UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS Escola de Veterinária Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Henrique Carneiro Lobato

MANIPULAÇÃO TÉRMICA EMBRIONÁRIA EM FRANGOS DE CORTE

TT .			1 .
Henrio	ມາອ ('ຈາ	rneiro I	ohato
TICITIO	luc Cai	inch t	Jouand

MANIPULAÇÃO TÉRMICA EMBRIONÁRIA EM FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Itallo Conrado Sousa de Araújo. Coorientador: Marcos Henrique Soares.

Lobato, Henrique Carneiro, 2000-

L796m

Manipulação térmica embrionária em frangos de corte/ Henrique Carneiro Lobato.- 2024.

67 f: il.

Orientador: Itallo Conrado Sousa de Araújo Coorientador: Marcos Henrique Soares

Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de Não-Ruminantes Bibliografia F. 59 – 65.

1. Frangos de corte - Teses - 2. Ave doméstica - Teses - I. Araújo, Itallo Conrado Sousa de - II. Soares, Marcos Henrique - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD - 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569 Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE (31)-3409-2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao E-mail cpgzootec@vet.ufmg.br

UFMG	
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE HEM	NRIQUE CARNEIRO LOBATO
As 09:00 horas do dia 28 de junho de 2024, reuniu-s	e, a Comissão Examinadora de dissertação,
aprovada em reunião ordinária no dia 19/06/2024, para ju	lgar, em exame final, a defesa da dissertação
ntitulada: MANIPULAÇÃO TERMICA EMBRIONAIRIA	COMO INDITOR DE
TERMOTOLERÂNCIA EM FRANCOS DE CI	OTE
TERMOTOLERANCHIA EM HONOGOS DE CI	3170
	, como
requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Zo	otecnia área de concentração Produção de
Não Ruminantes.	ottoma, area de concentração 2 2 o acque o
Nao Ruminantes.	Convedo Soura da Araíjio anós dar a conhecer
Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Itallo	Contado Sousa de Ataujo, apos da a confecci
aos presentes o teor das Normas Regulamentares da De	eresa de disseriação, passou a palavia ao (a)
candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Segu	ilu-se a argüição pelos examinadores, com a
respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissã	o se reuniu, sem a presença do candidato e do
público, para julgamento da dissertação, tendo sido atr	ribuídas as seguintes indicações:
•	Aprovada Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) ITALLO CONKADO SOUSIA DE APAU	NO X
Prof.(a)/Dr.(a) MARCIO GILBERTO ZANGERONIMO	X
Horida) Drift Colonia Colonia	THE RESERVE TO A SECOND
Prof.(a)/Dr.(a) LEONARDO JOSE CAMARGOS LARA	X
Prof.(a) Dr.(a) (COMPROS JOE CHIPACOS SI IKI	The second secon
D 0()/D ()	
Prof.(a)/Dr.(a)	
Prof.(a)/Dr.(a)	the second second
	Americado (o)
Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)
	D
	Reprovado (a)
	00 1 1 1 1 7 6:-1 1
Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entre	gar 03 volumes encadernados da versão final da
dissertação acatando, se houver, as modificações sugerid	las pela banca, e a comprovação de submissão
de pelo menos um artigo científico em periódico recome	ndado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto
terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defes	sa.
SET THE PROPERTY OF THE RESIDENCE OF THE PROPERTY OF THE PROPE	
O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) ca	andidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada
mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião	e lavrou a presente ata, que será assinada poi
todos os membros participantes da Comissão Exam	inadora e encaminhada juntamente com um
exemplar da dissertação apresentada para defesa.	,
exemplar da dissertação apresentada para deresa.	
D 1 II 1 4 20 1 1 1 1 1 2024	,
Belo Horizonte, 28 de junho de 2024.	
THE PARTY OF THE P	
Assinatura dos membros da banca:	Al /
2 22	TVA
t 11/1/1 1	1
- 1 1	In Commence
My 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	
// /// //	The state of the s
f	

Doutorado/Atadefesa.doc



AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer imensamente ao meu orientador, Prof. Itallo Conrado Sousa de Araújo, por todo o esforço e dedicação que sempre teve comigo. Sua paciência e incentivo nos momentos mais difíceis foram decisivos para que eu estivesse aqui.

Gostaria também de agradecer aos Professores Marcos Henrique Soares e Leonardo José Camargos Lara, por sempre estarem por perto, aconselhando e orientando sobre a melhor maneira de realizar o experimento.

Aos professores parceiros desta pesquisa, Profa. Fernanda Almeida Radicchi, Profa. Érika Cristina e Profa. Fabíola Oliveira Paes Leme, pela orientação e disponibilização de seus respectivos laboratórios.

Ao meu amigo Otoniel Félix de Souza, que sempre esteve presente em meu experimento e acredito que nunca tenha conseguido retribuir à altura de sua participação no projeto.

Gostaria de agradecer à minha namorada, que me apoiou emocionalmente e me ajudou em diversos finais de semana; e aos meus pais, minha irmã e meus avós por serem a minha rede familiar de segurança, me orientarem profissionalmente e demonstrarem apoio e amor incondicional.

Gostaria de agradecer também aos amigos, colegas de laboratório e alunos de iniciação científica, que foram o cérebro e as mãos deste experimento, principalmente durante meu período com dengue.

À Professora Amanda Maria Sena Reis, que me fez apaixonar pelo meio acadêmico.

Aos técnicos de laboratório e funcionários da Escola de Veterinária, meu muito obrigado. Vocês sempre estiveram atentos a todos os detalhes e passamos por um experimento de 63 dias sem incidentes graças à vocês.

À CAPES, por fornecer a bolsa necessária para que eu pudesse realizar esta pesquisa e à todas as outras instituições de fomento que, de forma direta ou indireta, possam ter contribuído para a verba desta pesquisa.

À Escola de Veterinária da UFMG, por ter me dado uma profissão e um caminho para seguir.



RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da manipulação térmica embrionária utilizando temperaturas de 39,5°C e 40,5°C, por 6 ou 12 horas/dia, do 7º ao 16º dia de desenvolvimento embrionário (DE), sobre o rendimento de incubação, qualidade física dos pintos, consumo do resíduo vitelino, parâmetros fisiológicos, rendimento de cortes e desempenho dos frangos de corte até 35 dias de idade. O experimento foi iniciado com 4.300 ovos incubáveis oriundos de um lote de matrizes Ross® de 39 semanas de idade. Os ovos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, divididos em cinco incubadoras, totalizando 860 ovos cada. Além do controle (Cont), temperatura de 37,5°C e 60% de umidade relativa (UR) até o 18DE, foram estudados 4 protocolos de incubação com aplicação de temperaturas mais altas dos dias 7 a 16DE, sendo eles: alteração da temperatura para 39,5°C/6 horas/dia e 65% de UR (39,5/6h); alteração da temperatura para 39,5°C/12 horas/dia e 65% de UR(39,5/12h); alteração da temperatura para 40,5°C/6 horas/dia e 65% de UR (40,5/6h); alteração da temperatura para 40,5°C/12horas/dia e 65% de UR (40,5/12h). Após a incubação, foram realizadas avaliações de rendimento de incubação (qualidade de pinto e absorção do saco da gema). Em seguida, foram selecionadas 660 aves para a criação na sala climatizada. Estas, foram distribuídas nos 5 tratamentos e com 6 repetições, totalizando 30 gaiolas em delineamento inteiramente casualizado. Na fase inicial foram utilizadas temperaturas recomendadas pelo manual da linhagem, de termoneutralidade, iniciando com 32°C (±1°C) e finalizando com 24°C (±1°C). Do 21º ao 35º dia, como fator de desafio por calor, as aves foram submetidas à uma temperatura de 32°C (±1°C) durante 8 horas/dia. Durante a criação, foram avaliados parâmetros do metabolismo fisiológico (temperatura cloacal e hematócrito) e de desempenho. Aos 35 dias, foi realizado o rendimento de cortes de peito, coxa e sobrecoxa. A eclodibilidade e o escore de qualidade de pintos dos ovos e aves provenientes do programa 40,5°C/12h foram piores que os demais. No nascimento e com 3 dias de idade, houve menor absorção da gema e menor peso de pinto livre para as aves provenientes do programa de 40,5°C/12h. Aos 35 dias de idade, o programa de 39,5°C/6h apresentou o maior peso médio, menor conversão alimentar e ganho de peso semelhante ao controle (37,5°C). O grupo controle apresentou mortalidade maior do que os demais tratamentos após o início do estresse por calor na terceira semana. Pode-se concluir que o protocolo de 39,5°C/6h não altera a eclosão e qualidade física dos pintos e que ele pode ser indicado para obtenção de melhor conversão alimentar, ganho de peso e rendimento de coxas.

Palavras-chave:	termomanipulação	40,5°C;	condicionamento	térmico;	temperatura	cloacal;
rendimento de co	ortes.					

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of embryonic thermal manipulation using eggshell temperatures of 39.5°C and 40.5°C, for 6 or 12 hours per day from day 7 to day 16 of development (DE), on incubation yield, physical quality of chicks, yolk sac utilization, physiological parameters, cutting yield, and performance of broilers up to 35 days. The experiment began with 4,300 hatching eggs from 39-week-old Ross broiler breeders. The eggs were distributed in a completely randomized design across five incubators, totaling 860 eggs each. In addition to the control (Cont) group, maintained at 37.5°C and 60% relative humidity (RH) until day 18DE, four incubation protocols with higher temperatures from days 7 to 16DE were studied: temperature increased to 39.5°C/6 hours/day and 65% RH (39.5/6h); temperature increased to 39.5°C/12 hours/day and 65% RH (39.5/12h); temperature increased to 40.5°C/6 hours/day and 65% RH (40.5/6h); temperature increased to 40.5°C/12 hours/day and 65% RH (40.5/12h). After incubation, these performance assessments were carried out (chick quality and yolk sac absorption). Then, 660 birds were selected for breeding in the airconditioned room. Were distributed across 5 treatments and with 6 replications, totaling 30 cages in a completely randomized design. Comfort temperatures were maintained during the first three weeks, starting at 32°C (\pm 1°C) and decreasing to 24°C (\pm 1°C) from day 21 to day 35. All treatments experienced 32°C (±1°C) for 8 hours/day. Evaluations at this moment included physiological metabolism parameters (cloacal temperature and hematocrit) and performance were assessed weekly. At 35 days, the breast, thigh and drumstick yields were evaluated. The hatchability and quality score of the 40.5°C/12h treatment were worse than the other treatments. At hatch and at 3 days old, chicks from the 40.5°C/12h treatment showed lower yolk sac absorption and lower chick weight. At 35 days, the 39.5°C/6h treatment showed the highest average weight, lower feed conversion ratio, and weight gain similar to the control (37.5°C). The control group had higher mortality than the other treatments after the onset of thermal stress in the third week. In conclusion, the 39.5°C/6h protocol did not alter hatchability or physical quality of chicks and can be recommended for achieving better feed conversion, weight gain, and thigh yield.

Keywords: thermomanipulation 40.5°C; thermal conditioning; cloacal temperature; cutting yield.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Zona de Conforto Térmico para Aves	.17
Figura 2 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora controle (37,5°C) pelo	
Datalogger Elitech®	.36
Figura 3 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 39,5°C/6h pelo Datalogger	
Elitech®	.36
Figura 4 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 39,5°C/12h pelo Datalogger	
Elitech®	.37
Figura 5 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 40,5°C/6h pelo Datalogger	
Elitech®	.37
Figura 6 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 40,5°C/12h pelo Datalogger	
Elitech®	.37
Figura 7 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora controle (37,5°C) com us	so
de medidor Braun ThermoScan 3	.37
Figura 8 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 39,5°/6h com uso de	
medidor Braun ThermoScan 3	.38
Figura 9 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 39,5°/12h com uso de	
medidor Braun ThermoScan 3.	.38
Figura 10 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 40,5°/6h com uso de	
medidor Braun ThermoScan 3	.38
Figura 11 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 40,5°/12h com uso de	
medidor Braun ThermoScan 3	.39
Figura 12 - Aferições de temperatura e umidade da sala climatizada pelo Datalogger Elitech	h®
1 00	.40
	-

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional das rações	41
Tabela 2 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	obre
os resultados de incubação e qualidade física dos pintos	
Tabela 3 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	obre
a absorção do saco da gema com 3 dias	
Tabela 4 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	
o desempenho dos frangos de corte de 1 a 7 dias	
Tabela 5 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	obre
o desempenho dos frangos de corte de 1 a 14 dias	45
Tabela 6 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	
o desempenho dos frangos de corte de 1 a 21 dias	
Tabela 7 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	
o desempenho dos frangos de corte de 1 a 28 dias	
Tabela 8 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	
o desempenho dos frangos de corte de 1 a 35 dias	47
Tabela 9 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário so	
a temperatura cloacal nos dias 1, 7, 14, 21 e 31 de criação	
Tabela 10 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário s	
a temperatura cloacal no dia 28, 31 e 35 de criação, sob efeito do estresse térmico 32°C (=	
1°C)	
Tabela 11 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário s	sobre
o hematócrito	49
Tabela 12 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário s	
o rendimento de cortes (35 dias de criação)	50

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1. Introdução	15
1.2 Termomanipulação e o seus efeitos no sistema termorregulador	16
1.3 Análise cronológica da termomanipulação em embriões de aves	18
1.4 Resposta epigenética à termomanipulação embrionária	19
1.5 Termotolerância em aves de produção	20
1.6 Termomanipulação embrionária e seus efeitos na eclosão dos pintos	21
1.7 Termomanipulação embrionária e seus efeitos no desempenho dos frangos	22
1.8 Termomanipulação embrionária e seus efeitos sobre parâmetros fisiológicos	22
1.9 Mecanismo molecular da termomanipulação sobre o desenvolvimento muscular	24
REFERÊNCIAS	25
AUMENTO DA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO ENTRE 7 E 16 DIAS DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO SOBRE OS RESULTADOS DE INCUBAÇÃO E PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Incubação dos ovos e manipulação térmica	35
2.2 Escore de qualidade física dos pintos	39
2.3 Peso dos pintos e peso dos pintos livre do resíduo vitelino	39
2.4 Estresse por calor e desempenho zootécnico dos frangos de corte	39
2.5 Dietas	41
2.6 Temperatura cloacal e termografia	41

2.7 Hematócrito	42
3. RENDIMENTO DE CORTES	42
3.1 Análise estatística	42
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	68

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Introdução

O setor avícola sofre grande pressão internacional para aumentar anualmente a sua produção, uma vez que tem sido considerado um dos responsáveis por suprir a demanda de proteína animal global. Neste panorama, os países tropicais possuem uma desvantagem em relação aos países da zona temperada, pois apresentam grandes picos de temperatura nos períodos quentes do ano e contam com baixa infraestrutura nos galpões (Meteyake et al., 2023). Sendo assim, novas medidas para melhorar a resistência das aves frente ao estresse térmico se mostram necessárias, uma vez que há projeção de aumento de temperatura de 1,0°C até 2040 (IPCC, 2022). Uma das principais formas de mitigar o estresse das aves é por meio do uso de manipulações térmicas na incubação, aumentando a temperatura de incubação em períodos iniciais da vida para torná-las mais resistentes ao calor em fase tardia, simulando o que ocorre na natureza durante o choco (Renaudeau et al., 2012; Mueller et al., 2019). As aves na natureza possuem dois momentos principais durante o choco, o de recessão e o de sessão, fora do ninho e em incubação, respectivamente (Álvarez et al., 2014). Há registros de que o microclima do ninho afeta diretamente o desenvolvimento embrionário, e que a postura dos ovos em em regiões de climas mais quentes pode eventualmente favorecer aves menos cuidadosas e que passam menos tempo no ninho (Mueller et al., 2019). Sendo assim, pode-se afirmar que a termomanipulação embrionária, ou seja, a modificação do desenvolvimento embrionário por meio de alterações da temperatura do padrão de incubação, ocorre também na natureza e, dessa forma, foram criados diferentes protocolos de incubação industrial variando em até 3°C a partir do padrão (37,5°C e 56% de umidade até o 18DE). Entretanto, esta manipulação deve ser feita de forma planejada, uma vez que o aumento de temperatura possui efeito bifásico. Ligeiras mudanças podem aumentar a vascularização do corioalantóide, aumentar a absorção de gema e melhorar o crescimento no período de criação pelo aumento da taxa metabólica, mas podem também resultar em alterações indesejáveis no desenvolvimento e até em mortalidade dos embriões (Costa et al., 2020).

