28°C. Posteriormente, os ovos foram pesados individualmente e incubados.

A incubação foi realizada em quatro máquinas modelo Premium Ecológica® 200D de estágio único, com capacidade para 200 ovos e controle digital de temperatura, umidade e viragem horizontal.

As máquinas de incubação foram reguladas para manter a temperatura da casca do ovo em 37,8°C (100°F) e o teor de UR de 55% durante o período de incubação. Entre o oitavo e 18º dia de incubação, duas máquinas foram reguladas para manter a temperatura da casca do ovo em 38,9°C (102°F) durante seis horas diariamente (Tratamento AT).

Para o controle da temperatura da casca, foram incluídos seis sensores de temperatura por máquina (TI-33Ri plus). Os sensores foram unidos às cascas de ovos por meio de fita adesiva (Scotch® Tough Duct Tape – 3M) em sua região equatorial. A temperatura da casca foi monitorada três vezes ao dia por meio do programa (SITRAD® versão 4.13) e, quando necessário, ajustes nas máquinas de incubação foram realizados para manter as temperaturas da casca desejadas em cada tratamento. A ovoscopia foi realizada diariamente entre o 8º e o 18º dia de incubação para confirmação da viabilidade dos ovos que continham os sensores (Figura 1).



Figura 1 – Mensuração da temperatura da casca do ovo. Arquivo Pessoal.

3.4. Ovos inférteis e embriões com mortalidade inicial observada na ovoscopia

A ovoscopia individual em todos os ovos do experimento foi realizada ao final do 7º dia de incubação, por meio do ovoscópio (Auza®). Os ovos claros foram retirados e quebrados, sendo identificados os ovos inférteis e aqueles com embriões mortos. Os dados foram registrados para posteriormente serem incluídos na análise final de mortalidade embrionária e fertilidade.

3.5. Nascimento dos pintos

A retirada dos pintos das máquinas ocorreu com 516 horas (21 dias) de incubação. Após a contagem de pintos nascidos, uma amostra ao acaso de 40 pintos por tratamento (20 pintos por máquina) foi separada para as análises posteriores.

3.6. Análises de rendimento de incubação

3.6.1. Perda de peso dos ovos durante o período de incubação

A perda de peso dos ovos foi determinada pela pesagem individual antes da incubação e após a retirada dos sensores (18º dia de incubação). O percentual de perda de peso dos ovos pela fórmula:

$$\text{Perda de peso} = \frac{(\text{Peso dos ovos na incubação} - \text{Peso dos ovos aos 18 dias}) \times 100}{\text{Peso dos ovos no início da incubação}}$$

3.6.2 Mortalidade embrionária e fertilidade (%)

Após o registro do número de ovos não eclodidos de cada tratamento, os mesmos foram examinados e classificados de acordo com o embriodiagnóstico realizado por Barbosa (2011):

- Ovos inférteis;
- Ovos com embriões mortos no início da incubação (0 a 7 dias) *;
- Ovos com embriões mortos entre 8 a 18 dias de incubação*;
- Ovos com embriões que morreram entre 19 a 21 dias*;
- Ovos bicados com embriões vivos ou mortos (que não conseguiram eclodir);
- Ovos contaminados (ovos nos quais os embriões morreram devido à contaminação microbiana);
- Ovos desidratados (devido a trincas da casca ocorridas durante o processo);

*incluindo mau posicionamento e anormalidades morfológicas e conformacionais.

Após esta análise, os dados de mortalidade inicial e infertilidade, obtidos aos oito dias na ovoscopia foram somados, e então o percentual total de mortalidade embrionária foi calculado sobre o número de ovos férteis. A fertilidade do lote foi obtida através da fórmula (100% - % de ovos inférteis).

3.6.3 Taxa de eclosão total em relação ao número de ovos férteis (%)

Os ovos inférteis foram identificados no momento da ovoscopia e no embriodiagnóstico. A taxa de eclosão total em relação ao número de ovos férteis foi determinada, dividindo-se o número total de pintos nascidos pelo número de ovos férteis, e multiplicando-se por 100.

3.7 Análises morfofisiológicas

3.7.1 Peso dos pintos no momento da eclosão

Foram selecionados aleatoriamente 20 pintos de cada máquina (40 por tratamento) e pesados individualmente em balança eletrônica, com sensibilidade de 0,0001kg (Master® AY220) para obtenção do peso médio (Figura 2).



Figura 2 – Pesagem do pintinho. Arquivo pessoal

3.7.2 Comprimento do pintinho (cm)

Os pintos selecionados para a análise de peso foram utilizados para mensuração do comprimento. Esta análise foi feita por meio de uma régua, considerando a ponta do bico até o dedo do membro inferior direito desconsiderando a unha (a escolha de qual membro inferior é de escolha do avaliador, portando todos os animais tiveram as medidas na perna direita) (Figura 3).



Figura 3 – Comprimento de pintinho. Arquivo pessoal

3.7.3 Escore de umbigo

Após a mensuração do comprimento, também foi realizada individualmente a classificação quanto à cicatrização do umbigo. Os pintos receberam escores, sendo:

Escore 1- umbigo fechado e área do umbigo limpa;

Escore 2- botão negro até 2 mm no umbigo ou presença de fio negro;

Escore 3- botão negro maior que 2 mm ou umbigo aberto (Figura 4).



Figura 4 – Escore de umbigo. Arquivo pessoal

3.7.4 Hemogasometria

A avaliação dos níveis sanguíneos de pH, $p\text{CO}_2$, TCO_2 , $p\text{O}_2$, SO_2 , HCO_3^- , $i\text{Ca}$, Na^+ , K^+ , Hct e Hb dos pintos foram realizadas por meio do aparelho analisador clínico portátil i-STAT[®] e cartuchos modelo Cartridge CG8+ (Abott Laboratories-USA). Nos mesmos pintos utilizados nas análises anteriores, foi coletado por meio da veia jugular aproximadamente 100 μL de sangue em seringas heparinizadas (1 mL e agulha 30G). Imediatamente após a coleta, a amostra foi inserida no cartucho, que automaticamente fez a leitura dos parâmetros mencionados (Figura 5).