Sendo assim, objetiva-se analisar o conhecimento que foi construído acerca de termomanipulação embrionária e a aquisição de termotolerância em frangos de corte com o intuito de propor novos protocolos.

1.2 Termomanipulação e o seus efeitos no sistema termorregulador

A formação do sistema termorregulador dos embriões de frangos inicia-se com 18 horas e termina após 48 horas de incubação com o fechamento do tubo neural (Furlan e Macari, 2002; Winnie, 2013). Baseada nessa informação, a melhoria da aquisição da termotolerância durante a embriogênese baseia-se na hipótese de que a manipulação térmica seria mais eficiente durante esta janela de "tempo crítico" (18 a 48 horas) do desenvolvimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e/ou adrenal (Piestun et al., 2008b). Ainda não há precisão sobre quando exatamente, após estas 48 horas iniciais há ocorrência de novos "períodos críticos" do desenvolvimento do eixo hipotalâmico, sendo a termomanipulação uma ferramenta de descoberta empírica para estes períodos (Tzschentke, 2008).

O efeito na regulação da função tireoidiana pode ser observado por meio da redução dos níveis de hormônio tireoidiano pós eclosão de aves termomanipuladas (TM's) para controle (Almeida et al., 2016; Al-Rukibat et al., 2017a; Yalcin et al., 2022), que como dito, resultam das mudanças causadas pelas impressões da termomanipulação ao organismo termorregulador e afetam diretamente o equilíbrio entre o controle de temperatura central e periférico (Kühn et al., 1984). A TM tem o potencial de reduzir os níveis dos hormônios tireoidianos circulantes, reduzindo o calor produzido pelo animal em fase final de criação, o que melhora seu desempenho. Este fenômeno pode ocorrer na termomanipulação por três principais formas, sendo elas: a) alteração no nível do limiar hipotálamo-hipófise para secretar menos hormônio estimulador da tireoide; b) redução da atividade da glândula tireoide, o que reduziria a secreção de T3; ou c) diminuição da desiodação periférica, o que reduziria a produção de T3 (Piestun et al., 2008a). Assim, o sistema termorregulador desempenhará ação direta nos hormônios tireoidianos, um dos responsáveis pelo controle de temperatura (Cottrell et al., 2015).

Em um estágio inicial da vida, os pintos são considerados poiquilotérmicos e não possuem este sistema de forma amadurecida e desenvolvida, sendo suscetíveis à hipotermia (Costa et al., 2020). Além desta imaturidade do sistema, possuem pouco isolamento pelo empenamento incompleto, o que acarreta alta condutância térmica. Esta condutância associada com o baixo desenvolvimento de massa muscular e alta relação entre área/volume corporal acarretam dificuldade na retenção de calor, tornando as aves jovens mais sensíveis e dependentes para regulação térmica (Baêta e Souza, 2010).

Já aves maduras, após os 21 dias de idade, são consideradas homeotérmicas, ou seja, seu sistema de controle de temperatura corporal está pronto e menos suscetível ao ambiente.

Nesta fase, o sistema termorregulador é impulsionado pelo sistema receptor, responsável por receber os estímulos e enviar para o hipotálamo, onde estão os neurônios sensíveis ao frio e os neurônios sensíveis ao calor (Furlan e Macari, 2002).

Aves adultas fora de sua zona de conforto (Figura 1) demonstram alterações comportamentais, fisiológicas e do sistema imune. Em situação de temperaturas muito baixas apresentam células sensitivas na pele que captam a informação e encaminham para a porção posterior do hipotálamo que promove mudanças comportamentais (tremores resultantes da termogênese, agrupamento e penas eriçadas) e vasoconstrição para produção e conservação do calor. A vasoconstrição é uma das ferramentas que o organismo possui para equilibrar-se com o meio. Esta pode ser realizada no frio, reduzindo o fluxo sanguíneo cutâneo, o que diminui a dispersão de calor pela irradiação e convecção, ou no calor, aumentando o fluxo sanguíneo cutâneo e reduzindo a camada de ar responsável pelo isolamento da pele (Funck e Fonseca, 2008; Lara e Rostagno, 2013; Liu et al., 2020). Além disso, as aves em estresse por calor, demonstram alteração comportamental (apatia e rebaixamento de asas), assim como uma série de distúrbios fisiológicos, incluindo desregulação imunológica sistêmica, distúrbios endócrinos, alcalose respiratória e desequilíbrio eletrolítico (Lara e Rostagno, 2013).

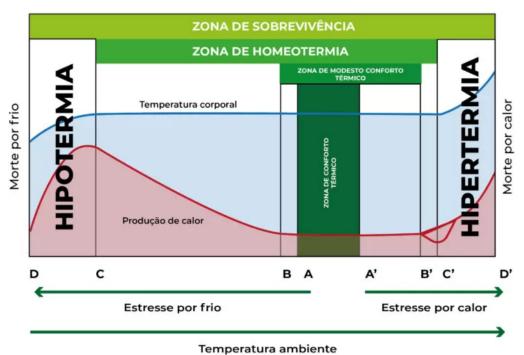


Figura 1 - Zona de Conforto Térmico para Aves

Fonte: Agroceres (2023), adaptada de Curtis (1983).

Portanto, têm sido estudadas medidas para potencializar a aquisição de termotolerância de aves comerciais criadas em ambientes fora da zona de conforto térmico e aumentar a produtividade mesmo em situações de estresse calórico.

1.3 Análise cronológica da termomanipulação em embriões de aves

A incubação de ovos férteis precisa de quatro principais fatores físicos a fim de se gerar um desenvolvimento eficiente do embrião: temperatura, viragem, ventilação e umidade. A termomanipulação estuda as alterações de temperatura como ferramenta de baixo custo para aprimoramento da eclodibilidade, janela de nascimento, ganho de peso, consumo e conversão alimentar (Costa et al., 2020). De acordo com Sabry e Yalçin (2023), a temperatura de 37,5 a 38,0°C é a recomendada para que seja possível obter o potencial calórico mínimo a fim de desenvolver o embrião sem afetar a taxa de eclosão.

Porém, para que fosse definida a temperatura ótima dos primeiros 18 dias de desenvolvimento do embrião foi necessário muito desenvolvimento em pesquisa e experimentação. Analisando cronologicamente a construção do conhecimento sobre a alteração de temperatura durante do desenvolvimento embrionário da galinha doméstica (*Gallus Gallus domesticus*), observa-se que, desde o século XIX, já havia consciência de uma temperatura ideal para o desenvolvimento ótimo do embrião, que consta como sendo uma temperatura estável de 37°C (Pembrey e Gordon, 1890). Porém, este conhecimento não era homogêneo entre os pesquisadores da época. Ferris et al. (1891) publicaram em seu livro sobre incubação artificial o uso de 40,5°C na primeira semana e 39,5°C na última, ou seja, já havia um decréscimo na temperatura de forma gradual ao longo do período de incubação, a medida em que havia maior geração de calor pelo metabolismo do embrião. Possivelmente temperaturas mais altas contrabalanceavam a difícil capacidade de retenção de calor, devido ao material precário de isolamento das incubadoras pouco modernas que dispunham.

Com o passar dos anos, estas pesquisas de base, que a princípio não demonstravam grande objetividade comercial, aumentaram a relevância e mais variáveis foram analisadas. Merkow et al. (1966) observaram maior desenvolvimento cardíaco em aves submetidas à temperatura embrionária de 32°C, do 11 ao 18DE. Em outro estudo, Ande e Wilson (1980) observaram menor taxa de eclosão quando os embriões foram submetidos no 3DE a 43,4°C por 12 horas.

A partir da década de 80, os estudos relacionados com a manipulação térmica se tornaram mais abrangentes (Hamdy et al., 1991; Suarez et al., 1996; French, 1997), uma vez

que a base da fisiologia da incubação estava estabelecida. Assim, novos protocolos começaram a ser testados até chegarmos em Decuypere e Michels (1992), que se tornaram a base para as pesquisas atuais com a revisão: "Temperatura de incubação como ferramenta de manejo: uma revisão".

1.4 Resposta epigenética à termomanipulação embrionária

A epigenética é toda adaptação de longo termo, que tem sua instauração no período pré-natal (embriogênese) ou ontogenia pós-natal precoce, afetando as fases críticas de desenvolvimento que aumentam a expressão de genes (Yahav e Tzschentke, 2006). É importante ressaltar que em aves (Guerrero-Bosagna et al., 2018), assim como em humanos (Ghai e Kader, 2022), ainda não há evidência de herança epigenética transgeracional de alelos estáveis, de genes relacionados ou não com termomanipulação. Portanto, a manipulação térmica é uma das formas de causar epigenia no embrião, focada especificamente na aquisição de termotolerância (Piestun et al., 2015a).

A termomanipulação se dá pela mudança na quantidade de calor ao qual o embrião fica exposto, que faz com que haja alterações na expressão de genes que, por sua vez, irão modificar a maturação do sistema termorregulador das aves e incrementar seu desempenho. Sob esse aspecto, o principal intuito da termomanipulação é que ocorra uma otimização no período inicial de formação do sistema termorregulador (Costa et al., 2020).

Contudo, a termomanipulação possui outros efeitos além da aquisição de condicionamento térmico, agindo diretamente na saúde intestinal e na produção de hormônios e fatores de crescimento (Cong et al., 2023). Em situações de estresse por calor pode haver ruptura da função imunológica do intestino, possivelmente pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF-α. Esta quebra de proteção pode causar desequilíbrio do sistema imunológico local e favorecer a colonização de bactérias patogênicas e afetar a capacidade de absorção de nutrientes pelo intestino das aves (Tellez et al. (2017). Xu et al. (2023) utilizaram um protocolo de incubação com 39,5°C e 65% UR, com 3 horas por dia, do 16DE ao 18DE e encontraram redução na inflamação intestinal devido a diminuição da produção de lipopolisacarídeos (LPS) de origem bacteriana, o que demonstra que a termomanipulação embrionária pode atuar melhorando o sistema imune.

Outra importante via de expressão gênica influenciada pela termomanipulação é a do hormônio do crescimento (GH), importante hormônio anabólico secretado pela hipófise anterior e que age na cartilagem epifisária para crescimento de tecido esquelético dos animais,

além de aumentar o consumo e influenciar o aumento de massa muscular (Kasuya et al., 2016). Lima et al. (2023), em seu experimento com codornas, utilizaram 38,5°C, durante todo o período de incubação e encontraram aumento de GH nos animais termicamente tratados, indicando que o incremento de temperatura possui ação positiva nesta via, o que explica o crescimento muscular e incremento em condição de carcaça que podem ser encontrados nos animais termicamente manipulados (Dalab et al., 2022a).

1.5 Termotolerância em aves de produção

Termotolerância é a alteração do sistema termorregulador e dos genes envolvidos, que acarretam mudança fenotípica a longo prazo de adaptação térmica, pode ou não ser oriundo de manipulação embrionária (epigenética) (Goel et al., 2023a). Ao fazer uso da alteração de temperatura durante a incubação, há maior produção de efetores endógenos que irão atuar nos quimiorreceptores do embrião e assim modificar a expressão gênica em favor de melhora no desempenho e maior adaptação ao ambiente fora da zona de conforto térmico (Tzschentke, 2007). Esta maior adaptação ou termotolerância é um dos focos da termomanipulação embrionária, principalmente para aves criadas nos países tropicais (Meteyake et al., 2023a).

Uma demonstração da adaptabilidade ao calor dos animais termicamente manipulados é a capacidade de reduzir sua taxa metabólica e uma forma de analisar este fator é a redução de temperatura corporal (TC) em situações de estresse calórico em vida adulta. Saleh et al. (2020) estudaram a manipulação térmica em embriões de frangos de corte com protocolo de 39,0°C e 65% de umidade relativa (UR), entre 10-18DE, por 18h/d e submeteram as aves em vida adulta à uma temperatura controle de 25°C e de estresse cíclico de 35°C do 28-35 dia, tornando assim possível verificar a redução da TC nos animais em estresse cíclico por calor. Em convergência, Al-Zghoul et al. (2019) utilizaram 39,0°C e 65% UR por 18 horas, do 10-18DE e também observaram redução da temperatura corporal nos animais adultos em comparação ao grupo que teve a incubação com parâmetros normais (37,5° C). Estes resultados são uma demonstração da maior capacidade de adaptabilidade dos animais termicamente manipulados (Al-Zghoul et al., (2015).

Outra forma de avaliar o efeito da termotolerância é pela quantificação da *Heat Shock Protein* (HSP). A HSP é uma proteína de choque térmico e seu efeito principal é de proteção à morte celular e aos efeitos da agregação proteica causada pelo estresse térmico (Tarkhan et al., 2020). Al-Zghoul et al. (2019) observaram aumento do HSP70 nos animais termicamente

manipulados. Assim como Leão (2022) que encontrou maior expressão de HSP70 no figado nas aves ao utilizar 39°C durante 3 horas do 16 ao 18 DE, denotando assim possível eixo de ação para explicar como ocorre a termotolerância nos animais TM.

1.6 Termomanipulação embrionária e seus efeitos na eclosão dos pintos

Os efeitos da termomanipulação durante a incubação são uma preocupação da indústria, uma vez que os padrões de temperatura, umidade, viragem e ventilação já são estabelecidos para o máximo rendimento de eclosão de pintos. Sendo assim, avaliar a eclosão dos pintos oriundos de incubações com termomanipulação é fundamental para implementar a técnica em escala industrial. Amjadian et al. (2020) utilizaram protocolo de incubação de 39,5°C e 65% de UR por 3h/dia, do 11 a 16DE e não obtiveram resultados diferentes entre os tratamentos quanto à taxa de eclosão, janela de nascimento e a qualidade dos pintos. Resultados semelhantes ao grupo controle na eclosão dos ovos é altamente desejável, uma vez que se busca a termotolerância e o crescimento muscular das aves durante a criação.

Leão (2022) utilizaram 39°C por 3h/dia do 16 ao 18 DE e não também não encontraram diferença entre os tratamentos para pintos em relação ao peso ao nascer e eclodibilidade. Já outros pesquisadores utilizaram 39,0°C durante 18 horas do 10 ao 18 DE e encontraram redução da taxa de eclosão (Tarkhan et al., 2020). Os resultados negativos podem ser explicados pela perda de água devido a maior temperatura interna no embrião, que ao favorecer a desidratação, reduz a taxa de eclosão, compensando o ganho de energia calórica em potencial da TM (Sozcu et al., 2013). Já os resultados que não demonstraram diferença entre os tratamentos podem ser explicados pelas diferenças genéticas das linhagens ou por um protocolo não tão desafiador (Sabry e Yalcin, 2023).