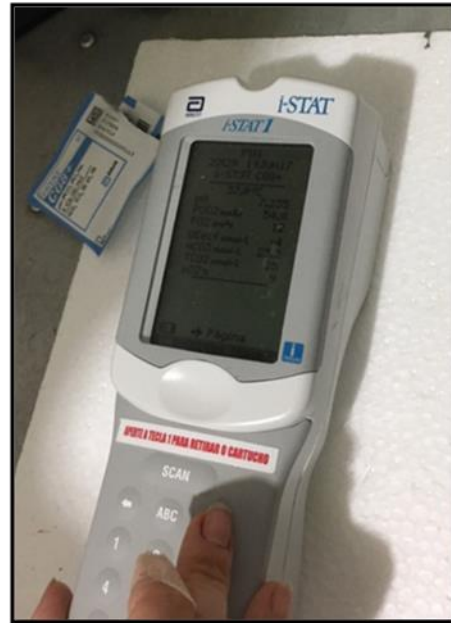


Figura 5 – Avaliação da hemogasometria com o aparelho analisador clínico portátil i-STAT[®]. Arquivo pessoal

3.7.5 Glicose, lactato e ácido úrico

Posteriormente a coleta de sangue para a hemogasometria, 40 pintos por tratamento foram eutanasiados por deslocamento cervical e novas amostras de sangue foram coletadas em tubos tipo Vacutaner[®], heparinizados. Em seguida, as amostras de sangue foram centrifugadas durante 10 minutos à velocidade de 3000rpm. As alíquotas de plasma foram transferidas por meio de micropipetas para novos tubos *ependorff* devidamente identificados de acordo com as repetições e tratamentos. Os tubos foram conservados a uma temperatura de -20°C até ser iniciado o processamento das amostras.

As determinações de glicose¹, lactato² e ácido úrico³ foram realizadas em espectrofotômetro modelo GT 7220 da marca Global Technology[®], utilizando-se kits comerciais em comprimento de onda apropriados.

¹ Glicose K082. Bioclin[®]. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: Enzimático colorimétrico.

² Lactato K084. Bioclin[®]. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: UV enzimático.

³ Ácido úrico K139. Bioclin[®]. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: Enzimático colorimétrico.

3.7.6 Peso dos órgãos e peso do pinto sem o saco vitelino

Após a coleta de sangue, os pintos foram necropsiados e tiveram seus órgãos (coração, pulmão, fígado, estômago, intestinos, bursa, baço e saco vitelino) coletados para serem pesados individualmente (balança analítica de 0,0001g, Master[®] AY220)(Figura 6). Os valores dos órgãos foram expressos em relação ao peso do corpo sem o saco vitelino (YFBM – yolk free body mass), que foi obtido pela subtração entre o peso do pinto e o peso do saco vitelino residual. O percentual de saco vitelino residual foi obtido em relação ao peso corporal.



Figura 6 – Órgãos separados para pesagem individual. Arquivo pessoal

3.7.7 Glicogênio hepático

Os fígados coletados foram pesados e imediatamente armazenados a -80°C para posterior análise de glicogênio hepático. Na determinação desta variável foi utilizada a

metodologia de Molenaar (2010) e durante o procedimento as amostras foram mantidas em gelo. Todo o fígado foi homogeneizado com uma colher de agitação de vidro após a adição de um μL de 7% de HClO_4/mg de tecido úmido. A suspensão foi centrifugada ($2,900\times g$) a 4°C por 15 min. O sobrenadante foi decantado, limpo com 1 mL de éter de petróleo e congelado a -80°C até posterior análise. O sobrenadante foi descongelado, centrifugado e decantado novamente. O glicogênio hepático foi determinado pelo ensaio de ligação de iodo usando uma solução de iodo (I2-KI) contendo CaCl_2 saturado e a absorbância foi medida utilizando um leitor de placas de microtitulação a 450 nm (DREILING et al., 1987). O Glicogênio hepático bovino (Tipo IX, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) foi usado como padrão.

3.8 Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Nas variáveis do rendimento de incubação foram utilizados 360 ovos por tratamento e o ovo foi considerado a repetição. Nas variáveis de morfofisiologia foram utilizadas 40 repetições por tratamento, sendo o pinto considerado a repetição.

Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste de F.

As variáveis foram analisadas com o procedimento MIXED do pacote de software SAS[®] 9.2 (SAS[®] Institute, 2009). Foi realizada a análise de Variância (ANOVA) em todos os procedimentos. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu_i + \text{TRAT}_j + e_{ijkl},$$

Onde μ é a média geral, TRAT_i é o tratamento usado (CONTROLE e MANIPULAÇÃO TÉRMICA) e e_{ijkl} , é o erro. As médias foram obtidas por meio do LSMEANS. Para todas as variáveis foi considerado efeito significativo com o valor de probabilidade em $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados relativos aos parâmetros zootécnicos da incubação estão dispostos na tabela 10.

Tabela 10 - Parâmetros zootécnicos da incubação de ovos realizada em temperatura controle ou manipulada termicamente.

Variáveis (%)	Incubação controle	Incubação com manipulação térmica	SEM	P-valor
Perda de peso	11.35	11.66	0.25	0.765
Fertilidade	97.23	97.49	0.21	0.296
Eclosão de ovos férteis	87.42	85.48	2.02	0.064
Mortalidade embrionária total ¹	12.58	14.52	2.53	0.062
Mort. embrionária inicial (0 - 7d) ¹	3.75	3.56	0.31	0.398
Mort. embrionária média (8 - 18d) ¹	2.25	2.53	0.32	0.376
Mort. embrionária final (19 - 21d) ¹	5.30	7.36	0.39	0.060
Bicados ¹	1.28	1.07	0.17	0.101
Mort. embrionária final + bicados ¹	6.48	8.43	0.27	0.065

¹ Expressos em percentagem de ovos férteis (n= 360 ovos incubados por tratamento).

Para os parâmetros zootécnicos da incubação, não houve diferença significativa sobre as variáveis analisadas. De acordo com a tabela 10, a perda de peso dos ovos foi estatisticamente semelhante ($P > 0,05$) para os dois tratamentos de temperatura. Rahn et al. (1979) afirmaram que a perda de peso do ovo durante a incubação é considerada como um pré-requisito para a formação e aumento da câmara de ar durante a incubação. Segundo Decuypere et al. (2003), para obter melhores resultados de eclosão, a perda de peso dos ovos, entre o primeiro dia de incubação e o momento da transferência para os nascedouros, pode variar entre 11 a 13% do seu peso inicial. A perda de peso dos ovos durante a incubação é influenciada pela pressão de vapor d'água e condutância da casca (MEIJERHOF e VAN BEEK, 1993). A semelhança desse parâmetro indicou uma uniformidade e qualidade dos ovos utilizados no presente experimento, bem como uma umidade relativa controlada no ambiente da incubadora. Esse resultado também mostra que a manipulação térmica durante a incubação não interferiu na perda de peso do ovo durante o período de incubação.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o índice de fertilidade entre os tratamentos (tabela 10), o que já era esperado, uma vez que os ovos utilizados foram coletados a partir de um mesmo lote de matrizes, e foram distribuídos ao acaso entre os tratamentos.

Estudos prévios já haviam demonstrado que a técnica de manipulação térmica pré-natal não afeta o índice eclosão sobre ovos férteis. Leandro et al. (2000) observaram que o aumento na temperatura padrão de incubação (por 5 horas diárias no 16° dia em diante), não foi suficiente para prejudicar a taxa de eclosão. Este resultado também foi observado por Yahav et al. (2004), utilizando manipulação a 39,5°C (3h/dia, do 16° ao 18° dia de incubação), e por Collin et al. (2005), tratando os embriões com 39,5°C por 6h/dia ou 12h/dia (do 16° ao 18° dia de incubação). Loyal et al. (2013) observaram que a manipulação térmica a 39,6°C (12h/dia, entre os dia 7 e 16 de incubação) também não afetou negativamente a capacidade de eclosão. Mediante a literatura citada, juntamente com nossos resultados, podemos concluir que a manipulação térmica utilizada entre os dias 8 e 18 de incubação, não afeta o índice de eclosão de ovos férteis.

Os dados de mortalidade embrionária (tabela 10) demonstraram que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para nenhuma das fases de incubação, incluindo a taxa de mortalidade durante e após a manipulação térmica (8-18 d). Desta forma, em nosso estudo, a mortalidade embrionária não está relacionada com o protocolo de manipulação térmica utilizado.

Tabela 11 - Parâmetros de qualidade de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação com alta temperatura	SEM	P-valor
Peso do pinto (g)	46.35	45.98	0.20	0.123
YFBM (g)	39.90	39.05	0.19	0.244
GR (g)	6.45	6.93	0.25	0.210
Comprimento (cm)	19.60	19.20	0.05	0.094
Qualidade de umbigo ¹	1.91	1.72	0.08	0.071

n=40. YFBM (peso do pinto sem o saco vitelino – yolk free body mass); GR (gema residual).

¹ Condição de umbigo, onde: 1= boa, 2= moderada, 3= ruim.

Os resultados da tabela 11 mostraram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as médias dos tratamentos para as variáveis, peso do pinto, YFBM, GR, comprimento do pintinho e qualidade de umbigo.

O peso do pinto de um dia está altamente correlacionado com o peso do ovo, mas não com o desenvolvimento do corpo. Para analisar a qualidade do pintinho, o peso do pinto sem o saco vitelino (YFBM – *Yolk Free Body Mass*) é um parâmetro mais preciso, pois indica o quanto do conteúdo do ovo foi realmente convertido em massa corporal (MEIJERHOF, 2009).

Wolanski et al. (2004) observaram que o comprimento do pintinho também é indicativo para seu desenvolvimento durante a incubação, pois essa variável tem correlação positiva com o desempenho do frango na fase de criação. Hill (2001) e Meijerhof (2006) relataram que pintos com maior comprimento na eclosão obtiveram maior peso corporal aos 42 dias de idade. Molenaar et al. (2008) demonstraram que, em frangos de corte oriundos de ovos de mesmo tamanho, os pintos com maiores comprimentos do corpo na eclosão também apresentavam os mais altos pesos de YFBM e menores conteúdos de gema residual.

Sobre o parâmetro de qualidade de umbigo, um pintinho bem desenvolvido normalmente terá um umbigo limpo e totalmente cicatrizado. Rad et al. (2003) afirmaram que um umbigo mal cicatrizado aumenta o risco de uma infecção do saco vitelino.

Diante destes fatores, pode-se concluir que o tratamento térmico no presente estudo não prejudicou a qualidade dos pintinhos. Estes resultados corroboram com trabalhos da literatura. Leandro et al. (2000), onde concluíram que a técnica de manipulação térmica utilizada (resfriamento a $32,0^{\circ}\text{C}$ ou aquecimento a $40,0^{\circ}\text{C}$, por 5 h/dia no 16º dia em diante), não foi suficiente para prejudicar a qualidade dos pintinhos, demonstrando semelhantes pesos corporais e de qualidade de umbigo. Yalçın et al. (2008a) observaram que a alta temperatura de incubação ($40,0^{\circ}\text{C}$ por 6h/dia, do dia 10 ao 18 de incubação) não afetou o peso de pintinho livre de gema, porém o pinto desse tratamento tiveram um maior peso significativo do saco vitelino residual e um menor peso do fígado ($P \leq 0,05$), quando comparados aos pintos do grupo controle. Os autores

afirmaram que esses resultados podem refletir diferenças fisiológicas na mobilização da gema. Da mesma forma, Willemsen et al. (2011) não observaram diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias da YFBM e entre as médias da gema residual de pintos nascidos do tratamento com manipulação térmica com baixa ($34,6^{\circ}\text{C}$) ou alta ($40,6^{\circ}\text{C}$) temperatura, por 4h horas diária no dia 16 ao 18 de incubação, quando comparados aos pintos do tratamento controle.