Outros protocolos, como o de 40,5°C contínuo do 16 ao 18,5DE, demonstraram redução da eclosão dos pintos (Willemsen et al., 2010). Em concordância, Yahav et al. (2004a) utilizaram 41°C por 3 horas do 8 ao 10DE e observaram redução da eclosão em relação ao controle (37,5°C). Assim, percebe-se que a depender do período de utilização da TM e de sua intensidade, os efeitos negativos na eclosão e qualidade física dos pintos podem ser intensificados e sobrepor o ganho gerado pelo condicionamento térmico (Willemsen et al., 2010).

1.7 Termomanipulação embrionária e seus efeitos no desempenho dos frangos

Um dos principais ganhos da TM é a melhoria no desempenho de aves que sofrem com o desafio térmico durante a criação até o abate. Isto pode ser comprovado por Saleh et al. (2020) que, ao realizarem a manipulação térmica do 10 a 18DE elevando a temperatura para 39,0°C e a 65% de umidade relativa por 18 h/dia, observaram que aves do tratamento com alteração de temperatura apresentaram maior peso final aos 37 dias de idade. Neste caso, o uso da TM em período tardio (10 a 18DE) pode ter sido responsável por ativar a expressão de genes da diferenciação e proliferação de mioblastos na segunda onda de desenvolvimento muscular, acarretando assim em maior peso final (Collin et al., 2007).

Em contrapartida, Oksbjerg et al. (2019) não descreveram efeito na conversão alimentar e no peso médio aos 32 dias quando alteraram a temperatura de 37,5°C para 39°C do 4 ao 7DE, por 24 horas. Resultados que corroboram com o encontrado por Zaboli et al. (2017) que realizaram experimento com 39,5°C e 65% de umidade, por 12 horas, do 7 ao 10DE e relataram que não houve efeito sobre o consumo de ração das aves. Dessa forma, percebe-se que a elevação de temperatura em incubação não necessariamente altera o consumo de ração da ave. Ainda, denota-se que protocolos em fases mais iniciais (4 a 7DE e 7 a 10DE) apresentam menor efeito sobre o desempenho, possivelmente por não englobarem as expressões gênicas de fatores de crescimento envolvidos na segunda onda de desenvolvimento muscular (Collin et al., 2007).

Ainda, a TM embrionária é capaz de afetar a composição das células musculares dos embriões em desenvolvimento (Piestun et al., 2015). Esses autores utilizaram protocolo de 39,5°C, durante 12 horas, do 7 ao 16DE e encontraram aumento da proliferação de mioblastos nos músculos peitorais dos pintos na primeira semana de vida. Meteyake et al. (2023), estudando a qualidade da carne de frangos de corte, demonstraram que a manipulação térmica com 39,5°C e 65% UR, do 10 ao 18 DE, por 6 e 12 horas reduziu significativamente a perda por gotejamento do músculo peitoral maior; demonstrando assim, mais uma finalidade da TM.

1.8 Termomanipulação embrionária e seus efeitos sobre parâmetros fisiológicos

A adaptação epigenética ao calor envolve mudanças nas regulações hormonais e metabólicas que aumentam o condicionamento térmico (Yahav et al., 2004c). Estudos anteriores realizados em embriões de frango relataram que a TM durante a janela de tempo de

desenvolvimento e maturação do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide diminuiu significativamente as taxas metabólicas do embrião e do pintinho e melhorou o crescimento pós-eclosão (Piestun et al., 2008b; Piestun et al., 2015a).

No período pós eclosão, aves termomanipuladas de diferentes protocolos já apresentaram valores de T3 e T4 na corrente sanguínea menores que o grupo controle, sinal importante de demonstração de redução da taxa metabólica para processar nutrientes, sinalizando possível aumento de eficiência alimentar (Yahav et al., 2004b; G.-R. Zaboli et al., 2017; Meteyake et al., 2023b). Isto provavelmente ocorre por meio da Deiodinase (DIO2), enzima expressa em tecido muscular, responsável por transformar a Tiroxina (T4) em suas formas ativa triiodotironina (T3) (Loyau et al., 2013). A persistência do aumento de DIO3, enzima responsável por retirar a forma ativa de T3 e T4 do tecido muscular e a diminuição da expressão de DIO2 nas aves termomanipuladas explicam por que as concentrações plasmáticas de T3 e T4, nas aves TM, são mais baixas do que as do controle (Al-Zghoul et al., 2015).

Este efeito aparenta ser um contrassenso, uma vez que aves termomanipuladas apresentam melhor desempenho e assim, espera-se uma taxa metabólica mais alta para justificar o maior peso final ou ganho de peso observado. Contudo, as concentrações plasmáticas reduzidas induzem uma aquisição de termotolerância de longa duração, uma vez que reduzem o gasto calórico dos animais para a metabolização de nutrientes (Al-Zghoul et al., 2015).

A termomanipulação ocasiona o efeito epigenético de incremento de desempenho por diferentes vias, as principais já mapeadas são: aumento da sensibilidade hipotalâmica neural (Tzschentke e Plagemann, 2006), aumento da expressão de genes de proteção tecidual (Al-Zghoul et al., 2015; Tarkhan et al., 2020), aumento da expressão de genes do desenvolvimento muscular (Al-Zghoul et al., 2016a; Al-Zghoul and El-Bahr, 2019a; Rogers et al., 2023), aumento da expressão de genes de hormônios do crescimento (Zaboli et al., 2017; Dalab et al., 2022b), aumento da expressão de genes de metabolismo de proteínas (Almeida et al., 2016; Yalcin et al., 2022), aumento da expressão de genes do sistema oxidativo (Vinoth et al., 2015; Al-Zghoul et al., 2019a). E sabe-se que para que cada uma destas seja afetada, existem diferentes protocolos, com suas respectivas temperaturas, tempos de exposição e períodos de ação no desenvolvimento embrionário.

1.9 Mecanismo molecular da termomanipulação sobre o desenvolvimento muscular

A formação do tecido muscular se inicia no desenvolvimento embrionário e vai até a vida adulta. No embrião, os progenitores musculares sofrem determinação miogênica, dando origem a mioblastos que primeiro proliferam e depois se diferenciam e se fundem em fibras multinucleadas (Ordahl et al., 1999). Estudos indicam que, no embrião, os mioblastos embrionários são mais abundantes 3 ao 7 dia embrionário, determinando a primeira "onda" de desenvolvimento, enquanto os mioblastos fetais são mais abundantes entre 8 e 12 DE, determinando a segunda "onda" de desenvolvimento (Stockdale, 1992).

A partir do 15 DE, as células satélites podem ser distinguidas pela sua morfologia e localização sob a membrana basal das miofibras (Yogev Piestun et al., 2009). Estas células são a principal fonte de precursores miogênicos no músculo pós-eclosão (Schultz and McCormick, 1994); no entanto, o seu número relativo ao total de núcleos de miofibras diminui na fase final de crescimento, podendo chegar a menos de 5% tornando-se progressivamente inativas à medida que ocorre o crescimento do organismo (Allouh et al., 2008). Outra importante função das células satélites se dá em situações estressantes para o tecido muscular, como o calor, no qual estas são capazes de reentrar no ciclo celular e sofrer proliferação; posteriormente são retiradas do ciclo celular e ocorre a sua fusão em fibras existentes ou recém-formadas (Hawke e Garry, 2001).

Quanto à regulação destas células, o fator de crescimento IGF-1, que desempenha um papel tanto no crescimento quanto na hipertrofia muscular, atua e induz a proliferação (Halevy et al., 2001). O fator de transcrição de caixa pareada sete (Pax7) é provavelmente o marcador precoce mais útil para células satélites e seu uso em associação com a termomanipulação tem sido amplo (Day et al., 2007). A miogênese é fortemente governada por genes básicos da família MyoD hélice-alça-hélice (MyoD, fator miogênico-5, miogenina e fator regulador miogênico-4). MyoD e miogenina são expressos sequencialmente apenas em células satélites ativadas (Yablonka–Reuveni e Paterson, 2001).

A termomanipulação se mostra como uma ferramenta eficaz e de baixo custo. Conforme apresentado, cada protocolo possui um objetivo específico e seu uso não deve ser realizado para compensar erros de manejo em campo, falhas nutricionais ou dificuldades com infraestrutura. As diferenças entre os experimentos, seja por idade de matriz, linhagem, nutrição e desafio sanitário interferem na padronização e na criação de um protocolo que possa ser utilizado pelos incubatórios industriais.

Além disso, o protocolo ideal para qualquer situação ainda não existe, também pelo fato de que ao almejar um fator benéfico, como por exemplo a melhoria no desempenho, comumente ocasiona-se uma redução de eclosão, perda da qualidade da carne, redução de termotolerância, dentre outros. O que se pode inferir é que já há a indicação de uso de 39,5°C e 65% UR, do 7-16DE, por 12 horas, em países tropicais, a fim de se obter animais TM com maior capacidade de resistência ao estresse calórico (Meteyake et al., 2023a). A melhor maneira de criar um protocolo futuro é padronizando os experimentos, com objetivos concretos sobre o intuito daquele protocolo e com linhagens, fase da vida, estresse calórico e nutrição bem estabelecidos.

REFERÊNCIAS

- 1. Allouh, M.Z., Yablonka-Reuveni, Z., Rosser, B.W.C., 2008. Pax7 reveals a greater frequency and concentration of satellite cells at the ends of growing skeletal muscle fibers. Journal of Histochemistry & Cytochemistry 56, 77–87.
- Almeida, V.R., Morita, V.S., Sgavioli, S., Vicentini, T.I., Castiblanco, D.M.C., Boleli, I.C., 2016. Incubation temperature manipulation during fetal development reduces adiposity of broiler hatchlings. Poult Sci 95, 316–324. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pev327
- Al-Rukibat, R.K., Al-Zghoul, M.B., Hananeh, W.M., Al-Natour, M.Q., Abu-Basha, E.A., 2017. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler chickens. Poult Sci 96, 234–240.
- 4. Álvarez, E., Barba, Emilio, Alvarez, E., Barba, E, n.d. Behavioural responses of great tits to experimental manipulation of nest temperature during incubation. https://doi.org/91:220-230. 2014
- Al-Zghoul, M.B., Al-Natour, M.Q., Dalab, A.S., Alturki, O.I., Althnaian, T., Alramadan, S.Y., Hannon, K.M., 2016. Thermal manipulation mid-term broiler chicken embryogenesis: Effect on muscle growth factors and muscle marker genes. Revista Brasileira de Ciencia Avicola / Brazilian Journal of Poultry Science 18, 607–618. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0260
- Al-Zghoul, M.-B., Dalab, A.E.S., Yahya, I.E., Althnaian, T.A., Al-ramadan, S.Y., Ali, A.M., Albokhadaim, I.F., El-Bahr, S.M., Al Busadah, K.A., Hannon, K.M., 2015.
 Thermal manipulation during broiler chicken embryogenesis: Effect on mRNA

- expressions of Hsp108, Hsp70, Hsp47 and Hsf-3 during subsequent post-hatch thermal challenge. Res Vet Sci 103, 211–217. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.10.015
- Al-Zghoul, M.B., El-Bahr, S.M., 2019. Thermal manipulation of the broilers embryos: Expression of muscle markers genes and weights of body and internal organs during embryonic and post-hatch days. BMC Vet Res 15. https://doi.org/10.1186/s12917-019-1917-6
- 8. Al-Zghoul, M.B., El-Bahr, S.M., Al-Rukibat, R.K., Dalab, A.E.S., Althnaian, T.A., Al-ramadan, S.Y., 2015. Biochemical and molecular investigation of thermal manipulation protocols during broiler embryogenesis and subsequent thermal challenge. BMC Vet Res 11. https://doi.org/10.1186/s12917-015-0609-0
- 9. Al-Zghoul, Mohammad Borhan, Saleh, K.M., Ababneh, M.M.K., 2019. Effects of prehatch thermal manipulation and post-hatch acute heat stress on the mRNA expression of interleukin-6 and genes involved in its induction pathways in 2 broiler chicken breeds. Poult Sci 98, 1805–1819. https://doi.org/10.3382/ps/pey499
- Al-Zghoul, M B, Sukker, H., Ababneh, M.M., 2019. Effect of thermal manipulation of broilers embryos on the response to heat-induced oxidative stress. Poult Sci 98, 991– 1001. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pey379
- Amjadian, T., Hossein Shahir, M., 2020. Effects of repeated thermal manipulation of broiler embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance. https://doi.org/10.1007/s00484-020-02012-w/Published
- 12. Baêta, F. da C., Souza, C. de F., 2010. Ambiência em edificações rurais: conforto animal. Viçosa: UFV 2.
- 13. Collin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Rodón, F.E.R., Skiba-Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M.J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggeman, V., Decuypere, E., Picard, M., Yahav, S., 2007. Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens. Poult Sci 86, 795–800. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/86.5.795
- 14. Cong, W., Han, W., Liu, J., Zhao, R., Wu, L., 2023. Embryonic thermal manipulation leads growth inhibition and reduced hepatic insulin-like growth factor1 expression due to promoter DNA hypermethylation in broilers. Poult Sci 102. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102562

- 15. Costa, B.T.A., Lopes, T.S.B., Mesquita, M.A., Araújo, I.C.S., 2020. Thermal manipulations of birds during embryogenesis. Worlds Poult Sci J. https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1823302
- 16. Cottrell, J.J., Liu, F., Hung, A.T., DiGiacomo, K., Chauhan, S.S., Leury, B.J., Furness, J.B., Celi, P., Dunshea, F.R., 2015. Nutritional strategies to alleviate heat stress in pigs. Anim Prod Sci 55, 1391–1402.
- 17. Curtis, S.E., 1983. Perception of thermal comfort by farm animals. Farm Animal Housing and Welfare 59–66.
- 18. Dalab, A.S., Ali, A.M., Althnaian, T.A., Alkhodair, K.M., Al-Ramadan, S.Y., 2022a. Molecular and ultrastructural investigations of the effect of thermal manipulation during embryogenesis on pectoral and thigh muscles growth factors in broilers. Journal of Applied Poultry Research 31. https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100188
- 19. Dalab, A.S., Ali, A.M., Althnaian, T.A., Alkhodair, K.M., Al-Ramadan, S.Y., 2022b. Molecular and ultrastructural investigations of the effect of thermal manipulation during embryogenesis on pectoral and thigh muscles growth factors in broilers. Journal of Applied Poultry Research 31. https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100188
- Day, K., Shefer, G., Richardson, J.B., Enikolopov, G., Yablonka-Reuveni, Z., 2007.
 Nestin-GFP reporter expression defines the quiescent state of skeletal muscle satellite cells. Dev Biol 304, 246–259.
- 21. Decuypere, E., Michels, H., 1992. Incubation temperature as a management tool: a review. Worlds Poult Sci J 48, 28–38.
- 22. French, N.A., 1997. Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. Poult Sci 76, 124–133.
- 23. Funck, S.R., Fonseca, R.A., 2008. Avaliação energética e de desempenho de frangos com aquecimento automático a gás e a lenha. Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental 12, 91–97.
- 24. Furlan, R.L., Macari, M., 2002. Termorregulação. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte 2, 209–228.
- 25. Ghai, M., Kader, F., 2022. A review on epigenetic inheritance of experiences in humans. Biochem Genet 60, 1107–1140.
- 26. Goel, A., Ncho, C.M., Gupta, V., Choi, Y.-H., 2023. Embryonic modulation through thermal manipulation and in ovo feeding to develop heat tolerance in chickens. Animal Nutrition 13, 150–159.