Tabela 12 - Peso de órgãos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino (%) dos recém-eclodidos, submetidos a incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação com alta temperatura	SEM	P-valor
Coração (%)	0.59	0.50	0.001	0.063
Fígado (%)	2.38	2.27	0.001	0.128
Estômago (%)	5.27	5.32	0.001	0.224
Intestino (%)	3.20	3.22	0.001	0.363
Pulmão (%)	0.71	0.68	0.001	0.067
Baço (%)	0.001	0.001	0.001	0.598
Bursa (%)	0.004	0.004	0.001	0.661

n=40. Pesos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino.

Segundo Morita et al. (2016), temperatura de incubação pode afetar a organogênese do embrião. Em nosso estudo, os pesos relativos de todos os órgãos analisados foram estatisticamente semelhantes ($P>0,05$) entre os tratamentos de temperatura (tabela 12), demonstrando que a manipulação térmica não foi capaz de afetar negativamente os pesos relativos do coração, fígado, estômago, intestino, pulmão, baço e bursa, deste modo, não afetando o desenvolvimento dos mesmos.

Resultados discrepantes foram observados na literatura. Quando os ovos foram expostos a $39,6^{\circ}\text{C}$ durante 6 horas diariamente do dia 10 a 18 de incubação, os pesos dos pintos e peso relativo do coração na eclosão foram semelhantes, porém, o peso relativo do pulmão foi significativamente menor para os pintos termicamente tratados quando comparados aos pintos controle (YALÇIN e SIEGEL, 2003). Maatjens et al. (2014b) relataram que esta diferença pode sugerir que o desenvolvimento de pulmão é bastante sensível às instabilidades do desenvolvimento. Yalçin et al. (2008a) trabalhando com manipulação térmica ao calor (pintos expostos a $38,5^{\circ}\text{C}$ por 6h/dia do

10° ao 18° dia de incubação) demonstraram que houve influência nos pesos dos órgãos do embrião em desenvolvimento e do pinto recém-eclodido. Os autores observaram os pesos relativos do fígado e coração dos pintos tratados termicamente foram significativamente menores, em comparação aos pintos controle. Os pesquisadores concluíram que a temperatura alta influenciou negativamente o desenvolvimento do fígado e coração, provavelmente por meio da diminuição da taxa de utilização dos nutrientes da gema para o desenvolvimento desses órgãos, fato que explica o alto peso da gema residual desses pintinhos. Em 2000, Wineland et al. haviam afirmado que altas temperaturas na incubação podem reduzir no desenvolvimento e multiplicação das células cardíacas. No entanto, em nosso estudo, a técnica de manipulação térmica com controle da temperatura da casa não se mostrou ser prejudicial ao desenvolvimento dos órgãos dos pintos. Desta forma, acreditamos que, essas variações observadas nos trabalhos anteriores podem ser em consequência dos mesmos serem realizados com o monitoramento da temperatura da máquina ao invés da temperatura da casca do ovo. Estudos prévios já provaram que, dependendo da localização do ovo dentro da máquina, a temperatura da casca pode variar da temperatura da máquina em até 4°C e frequentemente, quando o controle da temperatura de incubação não é realizado por meio da casca, os embriões são superaquecidos (Lourens et al. 2001).

No nascimento dos pintos, as concentrações dos metabólitos do plasma podem sugerir quais nutrientes foram utilizados no processo de exigência de energia durante a eclosão. Os resultados para os parâmetros bioquímicos do sangue estão dispostos na tabela 13.

Tabela 13 - Parâmetros sanguíneos de pintos recém-eclodidos submetidos a incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação com alta temperatura	SEM	P-valor
Glicose (mg/dL)	214.44a	204.10b	2.39	0.049
Lactato (mmol/L)	2.28b	2.97a	0.12	0.039
Ácido úrico (mg/dL)	3.17	3.32	0.21	0.262
Glicogênio hepático (mg)	12.13a	9.05b	1.50	0.039

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças estatísticas $p \leq 0,05$.

n=40

Os níveis de glicose sanguínea dos pintos recém-eclodidos foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos. Nas primeiras horas de vida pós-eclosão, os pintos do tratamento com manipulação térmica tinham uma menor concentração de glicose e maior na concentração do lactato no plasma ($P \leq 0,05$) (tabela 13), quando comparados aos pintos do grupo controle. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Yalçin et al. (2008a), que observaram que pintinhos nascidos de ovos tratados com manipulação térmica ($38,5^{\circ}\text{C}$ por 6 horas diárias, entre os dias 10 a 18 de incubação), apresentaram menores médias dos níveis de glicose sanguínea (177mg/dL) em relação aos pintinhos controle (199mg/dL). Possíveis explicações para o aumento da utilização da glicose em pintos manipulados com alta temperatura de casca, podem estar relacionadas com um aumento da taxa metabólica, um aumento na velocidade de reação da enzima, ou redistribuição do fluxo sanguíneo (MOLENAAR et al. 2010). Na fase de eclosão, o suprimento de O_2 está limitado durante o processo de incubação e a glicose é utilizada como uma fonte de energia (MORAN, 2007), resultando em uma elevação na concentração do lactato no plasma.

A concentração do glicogênio hepático também foi significativamente menor para os pintos submetidos à manipulação térmica (tabela 13). Este fato pode ser devido ao fato de que, em fase de eclosão, o glicogênio hepático é preferencialmente mobilizado para suprir a intensa demanda energética dos músculos que estão envolvidos neste processo de nascimento (OLIVEIRA et al. 2013). Além disso, altas temperaturas afetam o metabolismo intermediário do embrião. Molenaar et al. (2010) relataram que, em elevada temperatura da casca do ovo ($38,9^{\circ}\text{C}$), houve um aumento na oxidação da glicose e uma diminuição na síntese de glicogênio. Da mesma forma, Maatjens et al. (2014b) concluíram que, altas temperaturas da casca, resultam em aumento a utilização da glicose sanguínea para obtenção de energia imediata, assim desviando parte da glicose que seria enviada para a síntese de glicogênio. Assim, os níveis mais baixos de glicogênio hepático sugerem que a síntese deste metabólito foi menor ou que a oxidação da glicose foi maior nos pintos manipulados termicamente, em comparação com pintos do grupo controle.

As concentrações de ácido úrico no plasma foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 13). Porém, Yalçin et al. (2008a) observaram que pintinhos

nascidos de ovos tratados com manipulação térmica (38,5°C por 6 horas diárias, do dia 10 aos 18 de incubação), encontraram menores médias de ácido úrico (7,3 mg/dL x 2,9 mg/dL) na eclosão, quando comparados a pintos controle. Os autores não relataram uma possível explicação para esses resultados.

A partir dos resultados da tabela 13, juntamente com informações da literatura, podemos concluir que a técnica de manipulação térmica do presente trabalho, afetou o metabolismo energético dos pintinhos termicamente tratados com 38,9°C (6h/dia entre o 8 ao 18 dia de incubação). Os pintinhos termicamente estressados provavelmente desviaram uma maior quantidade de glicose sanguínea que iria para a síntese de glicogênio, direcionando-a para a via da glicólise anaeróbia. Isso resultou em uma menor concentração de glicogênio hepático e maior produção de lactato em pintos manipulados termicamente, em comparação aos pintos controle. No entanto, a manipulação térmica não afetou a concentração de ácido úrico plasmático dos pintos, preservando possivelmente o tecido muscular de uma possível degradação para a produção de energia.

Na tabela 14, estão demonstrados os valores médios dos dados hemogasométricos dos pintos oriundos do grupo controle e do grupo manipulado termicamente.

Tabela 14 - Parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou a incubação com manipulação térmica.

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
pH	7.33	7.28	0.068	0.468
pCO ₂	46.20	45.66	6.172	0.417
pO ₂	28.24	27.80	6.654	0.435
Na ⁺	138.41	137.97	2.310	0.466
K ⁺	4.88	4.59	0.516	0.692
iCa	1.30	1.31	0.059	0.493
HCO ₃ ⁻	22.13	22.64	2.622	0.900
TCO ₂	23.26	23.36	2.343	0.854
SO ₂	42.98	41.92	14.564	0.351
Hct	18.95a	17.18b	0.997	0.049
Hb	6.15	6.01	0.728	0.876

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças estatísticas $p \leq 0,05$.

n=40. pCO₂ = pressão parcial de CO₂; pO₂ = pressão parcial de O₂; TCO₂= saturação total de CO₂; SO₂ = saturação de O₂; Hct = hematócrito; Hb = hemoglobina.

Os valores médios de pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, iCa, HCO₃⁻, TCO₂, SO₂ e hemoglobina não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Maatjens et al. (2014b) trabalhando com perfil de temperatura de casca no três últimos dias da incubação, não encontraram diferença significativa ($P > 0,05$) para o pH, pressão de gases (O₂ e CO₂), K⁺ e iCa dos sangue de pintos incubados a 38,9°C em comparação aos pintos controle. Esses autores concluíram que, mesmo tendo um impacto sobre a fisiologia do embrião, a alta temperatura da casca nos pintinhos estressados termicamente não apresentou variações em seu balanço ácido-base no momento da eclosão. Utilizando manipulação térmica na incubação de frangos (6h/dia do 10° ao 16° dia de incubação), Yalçin et al. (2008a) observaram diferenças significativas ($P \leq 0,05$) na eclosão nos parâmetros hemogasométricos (pH, pO₂, pCO₂) de pintos do grupo controle em comparação com pintos manipulados termicamente. Os autores observaram que um maior pH sanguíneo dos pintos manipulados (7,38 x 7,34), foi acompanhado com menores valores de pCO₂ e pO₂, porém os autores não discutiram a relação desse dados com os outros parâmetros analisados no trabalho.

Os valores de hematócrito (Hct) foram significativamente diferentes entres os tratamentos (tabela 14), podendo ser observada uma diminuição no índice hematócrito

de pintos manipulados termicamente, em comparação com o grupo controle. Maatjens et al. (2014b) observaram que o tratamento de temperatura alta da casca resultou em uma leve diminuição no hematócrito, porém, não apresentando diferença significativa com o grupo controle.

Andrewarthe et al. (2011) explicaram que, o índice Hct é visto como um fator chave que influencia a regulação e a distribuição sanguínea pelos vasos. Os parâmetros que podem alterar as forças motrizes para o movimento da água (e assim alterações no MCV), são a osmolaridade e o pH sanguíneo, o que potencialmente pode alterar as propriedades dos canais iônicos nos glóbulos vermelhos. As alterações no pH do sangue e na concentração de bicarbonato podem alterar o MCV (e, portanto, o Hct), influenciando assim os mecanismos de equilíbrio da atividade dos eletrólitos (Na^+ e K^+). Um aumento de temperatura sanguínea pode potencialmente hidratar os glóbulos vermelhos (devido à diminuição do pH ou mudanças na osmolaridade do meio). No presente estudo podemos observar que os dados de pH, Na^+ e K^+ não sofreram alterações significativas. No entanto, esses índices foram numericamente menores para os pintos tratados termicamente. Desta forma, acreditamos que os pintos desse tratamento sofreram uma sutil alteração na osmorregulação sanguínea, por consequência, ocasionando uma diminuição significativa no índice hematócrito.

5 . CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de manipulação térmica com controle da temperatura da casca, utilizando-se 38,9°C por seis horas diárias, entre os dias 8 e 18° de incubação, não prejudica o rendimento da incubação e a qualidade de pintinhos recém-eclodidos.

A técnica de manipulação térmica utilizada no presente trabalho, alterou o metabolismo energético dos embriões durante a incubação, mas não foi suficiente para afetar o equilíbrio ácido-básico dos pintos.