- 27. Guerrero-Bosagna, C., Morisson, M., Liaubet, L., Rodenburg, T.B., De Haas, E.N., Košťál, Ľ., Pitel, F., 2018. Transgenerational epigenetic inheritance in birds. Environ Epigenet 4, dvy008.
- 28. Halevy, O., Krispin, A., Leshem, Y., McMurtry, J.P., Yahav, S., 2001. Early-age heat exposure affects skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation in chicks. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 281, R302–R309.
- 29. Hamdy, A.M.M., Henken, A.M., Van der Hel, W., Galal, A.G., Abd-Elmoty, A.K.I., 1991. Effects of incubation humidity and hatching time on heat tolerance of neonatal chicks: growth performance after heat exposure. Poult Sci 70, 1507–1515.
- 30. Hawke, T.J., Garry, D.J., 2001. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. J Appl Physiol 91, 534–551.
- 31. Kasuya, E., 2016. Secretory pattern and regulatory mechanism of growth hormone in cattle. Animal Science Journal 87, 178–182. https://doi.org/10.1111/asj.12418
- 32. Kühn, E.R., Decuypere, E., Rudas, P., 1984. Hormonal and environmental interactions on thyroid function in the chick embryo and posthatching chicken. Journal of Experimental Zoology 232, 653–658.
- 33. Lara, L.J., Rostagno, M.H., 2013. Impact of heat stress on poultry production. Animals 3, 356–369.
- 34. Liu, L., Ren, M., Ren, K., Jin Yuanchang, Yan, M., 2020. Heat stress impacts on broiler performance: a systematic review and meta-analysis. Poult Sci 99, 6205–6211. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.019
- 35. Loyau, T., Berri, C., Bedrani, L., Métayer-Coustard, S., Praud, C., Duelos, M.J., Tesseraud, S., Rideau, N., Everaertf, N., YahavJ, S., Mignon-Grasteau, S., Collin, A., 2013. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality^ 91, 3674–3685. https://doi.org/10.2527/jas2013-6445
- 36. Meteyake, H.T., Bilalissi, A., Kouame, Y.A.E., N'nanle, O., Tona, K., 2023a. Thermal Manipulation During Incubation: Effects on Embryo Development, Production Performance, Meat Quality, and Thermal Tolerance of Broiler Chickens. J Worlds Poult Res 13, 29–40. https://doi.org/10.36380/jwpr.2023.3
- 37. Meteyake, H.T., Bilalissi, A., Kouame, Y.A.E., N'nanle, O., Tona, K., 2023b. Thermal Manipulation During Incubation: Effects on Embryo Development,

- Production Performance, Meat Quality, and Thermal Tolerance of Broiler Chickens. J Worlds Poult Res 13, 29–40.
- 38. Mueller, A.J., Miller, K.D., Bowers, E.K., 2019. Nest microclimate during incubation affects posthatching development and parental care in wild birds. Sci Rep 9, 5161. https://doi.org/10.1038/s41598-019-41690-4
- 39. Ordahl, C.P., Williams, B.A., Denetclaw, W., 1999. 9 Determination and Morphogenesis in Myogenic Progenitor Cells: An Experimental Embryological Approach. Curr Top Dev Biol 48, 319–367.
- 40. Phillips, N.A., Welc, S.S., Wallet, S.M., King, M.A., Clanton, T.L., 2015. Protection of intestinal injury during heat stroke in mice by interleukin-6 pretreatment. Journal of Physiology 593, 739–753. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.283416
- 41. Piestun, Y., Harel, M., Barak, M., Yahav, S., Halevy, O., 2009. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. J Appl Physiol 106, 233–240. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.91090.2008.-We
- 42. Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Brake, J., Yahav, S., 2008a. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: effect on the acquisition of thermotolerance. Poult Sci 87, 1516–1525.
- 43. Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Yahav, S., 2008b. The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on inhatch and post-hatch thermoregulation. J Therm Biol 33, 413–418. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2008.06.007
- 44. Piestun, Y., Yahav, S., Halevy, O., 2015a. Thermal manipulation during embryogenesis affects myoblast proliferation and skeletal muscle growth in meat-type chickens. Poult Sci 94, 2528–2536. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pev245
- 45. Piestun, Y., Yahav, S., Halevy, O., 2015b. Thermal manipulation during embryogenesis affects myoblast proliferation and skeletal muscle growth in meat-type chickens. Poult Sci 94, 2528–2536. https://doi.org/10.3382/ps/pev245
- 46. Renaudeau, D., Collin, A., Yahav, S., De Basilio, V., Gourdine, J.-L., Collier, R.J., 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. Animal 6, 707–728.
- 47. Rogers, J.W., Hutson, B., Rueda, M., Davis, J.D., Purswell, J., Starkey, C., Starkey, J.D., 2023. Assessment of Early-Stage Thermal Manipulation on Broiler Chicken Muscle Satellite Cell Populations at Transfer and Hatch, J. Anim. Sci.

- 48. Saleh, K.M.M., Tarkhan, A.H., Al-Zghoul, M.B., 2020. Embryonic thermal manipulation affects the antioxidant response to post-hatch thermal exposure in broiler chickens. Animals 10. https://doi.org/10.3390/ani10010126
- 49. Schultz, E., McCormick, K.M., 1994. Skeletal muscle satellite cells. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 123: Volume: 123 213–257.
- 50. Sozcu, A., Ipek, A., 2013. Incubation Conditions Affect Chick Quality and Broiler Performance Arda SÖZCÜ*, Aydın İPEK, Cilt.
- 51. Stockdale, F.E., 1992. Myogenic cell lineages. Dev Biol 154, 284–298.
- 52. Suarez, M.E., Wilson, H.R., McPherson, B.N., Mather, F.B., Wilcox, C.J., 1996. Low temperature effects on embryonic development and hatch time. Poult Sci 75, 924–932.
- 53. Tarkhan, A.H., Saleh, K.M.M., Al-Zghoul, M.B., 2020. HSF3 and Hsp70 expression during post-hatch cold stress in broiler chickens subjected to embryonic thermal manipulation. Vet Sci 7, 1–12. https://doi.org/10.3390/vetsci7020049
- 54. Tellez, G., 2017. Evaluation of A Lactic Acid Based Probiotic on Leaky Gut and Microbiome Associated with Salmonella Enteritidis Infection and Feed Restriction in Broiler Chickens. Approaches in Poultry, Dairy & Veterinary Sciences 1. https://doi.org/10.31031/apdv.2017.1.501
- 55. Tzschentke, B., 2008. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. Comput Electron Agric 64, 61–71. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compag.2008.05.003
- 56. Tzschentke, B., n.d. Attainment of Thermoregulation as Affected by Environmental Factors 1.
- 57. Tzschentke, B., Plagemann, A., 2006. Imprinting and critical periods in early development. Worlds Poult Sci J 62, 626–637.
- 58. Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Tharian, J.A., Shanmugam, M., Rajkumar, U., 2015. Effect of thermal manipulation during embryogenesis on liver heat shock protein expression in chronic heat stressed colored broiler chickens. J Therm Biol 53, 162–171. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.10.010
- 59. Wellington Rodrigues Lima Júnior, J., 2023. Programa de pós-graduação integrado em zootecnia mestrado manipulação térmica sobre a expressão dos genes do crescimento e choque térmico durante o período embrionário e pós-natal em codornas.
- 60. Willemsen, H., Kamers, B., Dahlke, F., Han, H., Song, Z., Pirsaraei, Z.A., Tona, K., Decuypere, E., Everaert, N., 2010. High and low-temperature manipulation during late

- incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. Poult Sci 89, 2678–2690. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00853
- 61. Winnie, C., 2013. Manipulação térmica embrionária em frangos de corte. Dissertação de mestrado no programa de pós graduação de zootecnia da UFMG.
- 62. Xu, P., Lin, H., Jiao, H., Zhao, J., Wang, X., 2023. Chicken embryo thermal manipulation alleviates postnatal heat stress-induced jejunal inflammation by inhibiting Transient Receptor Potential V4. Ecotoxicol Environ Saf 256. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114851
- 63. Yablonka–Reuveni, Z., Paterson, B.M., 2001. MyoD and myogenin expression patterns in cultures of fetal and adult chicken myoblasts. Journal of Histochemistry & Cytochemistry 49, 455–462.
- 64. Yahav, S., Collin, A., Shinder, D., Picard, M., 2004a. Thermal Manipulations During Broiler Chick Embryogenesis: Effects of Timing and Temperature.
- 65. Yahav, S., Collin, A., Shinder, D., Picard, M., 2004b. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. Poult Sci 83, 1959–1963.
- 66. Yahav, S., Rath, R.S., Shinder, D., 2004c. The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (Gallus domesticus) on hatchability, body weight and thermoregulation after hatch. J Therm Biol 29, 245–250.
- 67. Yahav, S., Tzschentke, B., 2006. Perinatal thermal manipulations in poultry, does it cause long-lasting thermoregulatory memory?
- 68. Yalcin, S., Aksit, M., Ozkan, S., Hassanzadeh, M., Bilgen, G., Helva, I.B., Izzetoglu, G.T., Buyse, J., Yılmaz, M.C., 2022. Effect of temperature manipulation during incubation on body weight, plasma parameters, muscle histology, and expression of myogenic genes in breast muscle of embryos and broiler chickens from two commercial strains. Br Poult Sci 63, 21–30. https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1958297
- 69. Zaboli, G.-R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K., Baghbanzadeh, A., Mehri, M., 2017. Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. Poult Sci 96, 478–485.
- 70. Zaboli, G.R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K., Baghbanzadeh, A., Mehri, M., 2017. Physiology and reproduction: Thermal manipulation during pre and

post-hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. Poult Sci 96, 478–485. https://doi.org/10.3382/ps/pew344

Artigo elaborado de acordo com as normas da Journal of Thermal Biology (A1 – Qualis Capes – Zootecnia e Recursos Pesqueiros); JCR (2021): 3,189

Aumento da temperatura de incubação entre 7 e 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre os resultados de incubação e produção de frangos de corte

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da manipulação térmica embrionária utilizando temperaturas de 39,5°C e 40,5°C, por 6 ou 12 horas/dia, do 7º ao 16º dia de desenvolvimento embrionário (DE), sobre o rendimento de incubação, qualidade física dos pintos, consumo do resíduo vitelino, parâmetros fisiológicos, rendimento de cortes e desempenho dos frangos de corte até 35 dias de idade. O experimento foi iniciado com 4.300 ovos incubáveis oriundos de um lote de matrizes Ross® de 39 semanas de idade. Os ovos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, divididos em cinco incubadoras, totalizando 860 ovos cada. Além do controle (Cont), temperatura de 37,5°C e 60% de umidade relativa (UR) até o 18DE, foram estudados 4 protocolos de incubação com aplicação de temperaturas mais altas dos dias 7 a 16DE, sendo eles: alteração da temperatura para 39,5°C/6 horas/dia e 65% de UR (39,5/6h); alteração da temperatura para 39,5°C/12 horas/dia e 65% de UR(39,5/12h); alteração da temperatura para 40,5°C/6 horas/dia e 65% de UR (40,5/6h); alteração da temperatura para 40,5°C/12horas/dia e 65% de UR (40,5/12h). Após a incubação, foram realizadas avaliações de rendimento de incubação (qualidade de pinto e absorção do saco da gema). Em seguida, foram selecionadas 660 aves para a criação na sala climatizada. Estas, foram distribuídas nos 5 tratamentos e com 6 repetições, totalizando 30 gaiolas em delineamento inteiramente casualizado. Na fase inicial foram utilizadas temperaturas recomendadas pelo manual da linhagem, de termoneutralidade, iniciando com 32°C (±1°C) e finalizando com 24°C (±1°C). Do 21º ao 35º dia, como fator de desafio por calor, as aves foram submetidas à uma temperatura de 32°C (±1°C) durante 8 horas/dia. Durante a criação, foram avaliados parâmetros do metabolismo fisiológico (temperatura cloacal e hematócrito) e de desempenho. Aos 35 dias, foi realizado o rendimento de cortes de peito, coxa e sobrecoxa. A eclodibilidade e o escore de qualidade de pintos dos ovos e aves provenientes do programa 40,5°C/12h foram piores que os demais. No nascimento e com 3 dias de idade, houve menor absorção da gema e menor peso de pinto livre para as aves provenientes do programa de 40,5°C/12h. Aos 35 dias de idade, o programa de 39,5°C/6h apresentou o maior peso médio, menor conversão alimentar e ganho de peso semelhante ao controle (37,5°C). O grupo controle apresentou mortalidade maior do que os demais tratamentos após o início do estresse por calor na terceira semana. Pode-se concluir que o protocolo de 39,5°C/6h não altera a eclosão e qualidade física dos pintos e que ele pode ser indicado para obtenção de melhor conversão alimentar, ganho de peso e rendimento de coxas.

Palavras-chave: termomanipulação 40,5°C, condicionamento térmico, temperatura cloacal, rendimento de cortes.

1. INTRODUÇÃO

A avicultura tem sido considerada como um setor mundial promissor e emergente para produção de proteína animal. Porém, enfrenta um grande desafio: o estresse por calor (Meteyake et al., 2023b). Assim, a termomanipulação (TM) é uma ferramenta de baixo custo para induzir o condicionamento térmico, ao mesmo tempo que pode modular a expressão de genes do desenvolvimento muscular (Piestun et al., 2015a; Goel et al., 2023b).

Os principais fatores envolvidos na TM são: idade de aplicação, temperatura e tempo de exposição. E estes serão os responsáveis por ocasionar efeito imediato e de longa duração sobre a proliferação e diferenciação de mioblastos. Especificamente a TM realizada em períodos intermediários, de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário (DE) têm sido indicadas para melhorar a conversão alimentar, ganho de peso e peso final, uma vez que agem sobre a segunda onda de proliferação de tecido muscular, do 8 ao 12DE e sobre a proliferação de células satélites que possuem maior foco de proliferação do 14 ao 18DE (Halevy et al., 2001; Piestun et al., 2008b; Al-Zghoul and El-Bahr, 2019b). Este período intermediário também evita possíveis reduções de eclodibilidade observadas quando se realiza TM em fases muito iniciais (< 3DE) (Tainika, 2022).

Quanto às temperaturas, o segundo fator dos protocolos de termomanipulação, sabe-se que as 2°C acima do recomendado (37,5°C) possuem reconhecido efeito positivo sobre o desenvolvimento muscular (Piestun et al., 2008b; Khalil et al., 2024). Assim, como as temperaturas altas (> 40°C), em que também já existem estudos comprovando sua eficácia (Al-Rukibat et al., 2017a). Porém, ainda faltam pesquisas que demonstrem o efeito do uso de altas temperaturas em períodos intermediários associando resultados de incubação e desempenho pós eclosão.

O terceiro fator envolvido em um protocolo de termomanipulação é o tempo de exposição. Longo tempo de exposição (> 18 horas) têm sido prejudicial ao desenvolvimento

embrionário pois eleva ao estresse fetal (Moraes et al., 2004). Porém, sabe-se também que temperaturas intermediárias funcionam de maneira adequada com períodos maiores de exposição (6 a 18 horas), enquanto temperaturas mais altas necessitam de tempos de exposição mais baixos para demonstrarem efeitos positivos em parâmetros fisiológicos e de desempenho (≤ 6 horas) (Al-Zghoul e El-Bahr, 2019c).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito de altas temperaturas de incubação do 7 ao 16DE de forma intermitente por 6 ou 12 horas sobre os resultados de incubação, desempenho zootécnico, metabolismo fisiológico e rendimento de cortes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG), sob protocolo de número 295/2023.