São necessários estudos que utilizem a manipulação térmica com o controle de temperatura da casca do ovo durante a incubação, para a avaliação do status fisiológico dos frangos e dos benefícios da técnica na fase de criação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-DIEYEH, Z.H.M. Effect of chronic heat stress and long-term feed restriction on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, p. 185-190, 2006.

AL-FATAFATAH, A. A. e ABU-DIEYEH, Z. H. M. Effect of Chronic Heat Stress on Broiler Performance in Jordan. **International Journal of Poultry Science**, v. 6, p. 64-70, 2007.

AKŞIT M.; YALÇIN S.; YENISEY, C. e OZDEMIR D. Brooding temperatures for chicks acclimated to heat during incubation: effects on post-hatch intestinal development and body weight under heat stress. **British Poultry Science**, v.51, n.3, p. 444-452, 2010.

ANDREWARTHA, S. J.; TAZAWA, H. e BURGGREN, W. W. Hematocrit and blood osmolality in developing chicken embryos (*Gallus gallus*): In vivo and in vitro regulation. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 179, p. 142-150, 2011.

BAARENDSE, P. J. J.; DEBONNE, M.; DECUYPERE, E.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Ontogeny of avian thermoregulation from a neural point of view. **World's Poultry Science Journal**, v. 63, p. 267-276, 2007.

BARBOSA, V. M. Desenvolvimento embrionário. In: BARBOSA, V.M. **Fisiologia da incu-bação e desenvolvimento embrionário**. 1ª ed., Belo Horizonte: FEP - MVZ, 2011. 124p. cap. 5 p. 85-124.

BLACK, J. L. e BURGGREN, W.W. Acclimation to hypothermic incubation in developing chicken embryos (*Gallus domesticus*) I. Developmental effects and chronic and acute metabolic adjustments. **The Journal of Experimental Biology**, v. 207, p. 1543-1552, 2004.

COLLIN, A.; BERRI, C.; TESSERAUD, S.; REQUENA RODÓN, F. E.; SKIBACASSY, CROCHET, S.; DUCLOS, M. J.; RIDEAU, N.; TONA, K.; BUYSE, J.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E.; PICARD, M. e 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.

COLLIN, A.; PICARD, M. e YAHAV, S. The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick embryogenesis on body weight and body temperature of post-hatched chicks. **Animal Research**, v. 54, p. 105-111, 2005.

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

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

DEBONNE, M.; BAARENDSE, P. J.J.; VAN DEN BRAN, H.; KEMP B.; BRUGGEMAN, V. e DECUYPERE, E. Involvement of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and its interaction with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the ontogeny of avian thermoregulation: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, p. 309-321, 2008.

DECUYPERE, E.; MALHEIROS, R. D.; MORAES, V. M. B. e BRUGGEMAN, V. **Fisiologia do embrião**. In: MACARI, M.; GONZALES, E. Manejo da incubação. Jaboticabal: FACTA, 2003.

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

DEEMING, D. C. Behaviour patterns during incubation. In: DEEMING, D. C. **Avian incubation: behaviour, environment and evolution**. Oxford University Press; Oxford: p. 63-87, 2002.

ERASMUS, B.; DE, W.; HOWELL, B. J. e RAHN, H., Ontogeny of acid-base balance in the bullfrog and chicken. **Respiration Physiology**, v. 11, p. 46-53, 1970/1971.

EVERAERT, N.; SMIT, L.; DEBONNE, M.; WITTERS, A.; KAMERS, B.; DECUYPERE, E. e BRUGGEMAN, V. Changes in acid-base balance and related

physiological responses as a result of external hypercapnia during the second half of incubation in the chicken embryo. **Poultry Science**, v. 87, p. 362-367, 2008.

EVERAET, N.; DECUYPERE, E. Fisiologia do embrião. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I. S.; NÄÄS, I. A. e MARTINS, P. C. **Manejo da incubação**. 3. Ed., Campinas: FACTA, cap. 1.2 p.32-43. 2013.

FOYE, O. T. e FERKET, P. R. Effect of in ovo feeding egg white protein, β -hydroxy- β -methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. **Poultry Science**, v. 85, p. 1185-1192, 2006.

FREEMAN, B. M. The mobilization of hepatic glycogen in the *Gallus domesticus* at the end of incubation. **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A**, v. 28, p. 1169-1176, 1969.

FREEMAN, B. M. e VINCE, M. A. Incubation requirements. In: FREEMAN, B. M. e VINCE, M. A. **Development of the avian embryo**. London, UK: Chapman and Hall; 1974.

FURLAN, R. L.; MACARI, M. e GONZALES, E. Termorregulação. In: FURLAN, R. L.; MACARI, M. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2^oed., Jaboticabal: FUNEP, cap. 17 p. 209-230, 2002.

GARCIA, F. J.; PONS, A.; ALEMANY, M. e PALOUT, A. Tissue glycogen and lactate handling by the developing domestic fowl. **Comparative Biochemistry and PhysiologyPart - A**, v. 85,p. 155–159, 1986.

GIRARD, H., 1971. Respiratory acidosis with partial metabolic compensation in chick embryo blood during normal development. **Respiratory Physiology**, v. 13, p. 343-351.

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

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

IQBAL, A.; DECUYPERE, E., ABD EL AZIM, A. e KÜHN, E. R. Pre- and post-hatch high temperature exposure affects the thyroid hormones and corticosterone response to acute heat stress in growing chickens (*Gallus domesticus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 15, p. 149-153, 1990.

JANKE, O.; TZSCHENTKE, B.; HOCHERL, J. e NICHELMANN, M. Metabolic responses of chicken and Muscovy duck embryos to high incubation temperatures. **Comparative Biochemistry and Physiology -Part A**, v. 131, p.741-750, 2002.

LEANDRO, N. S. M.; GONZALES, E. e VAROLI JR., J. C. V. Hatchability and chick quality of broiler breeder eggs submitted to stress due to temperature. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p.39-44, 2000.