2.1 Incubação dos ovos e manipulação térmica

Foram adquiridos 4.500 ovos incubáveis oriundos de um lote de matrizes Ross[®] de 39 semanas de idade, adquiridos do incubatório da AVIVAR Alimentos S/A[®], localizada em São Sebastião do Oeste, Minas Gerais, Brasil. Os ovos foram sanitizados com paraformaldeído (60g de paraformoldeído por desinfecção) correspondente a 3 g por m³/cada. Logo após a sanitização, os ovos foram armazenados durante 72 horas matrizeiro em condições de 18 a 22° C.

Os ovos foram transportados por 3 horas até o Laboratório de Pesquisa em Incubação Artificial da UFMG. Após chegarem, todos os ovos foram identificados e classificados. Ovos fora do tamanho padrão, com grande presença de sujidades, presença de sangue ou com trincas não foram utilizados no experimento. Foram incubados 4.300 ovos, às 11 horas da manhã, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, divididos em cinco incubadoras, em um total de 860 ovos por máquina. Em cada incubadora os ovos foram alocados em 10 bandejas de incubação (repetição), sendo que as bandejas receberam 86 ovos cada. Os ovos foram incubados em cinco máquinas idênticas de estágio único (ChocMaster[®], Luna Rolagem Angular 860, Curitiba, Brasil).

Foi realizada ovoscopia em todas os ovos com 9 e com 18DE. Os ovos translúcidos ou com sinais de mortalidade embrionária foram retirados do experimento. A máquina controle foi regulada para manter a temperatura da casca dos ovos em 37,5°C e 60% de umidade

relativa (UR) até o 18DE. As outras quatro máquinas foram utilizadas para seguir um protocolo de manipulação térmica diferente. Importante ressaltar que os protocolos foram aplicados tendo como referência a temperatura da casca do ovo. Foram iniciados os programas nos dias DE7 e DE16, sendo eles: 39,5°C, por 6 horas/dia e 65% de UR, 39,5°C, por 12 horas/dia e 65% de UR; 40,5°C, por 6 horas/dia e 65% de UR; 40,5°C, por 12 horas/dia e 65% de UR.

Diariamente, foram monitoradas a temperatura e a umidade de todas as incubadoras. Foi mensurada a temperatura da casca dos ovos utilizando um medidor otológico infantil Braun ThermoScan 3[®] (*Braun Healthcare*[®], *El Paso*, Estados Unidos da América). Estas aferições eram realizadas duas vezes ao dia (8:00 e 12:00 horas), em um ovo por bandeja, escolhido aleatoriamente no centro da bandeja. A umidade e temperatura foram medidas diariamente por *Datalogger's Elitech*® (Elitech Brasil, Canoas, Brasil) (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6) e por termohigrômetros. As médias obtidas pelo medidor otológico estão representadas no gráfico abaixo (Figuras 7, 8, 9, 10 e 11). Do 18DE dia em diante, todas as máquinas foram reguladas para a função nascedouro com 36,5°C e 70% de UR.

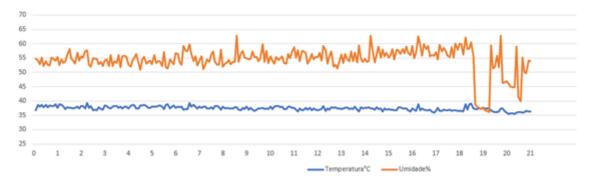


Figura 2 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora controle (37,5°C) pelo Datalogger Elitech®



Figura 3 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 39,5°C/6h pelo Datalogger Elitech®

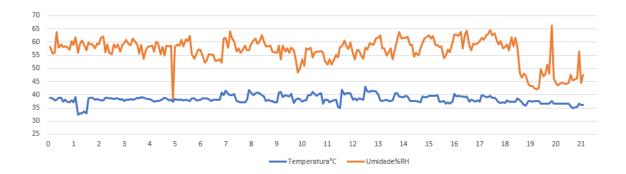


Figura 4 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 39,5°C/12h pelo Datalogger Elitech®

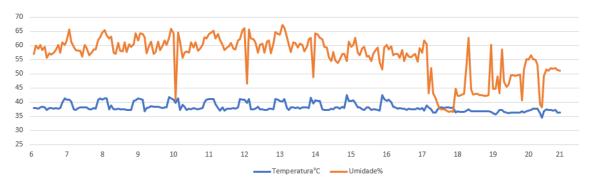


Figura 5 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 40,5°C/6h pelo Datalogger Elitech®

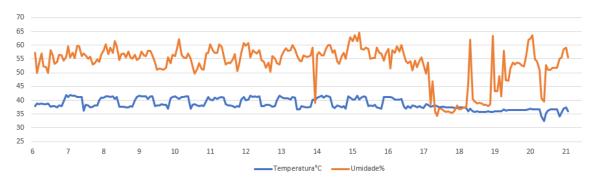


Figura 6 - Aferições de temperatura e umidade da incubadora 40,5°C/12h pelo Datalogger Elitech®

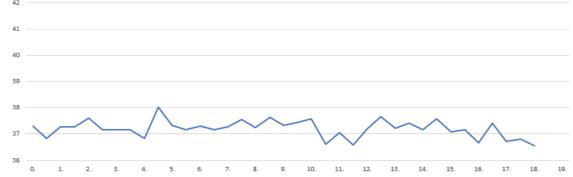


Figura 7 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora controle (37,5°C) com uso de medidor Braun ThermoScan 3

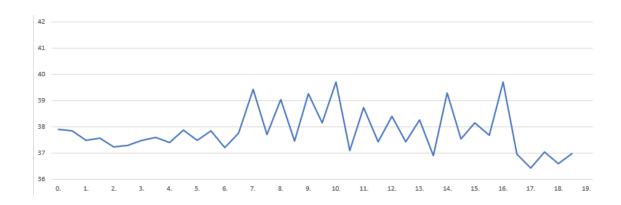


Figura 8 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 39,5°/6h com uso de medidor Braun ThermoScan 3

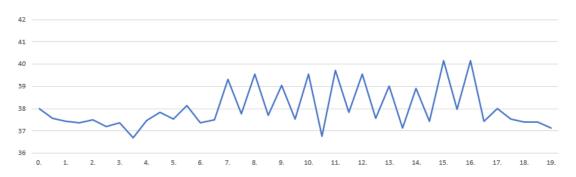


Figura 9 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 39,5°/12h com uso de medidor Braun ThermoScan 3.

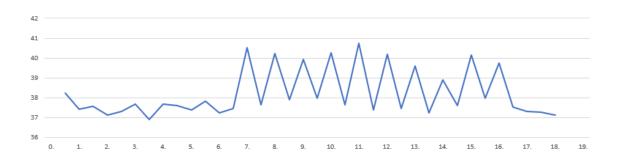


Figura 10 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 40,5°/6h com uso de medidor Braun ThermoScan 3

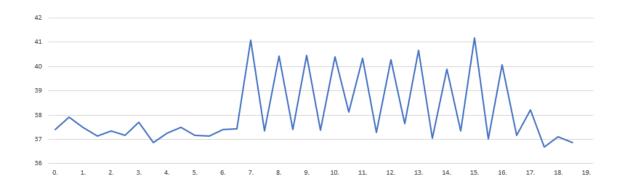


Figura 11 - Aferição de temperatura da casca dos ovos, incubadora 40,5°/12h com uso de medidor Braun ThermoScan 3

A repetição para os resultados de incubação foi a bandeja contendo 86 ovos. O experimento de incubação foi encerrado quando a incubação completou 512 horas. Ao final da incubação todos os pintos nascidos em cada uma das bandejas foram contabilizados e a eclosão foi calculada sobre a fertilidade do lote de matrizes informada pelo matrizeiro (85%).

2.2 Escore de qualidade física dos pintos

Ao final do experimento de incubação, foram selecionados ao acaso 15 pintos por bandeja de nascimento para a análise de qualidade física. O escore de qualidade física foi determinado de acordo com Tona et al. (2003). Foram considerados diversos aspectos visuais dos pintos neonatos: atividade, qualidade do umbigo, firmeza do abdômen, canelas, penugem, presença de membrana vitelínica, olhos e pernas (ANEXO 1). As pontuações desse escore vão de 0 a 100 pontos, em que 0 é o pior escore de qualidade e 100 o pinto de melhor aspecto físico.

2.3 Peso dos pintos e peso dos pintos livre do resíduo vitelino

Para a obtenção do peso dos pintos livre do resíduo vitelino foram utilizadas 14 aves por tratamento, totalizando 84 pintos. Essa análise foi realizada após a retirada das aves do nascedouro e também no 3º dia de vida das aves. Os pintos foram eutanasiados por descolamento cervical e a ave e seu resíduo vitelino foram pesados. Por meio da diferença de peso entre o resíduo e o peso do pinto foi determinado o peso do pinto livre do resíduo vitelino. Foi utilizada balança Gehaka modelo BG 100 (Gehaka, São Paulo, Brasil), com precisão de 0,01g.

O peso relativo do saco vitelino foi obtido por meio do seguinte cálculo: peso absoluto do saco vitelino/peso da ave*100. A média do peso absoluto e relativo do saco vitelino de uma aves foi considerada a repetição e foram utilizadas quatorze e seis repetições por tratamento, respectivamente.

2.4 Estresse por calor e desempenho zootécnico dos frangos de corte

O experimento de desempenho zootécnico dos frangos de corte foi realizado no Laboratório de Metabolismo Animal (LAMA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV/UFMG). As aves foram mantidas do dia 1 até o 35° dia de criação nas dependências do laboratório.

Os pintos oriundos da incubação foram sexados pela asa e foram utilizados 660 pintos de um dia de idade, machos da linhagem Ross® de acordo com os tratamentos. Os pintos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, divididos nos cinco tratamentos de termomanipulação (132 aves/tratamento) com 22 aves cada gaiola, sendo a gaiola a repetição. Os pintos foram alojados em sala climatizada divididos em 30 gaiolas idênticas com 96 cm (comprimento) x 97 cm (largura) x 40 cm (altura) cada. Durante os primeiros 12 dias de alojamento foi utilizado um bebedouro infantil para cada 22 aves. Posteriormente, foram inseridos os bebedouros tipo copo pressão para cada gaiola (22 aves). Do alojamento aos 12 dias de idade foi utilizado um comedouro tubular tipo infantil para cada gaiola e, posteriormente, um comedouro do tipo calha para cada gaiola.

Até o 21º dia, as aves foram criadas em condições de temperatura recomendadas pelo manual, iniciando com 32°C e chegando a 24°C no 20º dia. Do 21º ao 35º dia, a sala climatizada de criação das aves foi regulada para causar um estresse por calor com uma temperatura de 32°C, durante 8 h/dia (início às 10 horas da manhã e término às 18 horas). A umidade e temperatura foram medidas diariamente por *Datalogger's Ellitech* ® (figura 12) e por termo-higrômetros (Termohigrômetro Digital, Exbom®, China).

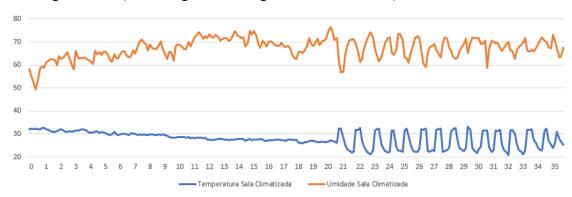


Figura 12 - Aferições de temperatura e umidade da sala climatizada pelo Datalogger Elitech®

Os pintos foram vacinados aos 15 dias de idade contra as doenças de Newcastle (Vaxxon ND HB1, Vaxxinova®, Vargem Grande Paulista, Brasil) e Gumboro (Vaxxon IBD GBV8, Vaxxinova®, Vargem Grande Paulista, Brasil) via água de bebida. Água e ração foram oferecidas à vontade durante todo o período de criação. O programa de luz utilizado foi como se segue: de 1 a 35 dias de idade, 8 horas escuro e 16 horas de luz.

As aves foram pesadas com 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade. O ganho de peso foi calculado descontando-se o peso inicial dos pintos ao alojamento. A pesagem foi feita em caixas com cada repetição.

O consumo de ração foi obtido a partir da quantidade de ração oferecida na semana subtraindo-se a sobra no final de cada semana e ao final de cada fase de criação. Para o cálculo do consumo de ração, foram consideradas as aves mortas na semana.

O cálculo de conversão alimentar dos frangos foi feito com base no consumo médio de ração e o ganho médio de peso das aves ao final do experimento. As aves mortas tiveram os dias de consumo anotados para correção da conversão alimentar.

O número de aves mortas foi registrado diariamente e foi feito o cálculo da porcentagem de refugos e da mortalidade. A partir dessa taxa, calculada a porcentagem de viabilidade.

2.5 Dietas

Para a formulação das dietas foram utilizados os valores nutricionais dos ingredientes encontrados nas Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al. 2017). A forma física da ração utilizada foi farelada em todas as fases de criação. A ração utilizada do primeiro aos 21 dias de vida foi inicial, dos 22 aos 35 dias foi fornecida ração crescimento. Rações idênticas foram utilizadas em todos os cinco tratamentos.

Tabela 1 - Composição nutricional das rações

Níveis nutricionais calculados		
	Inicial	Crescimento
Proteína Bruta (%)	21,9765	18,9608
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.049,16	3.117,69
Cálcio (%)	0,9670	0,7535
Fósforo disponível (%)	0,4861	0,3980
Lisina digestível (%)	1,2582	1,0788
Met + Cis digestivel (%)	0,9408	0,8325
Metionina digestível (%)	0,6810	0,5953
Treonina digestível (%)	0,8612	0,7082
Sódio (%)	0,2138	0,2075

2.6 Temperatura Cloacal e Termografia

A temperatura cloacal dos pintos foi aferida após o nascimento, com 1, 7, 14, 21, 28, 31 e 35 dias de idade, sendo as medições dos dias 1, 7 e 14 realizadas fora do estresse térmico

e as dos dias 28 e 35 durante o período de calor. O 31° dia de criação foi escolhido para que houvesse uma mensuração às 8 horas (2 horas antes do início do calor) e às 14 horas (4 horas após o início do calor). A mensuração foi realizada por meio de termômetro digital veterinário Kruuse[®] (Langeskov, Dinamarca) que foi inserido até que seu sensor metálico desaparecesse completamente na cloaca da ave. A mensuração era finalizada com o aviso sonoro do aparelho. Foi realizado em três aves por gaiola, totalizando 18 frangos por tratamento.

No 28º, 31º e 34º dia foram selecionadas aleatoriamente duas aves por tratamento para realização da termografia em período térmico com 24°C e em período térmico com 32°C. Foi utilizada câmera termográfica acoplada a aparelho de celular (Câmera Flir One[®], Boston, EUA), houve mensuração da temperatura dos pontos mais quentes em três regiões das aves (cabeça, inglúvio e asas), além da formação do mapa de calor e análise dos locais com maior dissipação de energia.

2.7 Hematócrito

Nos dias 21 e 35 de criação das aves foram selecionados 6 animais de cada tratamento para coleta de amostras de sangue da veia da asa (uma ave por gaiola). O valor do hematócrito foi determinado utilizando tubos capilares heparinizados que, posteriormente a coleta, foram centrifugados a 11.000 x g por 5 min. Após centrifugação, uma régua de microhematócrito foi utilizada para fornecer os valores de cada ave.

3. RENDIMENTO DE CORTES

No 35º dia de desempenho foram selecionadas duas aves por repetição, totalizando 12 aves por tratamento. Estas estavam com peso dentro da faixa de 10% do peso médio da gaiola. Ocorreu a pesagem de todas as aves e, em seguida, foi realizada a sangria e posterior pesagem de cada seção de cortes: coxa, sobrecoxa e peito. O rendimento foi dado pela proporção do peso do corte pelo peso da ave viva, multiplicado por 100.

3.1 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando *software* R (R Core Team, 2018). A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram verificadas pelo teste Shapiro-Wilk (5%). Os dados normais e homogêneos foram submetidos à análise de

variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Quando os dados não atenderam as premissas de normalidade e homogeneidade, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Em todos os testes realizados a significância estatística considerada foi de P<0,05.

O modelo estatístico usado foi:

$$Yij = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

sendo Y_{ij} = variável estudada; μ = média inerente as variáveis, T_i = efeito do tratamento (cinco protocolos de incubação), e ϵ_{ijj} = erro experimental aleatório.

4. RESULTADOS

Houve menor eclosão de ovos no tratamento 40,5°C/12h quando comparado aos demais tratamentos(P<0,05), ainda, os outros tratamentos não diferiram entre si (P>0,05). O peso do pinto à expedição para sala climatizada foi menor nas aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h em relação às aves do tratamento de 40,5°C/6h, mas não em comparação às aves dos demais tratamentos (P<0,05). Em relação ao escore de qualidade física, as aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h apresentaram escore mais baixo em relação as aves dos demais tratamentos avaliados (P<0,05) (Tabela 2).

O peso do saco da gema no dia do nascimento das aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h foi maior no em comparação às aves dos demais tratamentos que não diferiram entre si (P<0,05). O peso do pinto livre do saco vitelínico também foi menor nas aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h (P<0,05). O peso da gema relativo ao pinto não foi diferente entre as aves dos tratamentos 37,5°C (controle), 39,5°C/6h, 39,5°C/12h, e 40,5°C/6h, porém as aves dos tratamentos 37,5°C e 39,5°C/6h obtiveram peso inferior às do tratamento de 40,5°C/12h (P<0,05) (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre os resultados de incubação e qualidade física dos pintos

Tratamentos	Eclosão/férteis (%)	Peso na Expedição (g)	Escore Qualidade Física	Peso Saco da Gema (g)	Peso Pinto Livre da Gema (g)	Peso relativo da Gema (%)
37,5°C 39,5°C/6h	78,22a 78,65a	43,28ab 44,21ab	96,55a 97,08a	5,57b 5,35b	37,71a 38,85a	12,81b 12,09b
39,5°C/12h 40,5°C/6h	78,03a 83,03a 73,18a	44,21ab 44,14ab 45,42a	93,42a 95,01a	6,14b 6,85b	38,00a 39,57a	13,92ab 14,65ab

40,5°C/12h	20,82b	43,06b	75,30b	7,85a	35,21b	15,85a	
Valor de P	<0,001	0,034	< 0,001	0,018	0,010	0,007	
SEM	14,336	0,797	1,119	0,391	0,669	0,764	

Aves do tratamento 40,5°C/12h apresentaram penas mais esbranquiçadas em relação ao controle (37,5°C), que apresentaram penas mais amareladas (Figura 13).



Figura 13 - Fotografia de pintos com 2 dias. Ao lado esquerdo, tratamento controle, 37,5°C; ao lado direito, tratamento 40,5°C/12h

O peso do pinto foi menor no tratamento de 40,5°C/12h, com 3 dias (P<0,05). Em relação ao peso do saco vitelínico, o tratamento 40,5°C/12h foi o maior de todos, e não houve influência entre os tratamentos 37,5°C, 39,5°C/6h, 39,5°C/12h, porém o tratamento 39,5°C/6h apresentou melhor absorção em relação ao 40,5°C/6h (p<0,05). O peso de pinto livre da gema foi maior para o tratamento 37,5°C, seguido dos tratamentos intermediários 39,5°C/6h, 39,5°C/12h, 40,5°C/6h, sem efeito entre si, e seguido posteriormente pelo tratamento 40,5°C/12h (P<0,05). O peso de saco vitelínico relativo ao peso de pinto foi maior no tratamento de 40,5°C/12h, e dos restantes apenas o 39,5°C/6h se diferenciou, obtendo o menor peso relativo (P<0,05) (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre a absorção do saco da gema com 3 dias

Tratamentos	Peso do Pinto	Peso Saco da Gema	Peso Livre da	Peso da Gema
	(g)	(g)	Gema (g)	(%)
37,5°C	62,90a	1,76bc	61,13a	2,78b
39,5°C/6h	59,01a	1,06c	57,94b	1,83c

39,5°C/12h	57,92a	1,64bc	56,28b	2,84b
40,5°C/6h	58,91a	1,87b	57,03b	3,25b
40,5°C/12h	51,98b	3,73a	48,24c	4,93a
Valor de P	0,045	0,047	0,026	0,029
SEM	2,395	0,356	2,435	0,623

O peso inicial das aves no alojamento foi menor no tratamento de 40,5°C/12h (P<0,05). Houve menor ganho de peso da primeira semana, assim como menor peso médio aos 7 dias e menor consumo para o tratamento de 40,5°C/12h (P<0,05). Não houve efeito dos tratamentos para a conversão alimentar aos 7 dias (P>0,05) (Tabela 4). Houve maior mortalidade na primeira semana no grupo 40,5°C/12h em relação ao grupo 40,5°C/6h (P<0,05), entretanto os outros grupos não distinguiram entre si (P>0,05).

Tabela 4 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o desempenho dos frangos de corte de 1 a 7 dias

Tratamentos	Peso	Peso	Ganho de	Consumo	Conversão	Mortalidade
	Inicial	Médio	Peso	de Ração	Alimentar	1-7 dias
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g:g)	(%)
37,5°C	43,28a	154,30a	111,17a	116,00a	1,045	0,83ab
39,5°C/6h	44,21a	155,63a	112,49a	109,28a	0,971	0,83ab
39,5°C/12h	44,14a	159,35a	116,22a	115,95a	0,998	0,83ab
40,5°C/6h	45,42a	156,50a	113,36a	111,59a	0,985	0,00b
40,5°C/12h	43,07b	132,27b	88,77b	92,23b	1,031	4,32a
Valor de P	0,034	<0,001	< 0,001	0,005	0,4516	0,046
SEM	0,797	2,977	2,765	4,415	0,031	0,981

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

O peso médio, ganho de peso e o consumo de ração das aves aos 14 dias foram menores no grupo de 40,5° C/12h em relação às aves dos demais grupos estudados (P<0,05). Não houve efeito da termomanipulação sobre a conversão alimentar e a mortalidade das aves aos 14 dias (P>0,05) (Tabela 5).

Tabela 5 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o desempenho dos frangos de corte de 1 a 14 dias

Tratamentos	Peso Médio (g)	Ganho de Peso	Consumo de Ração	Conversão Alimentar	Mortalidade 7-14 dias
	(8)	(g)	(g)	(g:g)	(%)
37,5°C	462,37a	419,24a	475,38a	1,13	0,00
39,5°C/6h	465,07a	421,94a	459,06a	1,17	0,00

39,5°C/12h	452,00a	408,87a	479,06a	1,17	0,83
40,5°C/6h	458,16a	415,03a	472,16a	1,13	0,00
40,5°C/12h	384,33b	340,83b	397,07b	1,22	0,00
Valor de P	<0,001	<0,001	<0,001	0,158	0,451
SEM	10,404	10,125	12,014	0,027	0,398

Peso médio, ganho de peso e conversão alimentar foram piores para as aves provenientes do tratamento de 40,5°C/12h aos 21 dias (P<0,05) em relação às aves dos demais grupos estudados. Porém, quanto ao consumo de ração, foi semelhante ao tratamento 40,5°C/6h e diferente dos demais (P<0,05). Não houve efeito dos protocolos de incubação para mortalidade das aves aos 14 dias (P>0,05) (Tabela 6).

Tabela 6 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o desempenho dos frangos de corte de 1 a 21 dias

Tratamentos	Peso Médio (g)	Ganho de Peso (g)	Consumo de Ração (g)	Conversão Alimentar (g:g)	Mortalidade 14- 21 dias (%)
37,5°C	974,60a	931,47a	1114,79a	1,19b	0,00
39,5°C/6h	983,15a	940,02a	1155,82a	1,22b	1,66
39,5°C/12h	947,71a	904,57a	1108,84a	1,22b	0,00
40,5°C/6h	947,83a	904,70a	1095,16ab	1,21b	0,00
40,5°C/12h	803,02b	760,22b	1005,35b	1,32a	2,87
Valor de P	<0,001	< 0,001	0,002	<0,001	0,083
SEM	14,463	14,329	21,778	0,015	0,854

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

O peso médio e ganho de peso das aves do tratamento 40,5°C/12h foi menor em relação às aves dos tratamentos de 37,5°C, 39,5°C/6h e 40,5°C/6h aos 28 dias de idade dos frangos (P<0,05). O consumo de ração das aves não apresentou efeito (P>0,05). A conversão alimentar foi pior nas aves do tratamento de 40,5°C/12h (P<0,05) em relação às aves dos demais grupos estudados. A mortalidade dos frangos foi maior no tratamento controle de 37,5°C em relação aos demais tratamentos (P<0,05; Tabela 7).

Tabela 7 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o desempenho dos frangos de corte de 1 a 28 dias

Tratamentos	Peso Médio (g)	Ganho de Peso (g)	Consumo de Ração (g)	Conversão Alimentar (g:g)	Mortalidade 21-28 dias (%)
37,5°C	1618,59a	1575,46a	2120,33	1,34b	10,67a
39,5°C/6h	1641,29a	1598,15a	2171,48	1,35b	3,55b

39,5°C/12h	1557,47ab	1514,34ab	2037,04	1,34b	2,73b
40,5°C/6h	1586,20a	1543,07a	2055,50	1,33b	4,38b
40,5°C/12h	1468,74b	1425,24b	2092,67	1,47a	3,35b
Valor de P	<0,001	<0,001	0,117	0,033	0,039
SEM	24,239	23,966	38,987	0,032	2,244

O peso médio das aves provenientes do grupo 39,5°C/6h foi maior em relação às aves dos demais tratamentos (P<0,05). Este indicador foi menor nas aves do tratamento de 40,5°C/12h (P<0,05), porém não diferenciou dos tratamentos de 39,5°C/12h e 40,5°C/6h (P>0,05). Para a variável de ganho de peso das aves dos tratamentos 37,5°C e 39,5°C/6h, estes foram maiores e semelhantes entre si e os demais foram menores, sendo o tratamento 39,5°C/12h, 40,5°C/6h e 40,5°C/12h semelhantes entre si (P>0,05). O ganho de peso foi menor no tratamento 40,5°C/12h em relação aos tratamentos controle e 39,5°C/6h (P<0,05). O consumo de ração das aves não foi influenciado pelos tratamentos no período total (P>0,05). Na conversão alimentar, as aves do tratamento de 40,5°C/12h obtiveram o pior resultado e o tratamento de 39,5°C/6h foi o melhor (P<0,05). Não houve registro de mortalidades na última semana (Tabela 8).

Tabela 8 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o desempenho dos frangos de corte de 1 a 35 dias

Tratamentos	Peso Médio	Ganho de	Consumo	Conversão	Mortalidade
	(g)	Peso	de Ração	Alimentar	28-35 dias
		(g)	(g)	(g:g)	(%)
37,5°C	2370,08b	2246,92a	3222,13	1,43b	0,00
39,5°C/6h	2423,01a	2379,87a	3287,68	1,32c	0,00
39,5°C/12h	2171,10bc	2127,96bc	3073,86	1,43b	0,00
40,5°C/6h	2292,40bc	2179,27bc	3158,88	1,44b	0,00
40,5°C/12h	2105,94c	2062,44c	3154,46	1,53a	0,00
Valor de P	<0,001	<0,001	0,170	<0,001	-
SEM	32,316	32,089	62,772	0,015	-

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

As temperaturas cloacais dos frangos de corte oriundos dos diferentes protocolos de TM mensuradas nos dias 1, 7, 14, 21 e 31 durante o período sem estresse térmico não evidenciaram efeito dos tratamentos (P>0,05; Tabela 9).

Tabela 9 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre
a temperatura cloacal nos dias 1, 7, 14, 21 e 31 de criação

Tratamentos	Temperatura	Temperatura	Temperatura	Temperatura	Temperatura
	Cloacal 1 dia	Cloacal 7	Cloacal 14	Cloacal 21	Cloacal 31
	(°C)	dias	dias	dias	dias
		(°C)	(°C)	(°C)	(°C)
37,5°C	39,86	40,51	40,81	40,52	40,41
39,5°C/6h	39,92	40,65	40,61	40,37	40,25
39,5°C/12h	39,82	40,37	40,71	40,25	40,29
40,5°C/6h	39,75	40,72	40,68	40,37	40,26
40,5°C/12h	39,59	40,73	40,66	40,29	40,12
Valor de P	0,253	0,078	0,348	0,644	0,434
SEM	0,106	0,108	0,074	0,1343	0,104

A temperatura cloacal dos frangos mensurada aos 28 dias, durante o estresse térmico foi menor no grupo 40,5°C/12h em comparação ao grupo 40,5°C/6h (P<0,05) sendo que os outros tratamentos não diferiram entre si (P>0,05).

A temperatura cloacal foi maior no tratamento controle 37,5°C aos 31 dias em comparação aos demais tratamentos (P<0,05). E, este parâmetro foi semelhante entre as aves oriundas do tratamento 39,5°C/12h e as do grupo de 40,5°C/12h (P<0,05) e menor que os tratamentos 39,5°C/12h e 40,5°C/6h. Não houve influência entre os tratamentos para temperatura cloacal aos 35 dias, mensurada durante o estresse térmico das aves (P>0,05) (Tabela 10).

Tabela 10 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre a temperatura cloacal no dia 28, 31 e 35 de criação, sob efeito do estresse térmico 32°C (± 1°C)

Tratamentos	Temperatura Cloacal	Temperatura Cloacal	Temperatura Cloacal
	28 dias	31 dias	35 dias
	(°C)	(°C)	(°C)
37,5°C	42,44ab	42,95a	42,13
39,5°C/6h	42,37ab	41,00c	41,96
39,5°C/12h	42,41ab	41,57b	42,27
40,5°C/6h	42,54a	41,51b	42,25
40,5°C/12h	42,17b	41,09bc	41,92
Valor de P	0,048	0,035	0,104
SEM	0,085	0,114	0,115

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

Imagens das aves sob mapeamento térmico foram registradas e estão dispostas abaixo (Figura 13). Pode-se observar que com o mapeamento de dissipação de calor, nos dias 27, 31 e 34, foi possível denotar regiões de maior intensidade térmica, sendo elas: cabeça (gnatoteca, arco jugal e mandíbula), região cervical, parede ventral do esôfago e inglúvio. Regiões aptérias, como pés e contorno da asa também demonstraram maior capacidade para dissipar calor.