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

LOURENS, A. The importance of air velocity in incubation. **World Poultry**, v. 17, n. 3, p. 2930, 2001.

LOURENS, A.; MOLENAAR, R.; VAN DEN BRAND, H. E.; HEETKAMP, M.; J. W.; MEIJERHOF, R. e KEMP, A. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. **Poultry Science**, v.86, p. 2194-2199, 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. e 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. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3674–3685, 2013.

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

KARKOW, F. J.; FRAINTUCH, J. e LIMA, L. C. Desordens do equilíbrio acidobásico. In: LIMA, L. C.; REIS, N. T. **Interpretação de exames laboratoriais aplicados à nutrição clínica**. 2ª Ed. Rio de Janeiro, RJ, p. 71-88, 2012.

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

MAATJENS, C. M.; REIJRINK, I. A. M.; MOLENAAR, R.; VAN DER POL, C. W.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Temperature and CO₂ during the hatching phase. II. Effects on chicken embryo physiology. **Poultry Science**, v. 93, p. 655-663, 2014.

MALTBY, V.; SOMAIYA, A.; FRENCH, N. A. e STICKLAND, N. C. In ovo temperature manipulation influences post-hatch muscle growth in the turkey. **British Poultry Science**, v. 45, p. 491-498, 2004. MEIJERHOF, R. Embryo temperature is the key factor in incubation. **World Poultry**, v. 15, n.10, p. 42-43, 1999.

MARTINS, L. K. S. A. Fisiologia do desenvolvimento embrionário. *In ovo*. In: **Características fisiológicas e zootécnicas de pintos vacinados In ovo**. 1ª ed., Salvador: UFBA-EMEVZ, 2017. Cap 2, p. 6-10.

MEIJERHOF, R. Chick size matters. **World's Poultry Science Journal**, v. 22, p. 30-31, 2006.

MEIJERHOF, R. The influence of incubation on chick quality and broiler performance. In: **Proceedings of the 20th Australian Poultry Science Symposium**; Feb 9–11; University of Sydney, Sydney, Australia, p. 167–170, 2009.

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

MOLENAAR, R.; REIJRINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R. e VAN DEN BRAND, H. Relationship between hatchling length and weight on later productive performance in broilers. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, p. 599-604, 2008

- MOLENNAR, R.; REIJRINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R. e VAN DEN BRAND, H. Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 3, p. 137-148, 2010.
- MORAES, V. M. B.; MALEIROS, R. D.; BRUGGEMAN, V.; COLLIN, A.; TONA, K.; VAN AS, P.; ONAGBESAN, O. M.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e MACARI, M. Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. **Journal Thermal Biology**, v. 28, p. 133-140, 2003.
- MORAES, V. M. B.; MALHEIROS, R. D.; BRUGGEMAN, V.; COLLIN, A.; TONA, K.; VAN AS, P.; ONAGBESAN, O. M.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e MACARI, M. The effect of timing of thermal conditioning during incubation on embryo physiological parameters and its relationship to thermotolerance in adult broiler chickens. **Journal of Thermal Biology**, v. 29, p. 55-61, 2004.
- MORAN, E. T. Nutrition of the Developing Embryo and Hatchling. **Poultry Science**, v. 86, p. 1043-1049, 2007.
- MORITA, V. S.; ALMEIDA, V.; MATOS JUNIOR, J. B.; VICENTINI, T. I. ; VAN DEN BRAND, H. e BOLELI, I. C. Incubation temperature during fetal development influences morphophysiological characteristics and preferred ambient temperature of chicken hatchlings. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5 (0154928), 2016.
- MURAMATSU, T.; HIRAMOTO, K.; KOSHI, N.; OKAMURA, J. e MIYOSHI, T. Importance of albumen content in whole-body protein synthesis of the chicken embryo during incubation. **Brasilian Poultry Science**, v. 31, p. 101-106, 1990.
- NICHELMANN, M.; JANKE, O.; HOCHERL, J. e TSZCHENTKE, B. Development of physiological control systems in avian embryos. **New Biomed Science**, v. 1, p.15-25, 2001.
- NICHELMANN, M.; LANGE, B.; PIROW, R.; LANGBEIN, J. e HERRMANN, S. Avian thermoregulation during the perinatal period. In: ZEISBERGER, E.; SCHOENBAUM, E. e LOMAX, P. **Thermal balance in health and disease**. APS Advances in Pharmacological Sciences. Birkhäuser Basel, p. 167-173, 1994.

NICHELMANN, M. e TZSCHENTKE, B. Thermoregulation in precocial avian embryos. **Ornis Fennica**, v. 76, p. 177-187, 1999.

NICHELMANN, M. e TZSCHENTKE, B. Ontogeny of thermoregulation in precocial birds. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 14, n. 1, p. 751-763, 2002.

NICHELMANN, M.; TZSCHENTKE, B. e TONHARDT, H. Perinatal development of control systems in birds. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 131, p. 697-699, 2002.

NICHELMANN, M. e TZSCHENTKE, B. Efficiency of thermoregulatory control elements in precocial poultry embryos. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 14, n. 1, p. 1-19, 2003.

OLIVEIRA, J. E.; DRUYAN S.; UNI, Z.; ASHWELL, C. M. e FERKET, P. R. Metabolic profiling of late-term turkey embryos by microarrays. **Poultry Science**, v. 92, p. 1011-1028, 2013.

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

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

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

RAO, L.; ROMES, E. M.; NICHOLAS, M. P.; BRENNER, S.; TRIPATHY, A.; GENNERICH, A. e SLEP, K. C. The yeast dynein Dyn2-Pac11 complex is a dynein dimerization/processivity factor: structural and single-molecule characterization. **Molecular Biology of the Cell**, v. 24, n. 15, p. 2362-77, 2013.

ROMANOFF, A. L. e ROMANOFF, A. J. The avian egg. John Wiley and Sons, New York, NY, 1949.

ROMANOFF, A. L. Biochemistry of the Avian Embryo. Wiley, New York, 1967.