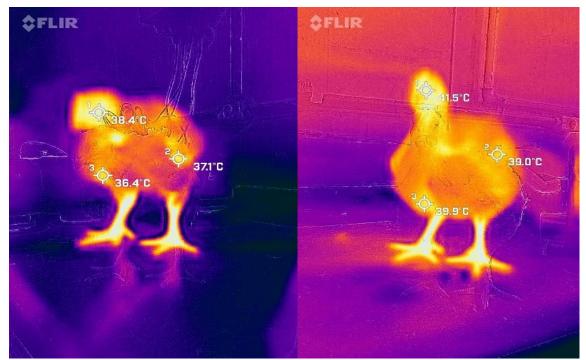


Figura 4 - Termografia realizada duas horas antes do estresse térmico ($25^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$) e 4 horas após o início do estresse térmico ($32^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$, por 8 horas), em aves do tratamento E

As taxas de hematócrito mensuradas não diferiram entre os tratamentos (P>0,05) (Tabela 11).

Tabela 11 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o hematócrito

	Hematócrito aos 21dias (%)	Hematócrito aos 35 dias
37,5°C	30,00	25,50
39,5°C/6h	29,33	27,66
39,5°C/12h	28,16	25,00
40,5°C/6h	26,40	26,66
40,5°C/12h	30,20	26,50
Valor de P	0,597	0,481
SEM	1,801	1,224

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

No peso das aves vivas selecionadas para rendimento de cortes não houve diferença entre os tratamentos (P>0,05). Quanto ao peso de coxas o tratamento 39,5°C/6h resultou em maior peso em comparação aos cortes das aves do tratamento 40,5°C/12h (P<0,05). Demais tratamentos apresentaram valores intermediários (P>0,05). O peso de peito e o peso de sobrecoxas não variaram em função dos tratamentos (P>0,05) (Tabela 12).

Tabela 12 - Efeito da termomanipulação de 7 a 16 dias de desenvolvimento embrionário sobre o rendimento de cortes (35 dias de criação)

	Peso Vivo Aves	Peso Peito (g)	Peso Coxas (g)	Peso Sobrecoxas (g)
	(Kg)			
37,5°C	2,305a	499,59	210,48ab	230,52
39,5°C/6h	2,328a	499,46	221,97a	226,02
39,5°C/12h	2,179a	447,99	208,98ab	217,79
40,5°C/6h	2,231a	460,70	204,86ab	226,40
40,5°C/12h	2,167a	475,30	189,69b	206,06
Valor de P	0,023	0,099	0,003	0,195
SEM	0,042	16,826	5,483	7,645

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença (Tukey 5%); SEM: erro padrão da média

5. DISCUSSÃO

O presente estudo é um dos poucos que se dedicou a avaliar altas temperaturas durante a incubação e seu efeito sobre os indicadores de eclosão, desempenho pós-eclosão, parâmetros fisiológicos e rendimento de cortes. Por meio dos resultados encontrados é possível destacar que os tratamentos de TM possivelmente induziram o condicionamento térmico e assim reduziram a mortalidade de aves em estresse térmico. Além disso, também foi possível observar que o protocolo de 40,5°C/6h, não diferiu do controle em eclodibilidade, escore de qualidade física e absorção do saco da gema, além disso, apresentou possível condicionamento térmico em relação ao 37,5°C. Tais resultados reforçam a importância de se utilizar protocolos de termomanipulação a campo e também sinalizam sobre a necessidade de se realizar mais experimentos com protocolos de altas temperaturas futuramente.

Ao aumentar o tempo de exposição dos tratamentos de altas temperaturas, observou-se piora na eclosão dos pintos mas manutenção da termotolerância, indicando que o tratamento 40,5°C/6h apresenta maiores benefícios que o 40,5°C/12h.

O mecanismo exato para explicar este fenômeno ainda não está completamente elucidado, mas pode-se inferir que protocolos mais longos acarretem uma redução do desenvolvimento do tecido muscular responsável pela bicagem (*musculus complexus*), dificultando a saída do embrião e aumentando a retenção e o número de mortalidades embrionárias tardias (Piestun et al., 2009). Uma outra possível resposta para este resultado é o fato de os protocolos experimentais incluírem um período crítico de desenvolvimento embrionário do 13 ao 17DE, que ao receber TM gera altos picos de corticosterona e um maior estresse nos embriões (Moraes et al., 2004). A associação do efeito sobre o *musculus complexus* e o aumento do estresse fetal, podem ser responsáveis por reduzir a oxigenação do embrião (Willemsen et al., 2010), que acarretam redução da absorção do saco da gema e assim diminuem as taxas de eclosão neste tipo de protocolo com altas temperaturas e tempos de exposição maiores que 12 horas.

Estas reduções importantes no metabolismo dos lipídios e dos hidratos de carbono, assim como uma redução da capacidade de acumular glicogênio no figado, desaceleram o desenvolvimento do embrião e assim também explicariam um maior atraso no processo de eclosão, causada pela temperatura de incubação com 3°C acima e maior tempo de exposição (Tzschentke, 2007; Willemsen et al., 2010).

Na literatura, o aumento da taxa de mortalidade embrionária e a redução da eclodibilidade tem sido associada às altas temperaturas, ao maior tempo de exposição e ao maior período de duração da termomanipulação (Narinç et al., 2016a; Tainika, 2022). Porém, com a redução do tempo de exposição, o benefício das altas temperaturas (condicionamento térmico) é mantido sem que haja efeito na eclodibilidade. Esses resultados estão de acordo com Vinoth et al. (2015), que estudaram um protocolo de TM de 40,5°C por 3 horas do 15 ao 17DE e obtiveram aquisição de termotolerância e não observaram efeitos deletérios sobre a eclodibilidade nas aves TM.

Ainda sobre a eclodibilidade, apesar do tratamento de 40,5°C/12h desta pesquisa apresentar redução, esta até então não era uma unanimidade na literatura. É consolidado que temperaturas mais altas, igual ou acima de 40°C, de maneira constante, acarretem piora de eclosão. Porém, dois experimentos até o momento convergiam sobre o período máximo de efeito sobre a eclosão, o primeiro de Al-Rukibat et al. (2017), que utilizaram 38,5°C (controle) e 40°C (tratamento), por 6, 9 e 12 horas nos 16, 17 e 18DE, respectivamente, e não encontraram diferença entre os parâmetros de eclodibilidade e o segundo de Al-Zghoul e El-Bahr (2019) que utilizaram 37,8°C e 40°C, por 18 horas, do 12 ao 18DE e encontraram redução do número de pintos nascidos. Por meio desses resultados, pode-se inferir que

somente protocolos acima de 12 horas alteram a taxa de eclosão, porém, esta pesquisa diverge do apresentado pela literatura até então e agrega um novo ponto de discussão, indicando que tempos de 12 horas já seriam suficientes para afetar este parâmetro negativamente.

Em relação às temperaturas mais baixas (39,5°C) não houve diferença em relação ao controle, independente do tempo de exposição. Quanto a este fato, sabe-se que até 2°C acima do padrão (37,5°C), estas temperaturas têm se demonstrado com potencial para melhoria de eclodibilidade, como elucidado por Al-Zghoul et al. (2016) que utilizaram 39°C por 9, 12 e 18 horas, do 12 ao 18DE e encontraram melhora dos tratamentos em relação ao controle, mas não entre os tratamentos TM entre si. Este resultado diverge do encontrado na pesquisa e pode ser explicado pela diferença do período utilizado, uma vez que Al-Zghoul et al. priorizaram um período mais tardio, que possui efeito benéfico sobre eclosão (Narinç et al., 2016b). O resultado destes pesquisadores também é um indício de que em temperaturas mais baixas, o efeito do tempo de exposição não é tão intenso quanto em temperaturas mais altas.

Nos três momentos de pesagem inicial (expedição, alojamento e após 3 dias), o comportamento para este parâmetro foi muito similar, sendo as aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h apresentando menor peso. Há a exceção do primeiro dia em que o tratamento 40,5°C/12h só diferenciou negativamente do tratamento 40,5°C/6h, mas nos outros dois momentos de pesagens iniciais a temperatura alta, com alto tempo de exposição, impôs maior influência. Este resultado é consolidado na literatura e em protocolos de maior temperatura como de 40,6°C, por 24 horas, do 16 ao 18,5DE (Willemsen et al., 2010), ou de maior tempo de exposição como o de 39°C, por 18 horas, do 7 ao 18 DE (Dalab e Ali, 2019) nos quais foi observado menor peso do pinto de 1 dia.

A principal explicação para estas repercussões reside na identificação de valores, em fase inicial de criação, de redução em excesso de T3 e T4 de aves com termomanipulações mais altas (> ou = 40°C) e por estes hormônios serem responsáveis pelo metabolismo do tecido muscular, por aumentar a pressão sanguínea e aumentar a frequência e força de contração do coração obtêm-se resultados piores de crescimento neste período (Willemsen et al., 2010; Almeida et al., 2016; Morita et al., 2016).

Os pintos oriundos do tratamento $40,5^{\circ}$ C/12h apresentaram menor absorção de saco da gema. Este desenvolvimento mais lento do grupo de alta temperatura é apoiado pelo P_{O2} mais alto e pelo P_{CO2} mais baixo nas células de ar e no sangue, encontrados por Willemsen et al. (2010), o que indica um metabolismo significativamente reduzido do grupo de alta temperatura e que foi verificado, com níveis inferiores de T3 e T4, por McNabb e Darras (2015) em seu experimento com protocolos mais altos (>40°C).

Willemsen et al. (2010) também realizaram análise da absorção do saco gema e observaram menor peso de pinto livre e maior peso de saco da gema para animais que passaram por TM's altas, o que corrobora com os achados encontrados.

Ainda sobre o peso inicial e a absorção do saco da gema, os tratamentos 39,5°C/6h, 39,5°C/12h não diferiram do controle. Yalçin et al. (2008), com uso de aves da linhagem Ross[®], por meio do protocolo de 38,5°C, por 6 horas, do 10 ao 18DE, demonstraram maior peso inicial em relação ao controle e menor peso do saco da gema, dados que divergem do encontrado. O esperado era que quanto maior a intensidade da TM, maior fosse o peso inicial e a absorção, uma vez que o embrião teria metabolismo mais acelerado com maior potencial de aproveitamento das lipoproteínas da gema (Tainika, 2022). Contudo, o observado foi que estes dois tratamentos, possivelmente pelo período diferente de exposição, e uso diferente dos equipamentos de incubatório, não obtiveram influência positiva no desenvolvimento inicial.

Uma outra importante evidência de que os fatores de incubação e os equipamentos durante a incubação podem alterar os parâmetros iniciais é de que Zaboli et al. (2017), ao utilizarem aves Ross 308, com 39,5°C/12 horas, do 7 ao 16DE, encontraram menor peso inicial. O mesmo protocolo realizado neste experimento 39,5°C/12h não demonstrou diferença para o controle reforçando o potencial dos outros fatores envolvidos na TM.

Verificou-se que apenas o tratamento 40,5°C/12h apresentou pior escore de qualidade física e este dado vai de encontro com o exposto por Leksrisompong et al. (2007), que ao utilizarem 40°C, de forma contínua, do 19 ao 20DE, encontraram aves com coloração mais esbranquiçada, pior qualidade de penas, sangue excessivo dentro da casca do ovo, sangue na penugem e nas penas, penas curtas, jarretes vermelhos, umbigos não cicatrizados, restos exteriorizados do saco vitelino (botões pretos), bicos cruzados, vísceras, fraqueza, marcha instável, falta de alerta, penugem emaranhada e áspera, batida para baixo e uma aparência geral anormal.

Além de todos estes sinais de escore de qualidade física ruins, a coloração branca das penas, foi algo observado no tratamento 40,5°C/12h, e é mais uma evidência de má absorção do saco da gema por protocolos iguais ou superiores à 40°C (Leksrisompong et al., 2007). A demanda por maior oxigênio, causada pela alta temperatura e maior tempo de exposição pode ocasionar uma taxa de crescimento inferior (Sozcu e Ipek, 2013). As repercussões deste efeito no tratamento 40,5°C/12h foram vastas e incluem redução da eclodibilidade, redução do peso do pinto, redução da absorção da gema com 1 e 3 dias e pior escore de qualidade física. Porém, os resultados demonstram que o tratamento 40,5°C/6h, com menor período de

exposição pode ser uma alternativa para o uso de protocolos de altas temperaturas, uma vez que com 6 horas não foram observados estes déficits em relação ao controle.

O peso relativo de saco de gema com 3 dias foi menor no protocolo de 39,5°C/6h, enquanto o de 40,5°C/12h obteve maior peso relativo de saco de gema, no mesmo momento. Isto é um sinal de que o protocolo de alta temperatura e tempo de exposição (Willemsen et al., 2010), devido a sua redução metabólica (Sozcu e Ipek, 2013), não foi capaz de produzir aves com boa absorção da gema, mesmo após alguns dias de nascimento.

A redução do peso relativo do saco da gema no protocolo 39,5°C/6h diverge de Barri et al. (2011), que fizeram uso de aves da linhagem Ross[®], com 39,6°C/24h do 13 ao 21 DE e não encontraram diferença em relação ao controle (37,4°C) para absorção do saco da gema nos dias 0, 2 e 4 pós-eclosão. Apesar deste protocolo apresentar temperatura e linhagem parecidas com o do experimento realizado, o período de exposição é maior, e pode ter sido decisivo para o resultado diferente do encontrado por esta pesquisa. Uma vez que com maior tempo de exposição do embrião ao calor, este pode ter efeitos deletérios no desenvolvimento embrionário (Sozcu e Ipek, 2013). O mecanismo exato da ocorrência deste efeito ainda não está elucidado e exige mais estudos.

Contudo, para a incubação industrial o protocolo de 39,5°C, por 6 horas, demonstra vantagem de desempenho e qualidade de carne em relação a outros protocolos já testados (Meteyake et al., 2020). Em vista do fato que maior absorção de gema é um indicador de melhor desempenho do lote (Şahan et al., 2014), esta pesquisa demonstra mais uma possível evidência para explicar por que este fenômeno ocorre, já que com uma maior absorção de saco vitelínico deste protocolo no período inicial pós-eclosão, há maior disponibilidade de energia e nutrientes para maior desenvolvimento muscular e, portanto, melhor qualidade de carne e conversão alimentar.

Quanto ao desempenho, nas três primeiras semanas o comportamento dos dados foi muito similar entre si e o tratamento 40,5°C/12h refletiu o que o seu pior escore de qualidade de pinto e seu pior peso inicial já indicavam, obtendo assim, o pior consumo de ração (CR), pior peso médio (PM) e pior ganho de peso médio (GPM) em quase todos os momentos. Apenas na terceira semana, as aves provenientes do tratamento 40,5°C/12h, obtiveram valores para consumo de ração similares às aves do tratamento 40,5°C/6h, porém, para os outros dois indicadores (PM, GPM), o tratamento 40,5°C/12h foi abaixo dos demais e perpetuou o que já estava ocorrendo nas outras semanas.

Em relação especificamente ao peso médio, Al-Zghoul e El-Bahr (2019b), que realizaram um experimento similar, com temperaturas de 37,8°C (controle) e 38,5°C, 39°C,

39,5°C e 40°C /18 horas, do 12 ao 18 DE, encontraram maiores pesos aos 7 dias para as aves TM com 39,5°C e 40°C, já quanto ao peso com 14 dias, todas as aves TM demonstraram superioridade em relação ao controle e com 21 dias, o tratamento de 40°C se igualou ao controle e ambos foram inferiores aos demais. Este comportamento apresenta semelhanças com o encontrado nesta experimentação, uma vez que os tratamentos mais agressivos de ambos os experimentos obtiveram índices ruins, a diferença reside no fato de que o tratamento 40,5°C/12h desta pesquisa apresentou constância e se demonstrou como pior desde o início. Outra diferença é que o experimento de Al-Zghoul obteve melhores pesos para tratamentos com temperaturas intermediárias (39°C e 39,5°C) durante a segunda e a terceira semana de criação, o que não foi correspondido pelos dados apresentados acima.