SAS-institute inc. User's guide: statistics, version. 9.1 edition. Cary: sas institut, 2009.

SATO, M.; TACHIBANA, T. e FURUSE, M. Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A**, v. 143, p. 382-388, 2006.

STARCK, J. M. e RICKELEFS, R. E. Energy metabolism, gas exchange, and ventilation. In: STARCK, J. M. e RICKELEFS, R. E. **Avian Growth and Development: Evolution Within the Altricial- Precocial Spectrum**. Oxford Univ. Press, Oxford, UK, p. 89-111, 1998.

TAZAWA, H.; CHIBA, Y.; KHANDOKER, A. H.; DZIALOWSKI, E. M.; BURGREN, W. W. Early development of thermoregulatory competence in chickens: responses of heart rate and oxygen uptake to altered ambient temperatures. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 15, p. 166-176, 2004.

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

TAZAWA, H. e PIIPER, J. Carbon dioxide dissociation and buffering in chicken blood during development. **Respiratory Physiology**, v. 57, p. 123-134, 1984.

TAZAWA, H. e WHITTOW, G. C. Incubation physiology. In: WHITTOW, G. C. **Sturkey's Avian Physiology**, Fifth edition, Academic Press, p. 617-634, 2000.

THOMMES, R.C.; CALIENDO, J. e WOODS, J. E. Hypothalamo-hypophyseal-thyroid interrelationships in the developing chick embryo. VII. Immunocytochemical demonstration of thyrotrophin-releasing hormone. **General and Comparative Endocrinology**, v. 57, p. 1-9., 1985.

THOMPSON, J. B.; WILSON, H. R. e VOITLE, R. A. Influence of high temperature stress of 16-day embryo on subsequent hatchability. **Poultry Science**, v. 55, p. 892-894, 1976.

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

TZSCHENTKE, B. e BASTA D. Ealy development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: influence of epigenetic temperature adaptation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 131, p.825-832, 2002.

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

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

TZSCHENTKE, B. e PLAGEMANN, A. Imprinting and critical periods in early development. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 626-637, 2006.

TZSCHENTKE, B. e RUMPF, M. Embryonic development of endothermy. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 178, n. 1, p. 97-107, 2011.

TZSCHENTKE, B. e TATGE, S. Incubação circadiana. "Treinamento térmico" embrionário para a robustez em aves. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I. S.; NÄÄS, I. A. e MARTINS, P. C. **Manejo de incubação**. 3. ed., São Paulo: FACTA, cap. 2.4 p. 135-142, 2013.

UNI, Z.; FERKET, P. R.; TAKO, E. e KEDAR, O. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. **Poultry Science**, v. 84, p. 764-770, 2005.

WILLEMSEN, H.; KAMERS B.; DAHLKE, F.; HAN, H.; SONG, Z.; ANSARI, Z.; PISARAEI, Z. A.; TONA, K.; DECUYPERE, E. e EVERAERT, N. High and low temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development,

the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, v. 89, p. 2678-2690, 2010.

WILLEMSSEN, H.; LI, Y.; WILLEMS, E.; FRANSSENS, L.; WANG, Y.; DECUYPERE, E. e EVERAERT, N. 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. 1997. Effects of maternal nutrition on hatchability. **Poultry Science**, v. 76, p. 134-143, 1997.

WINELAND, M. J.; MANN, K. M.; FAIRCHILD, B. D. e CHRISTENSEN, V. L. Effect of different setter and hatcher temperatures upon the broiler embryo. **Poultry Science**, v. 79, p.123. (Abstr.), 2000.

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

WINELAND, M. J.; CHRISTENSEN, V. L.; YILDRUM, I.; FAIRCHILD, B. D.; ORT, D. T.; MANN, K.M. Incubator environment interacts with genetic line of broiler at the plateau stage to affect embryo plasma thyroxine and triiodothyronine concentrations. **International Journal of Poultry Science**, v. 58, p. 714-722, 2006.

WOLANSKI, N. J.; LUITEN, E.; MEIJERHOF, R. e VEREIJKEN, A. L. J. Yolk utilisation and chick length as parameters for embryo development. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 15, p. 233-239, 2004.

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

- YAHAV, S. e HURWITZ, S. Induction of thermotolerance in male broiler chickens by temperature conditioning at an early age. **Poultry Science**, v. 75, p. 402-406, 1996.
- YALÇIN, S.; BRUGGEMAN, V.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E.; ÇABUK, M. e SIEGEL, P.B. Acclimation to heat during incubation: 4. Blood hormones and metabolites in broilers exposed to daily high temperatures. **Poultry Science**, v. 88, p. 2006-2013, 2009.
- YALÇIN, S.; ÇABUK, M.; BRUGGEMAN, V.; BABACANOLGLU, E.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e SIEGEL, P. B. Acclimation to heat during incubation: 1. Embryonic morphological traits, blood biochemistry, and hatching performance. **Poultry Science**, v. 87, p. 1219-1228, 2008a.
- YALÇIN, S.; ÇABUK, M.; BRUGGEMAN, V.; BABACANOLGLU, E.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e SIEGEL, P. B. Acclimation to heat during incubation: 2. Embryo composition and residual egg yolk sac fatty acid profiles in chicks. **Poultry Science**, v. 87, p. 1229-1236, 2008b.
- YALÇIN, S. e SIEGEL, P. B. Exposure to cold or heat During incubation on developmental stability of broiler embryos. **Poultry Science**, v. 82, p. 1388-1392, 2003.
- YALÇIN, S.; O'ZKAN, S.; ÇABUK, M. S.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e SIEGEL, P. B. Pre- and postnatal conditioning induced thermotolerance on body weight, physiological responses and relative asymmetry of broilers originating from young and old breeder flocks. **Poultry Science**, v. 84, p. 967-976, 2005.
- YILDIRIM, I. e YETISIR, R. Effects of different hatcher temperatures on hatching traits of broiler embryos during the last five days of incubation. **South African Journal of Animal Science**, v. 34, n. 4, p.211-216, 2004.