O peso nas três primeiras semanas não diferiu para os tratamentos 37,5°C, 39,5°C/6h, 39,5°C/12h e 40,5°C/6h e a justificativa está possivelmente na redução do período de exposição e redução da estimulação à diferenciação de mioblastos (Piestun et al., 2009). Os diferentes períodos, 12 a 18 DE, utilizados por Al-Zghoul e 7 a 16 DE, utilizados por esta experimentação atingem momentos diferentes de expressão gênica para multiplicação de mioblastos no desenvolvimento embrionário. A primeira onda de proliferação ocorre do 3 ao 7 DE, porém este período inicial já foi relatado como impactante negativamente para eclodibilidade e é pouco explorado (Sozcu e Ipek, 2013), a segunda onda do 8 ao 12 DE, foi aproveitada por este trabalho por um maior período (protocolos de 7-16) do que no experimento de Al-Zghoul (protocolos de 12-18), porém com menor tempo de exposição (6 e 12 horas) e Al-Zghoul (18 horas). Portanto, estes resultados sugerem mais uma vez que o mecanismo da termomanipulação está diretamente associado com o tempo de exposição dos embriões ao calor, aumentando assim a indução à expressão de genes responsáveis pelo aumento do diâmetro das fibras musculares, e impactando no desempenho.

O peso nas três primeiras semanas não ter diferido entre os tratamentos de temperatura intermediária também pode ser explicados pelo detalhamento da via molecular de proliferação muscular. Al-Zghoul et al., (2016) utilizaram 39°C, por 9 e 12 horas, do 12 ao 18 DE e não encontraram diferença entre peso para 7, 14 e 21 dias, mas encontraram maior peso final para aves TM's. Ainda, observaram aumento de Myod, GH e Miogenina durante todo o período de criação, à medida que progredia com o tempo de exposição dos tratamentos. Dessa forma, estes dados indicam que o aumento da expressão de genes relacionados a proliferação de mioblastos e diferenciação de células satélites (Myod, GH e Miogenina) não impacta nas primeiras semanas, mas aumenta o peso final. E isto é finalmente corroborado pelo tratamento

39,5°C/6h desta pesquisa, que apesar de não obter inicialmente maior peso inicial, obteve maior peso final, devido à epigenética criada.

O peso do tratamento 40,5°C/12h ter sido menor durante todas as três primeiras semanas em relação à todos os outros tratamentos; menor que os tratamentos 37,5°C, 39,5°C/6h e 40,5°C/6h na quarta semana; e menor que os tratamentos 37,5°C e 39,5°C/6h na quinta semana, demonstra um baixo desempenho deste grupo, mas com melhora progressiva, uma vez que se igualou a mais tratamentos a medida que as semanas passavam.

Este fenômeno provavelmente ocorreu pelo maior efeito de condicionamento térmico das altas temperaturas (Molenaar et al., 2010). Molenaar et al. (2011) que utilizaram temperaturas de 38,9°C/24 horas, 7 ao 21 DE, e encontraram redução de peso médio em relação ao controle (37,8°C) em todas as semanas de criação. Em vista disso, é possível observar que aves que passaram pela combinação de alta temperatura e tempo de exposição intermediário (40,5°C/12 horas) ou aves com menor temperatura e maior tempo de exposição (38,9°C/24 horas) apresentam em comum menor peso, mesmo sob estresse térmico. Mais uma evidência de que tempos de exposição altos podem acarretar em redução de peso no desenvolvimento embrionário, possivelmente por menor absorção do saco da gema e redução do metabolismo inicial (Sozcu and Ipek, 2013).

O peso final das aves do tratamento de 39,5°C/12h desta pesquisa se igualou ao controle. Estes resultados divergem de Zaboli et al. (2017) e Meteyake et al. (2023a) que utilizaram 39,5°C, por 12 horas, do 7 ao 16DE e encontraram maior peso final em relação ao controle (37,8°C). Meteyake et al. (2023) ainda fizeram a comparação deste protocolo com o de 39,5°C, por 6 horas, do 7 ao 16DE e o protocolo com maior exposição continuou sendo superior.

Porém, deve-se levar em consideração que Zaboli et al. (2017) e Meteyake et al. (2023a) não fizeram uso de estresse térmico contínuo pós eclosão, fator que pode ter influenciado os resultados do experimento evidenciado que o peso de aves que foram igualmente condicionadas para o calor, mas que passaram por menor estresse embrionário (menor tempo de exposição) e acabaram por ter maior capacidade antioxidante (Al-Zghoul et al., 2019). De maneira geral, sabe-se que as aves incubadas a uma temperatura elevada e que experimentam temperaturas relativamente altas durante o período de crescimento podem ter uma melhor capacidade de lidar com essas temperaturas e são mais capazes de manter o crescimento em comparação com aves incubadas a uma temperatura de incubação normal (Yalçin et al., 2010).

Entretanto estes dados não são consenso, já que em estudos com temperaturas intermediárias (<40°C) foi demonstrado que o peso corporal final foi menor em aves incubadas com TM (38,9 a 39,5°C) em comparação com TM normal (37,8°C) (Lourens et al., 2005; Leksrisompong et al., 2009). Estes dados divergem dos encontrados por esta pesquisa e a principal explicação para este fenômeno pode ter sido a ausência de estresse na criação, como dito, ou em função das diferenças entre os protocolos, linhagem comercial dos frangos, tipos de incubadoras, formas de criação das aves e o potencial de cada um em gerar crescimento e desenvolvimento muscular apropriado.

O consumo de ração e a conversão alimentar até a terceira semana pioraram para o tratamento 40,5°C/12h, com uma pequena diferença do consumo deste na terceira semana, que se igualou ao tratamento 40,5°C/6h. Estes resultados podem ser explicados pelo aumento de corticosterona plasmático em relação à protocolos mais brandos, assim gera a hipótese de que um possível estresse embrionário aumentado desencadearia um estresse pós eclosão e dificultaria a recuperação em desempenho. Estas afirmações são embasadas no experimento de Piestun et al. (2008b) que utilizaram 39,5°C, por 24 horas, do 7 ao 16DE, e observaram aumento de corticosterona plasmático em comparação com protocolos mais brandos (39°C, por 12 horas, do 7 ao 16DE), Outros dados que corroboram com os achados são os de Amjadian e Hossein Shahir (2020) que fizeram uso de 39,5°C, por 3 horas, do 11 ao 16DE, e com 22 dias de criação e induziram estresse térmico de 37°C, por 5 horas e não encontraram diferença entre os tratamentos para o desempenho, mesmo após início do estresse térmico.

Quanto ao período do início do experimento até o final do estresse térmico, não houve modificação do consumo entre os tratamentos, porém a conversão alimentar piorou para o tratamento 40,5°C/12h até a quarta e até a quinta semana e demonstrou melhora para o tratamento 39,5°C/6h até a última semana. Esta ausência de diferença entre o consumo de ração das aves provenientes dos tratamentos 37,5°C, 39,5°C/6h, 39,5°C/12h e 40,5°C/6h para a quarta semana e 37,5°C, 39,5°C/12h e 40,5°C/6h para a quinta semana, já foi observada por Piestun et al. (2011), que ao utilizarem 39,5°C, por 12 horas, do 7 ao 16DE e estressarem as aves com calor do 21 ao 35 dia de criação com 32°C por 12 horas não observaram diferença entre consumo. Apesar de Piestun et al (2020) e Amjadian e Shahir (2020) não encontrarem diferença para consumo de ração em estresse térmico como os resultados desta pesquisa apontam, também não houve diferença para conversão alimentar, divergindo dos resultados encontrados pelo experimento desta dissertação.

A conversão alimentar, fruto do aproveitamento de nutrientes, é muito impactada pelo estresse por calor. Este fenômeno pode ser explicado por menores níveis de T3 e T4, comuns

na TM (Al-Rukibat et al., 2017a), sinalizando redução metabólica devido a aquisição de termotolerância, o que acarreta em melhor aproveitamento dos nutrientes (Al-Rukibat et al., 2017a). Assim, entende-se a melhor conversão alimentar do tratamento 39,5°C/6h.

A mortalidade do tratamento de 40,5°C/12h da primeira semana é um resultado para os indicadores ruins que este já apresentava logo após a incubação, haja vista que, há respaldo na literatura para que pintos com pior peso e escore de qualidade apresentem maior contaminação microbiológica e, portanto, maior mortalidade inicial (Muhammad et al., 2010). Na primeira semana de aplicação do estresse por calor houve potencial redução de mortalidade em aves TM's, diferindo do tratamento 37,5°C. Este indicador é uma possível sinalização de que houve aquisição de termotolerância por longa duração, mesmo em protocolos com temperaturas intermediárias e menor tempo de exposição como o 39,5°C/6h, e é mais um fator para refutar a possível hipótese de (Piestun et al., 2009), de que a termomanipulação não causa aquisição de termotolerância por períodos maiores de 21 dias.

Ainda, as reduções das taxas de mortalidade, observadas no 28 dia de criação não se mostram como consenso em relação aos experimentos da literatura. Collin et al. (2007), ao utilizarem 39,5°C, por 3 horas, do 8 ao 18DE, e gerar estresse térmico de 35°C, por 6 horas, no 42 dia pós eclosão, encontraram aumento de temperatura cloacal e aumento de mortalidade em todas as aves TM's, o que contradiz a aquisição de termotolerância esperada e já relatada por Zaboli et al. (2017), que utilizaram 39,5°C, por 12 horas, do 7 ao 16 DE e encontraram redução de mortalidade nas aves TM ao expô-las à 36°C e 38°C, no 3 e 5 dia de criação, respectivamente. A redução de mortalidade em aves TM's desta pesquisa corrobora com os dados de outros pesquisadores como Saleh et al. (2020) e pela aquisição de condicionamento térmico demonstram maior consistência em relação aos dados de Collin et al. (2007).

O condicionamento térmico é um dos fatores que podem resultar em melhor desempenho após o início do estresse térmico na criação. Para sua avaliação, foi escolhida a temperatura cloacal, que é uma medida de possível sugestão de aquisição de termotolerância (Al-Rukibat et al., 2017a). Nos períodos anteriores ao estresse térmico, não foi observada diferença entre os tratamentos (P>0,05). Este resultado, diverge de Al-Zghoul et al. (2015), que para o protocolo de 39°C, por 9, 12 e 18 horas, do 12 ao 18 ED, encontraram temperaturas mais baixas para o seu protocolo de maior exposição (18 horas) em relação aos outros protocolos de termomanipulação, em análises dos dias 1, 7, 14.

Como já observado para outros parâmetros, maior tempo de exposição para protocolos de temperatura intermediária (39°C) parecem induzir efeito positivo no desempenho e no condicionamento térmico e podem explicar a ausência de diferença entre os tratamentos

37,5°C, 39,5°C/6h, 39,5°C/12h, 40,5°C/6h e 40,5°C/12h desta pesquisa antes do estresse térmico, uma vez que para os protocolos intermediários (39,5°C) utilizou-se tempo de exposição menor (6 e 12 horas). Estes resultados convergem com Collin et al. (2007) que ao utilizar 39°C, por 3 horas, do 8 ao 18DE que encontraram valores para temperatura corporal no 25 dia de criação similares ao controle. No 21 dia de criação Al-Zghoul et al. (2015) encontraram o mesmo resultado que os tratamentos deste experimento e Collin et al. (2007), sem diferença entre as termomanipulações e o controle. De maneira geral, são explicados pelos autores da literatura como perda de potencial de condicionamento térmico.

Contudo, não se observou diferença entre os tratamentos e o controle no período anterior aos 21 dias, mas observou-se após o início do estresse térmico, o que sugere que os protocolos de TM deste e dos outros experimentos não tenham tido intensidade o suficiente para induzir condicionamento térmico (Tarkhan et al., 2020). Entretanto foram suficientes para gerar condicionamento térmico após os 21 dias, como observado no 31º dia de criação no qual todas as aves TM's apresentaram redução de temperatura corporal central em relação ao grupo controle.

No 35º dia de criação com o efeito do estresse térmico não houve diferença entre os tratamentos para temperatura cloacal, uma possível resposta para este efeito seria a aclimatação, que altera a resposta do limiar termorregulador para produção e dissipação de calor, e leva ao aumento na capacidade do organismo de sobreviver e funcionar continuamente sob situações de estresse térmico (Horowitz, 2002). Assim, já aclimatados, com alta produção de fatores endógenos de proteção tecidual, mesmo os animais sem TM demonstraram capacidade de adaptação. Importante ressaltar, que estes resultados não contradizem os relatos de efeito duradouro da aquisição de condicionamento térmico por meio da TM, pois há o efeito de um segundo fator (aclimatação) (Piestun et al., 2015b).

O hematócrito das aves não foi influenciado pelos tratamentos (P>0,05). Sabe-se que o hematócrio pode ser reduzido pelo estresse térmico, acarretando menor difusão de oxigênio para tecidos periféricos (Kubena, 1971). Sgavioli et al. (2016), ao realizarem incubação contínua com 39°C, observaram valores semelhantes entre controle (37,8°C) e TM. Estes resultados corroboram com o observado por esta pesquisa e por outros pesquisadores como Al-Rukibat et al., (2017b) e Porto e Fontenele-Neto (2020) que encontraram que apesar de valores aumentados no equilíbrio ácido-base, não há efeito generalizado, e não há geração de acidose metabólica, o que poderia ser um redutor de hematócrito.

Os rendimentos de cortes não sofreram efeitos dos tratamentos para peso do peito e sobrecoxas. Contudo, para o peso das coxas o tratamento 39,5°C/6h, anteriormente citado

com maior elevação de expressão gênica para proliferação e diferenciação de mioblastos, foi superior ao tratamento 40,5°C/12h, anteriormente citado com reduzida capacidade de proliferação de mioblastos. Estes dados são confrontados por Molenaar et al. (2011) que utilizaram temperaturas de 38,9°C por 24 horas do 7 ao 21DE, e encontraram aumento de peito em aves TM's e Collin et al. (2007) que, ao utilizarem 39,5°C, por 3 horas, do 16 ao 18DE, encontraram também aumento de rendimento de peito em todas as aves TM's. Estes resultados divergem dos encontrados no presente experimento, porém em ambas as pesquisas citadas não foi realizado estresse térmico pós eclosão e este fator por ter influenciado negativamente o consumo, alterando o desenvolvimento muscular das aves experimentais.

Quanto ao aumento do peso das coxas observado pelo tratamento 39,5°C/6h, em relação ao tratamento 40,5°C/12h, Dalab e Ali (2019) realizaram protocolos de 39°C, por 18 horas, do 7 ao 11DE; 11 ao 15DE; 15 ao 18DE e 7 ao 18DE e encontraram que apenas as TM de 7 ao 11DE obteve valores absolutos de peito e coxa maiores que o controle (37,8°C), além de terem encontrado valores para IGF-1 e GH maiores nestes tecidos com 35 dias em relação aos demais tratamentos, indicando que os demais períodos poderiam gerar efeitos deletérios e que uma TM em período inicial seria mais positiva para desenvolvimento muscular. Este resultado indica uma possível razão pela qual não foram encontrados resultados positivos em todos os tratamentos de TM.

Em vista das diferentes vias que podem receber efeito da TM, os protocolos de altas temperaturas são uma possibilidade. Como comprovado por esta pesquisa, protocolos de altas temperaturas (>40°C) necessitam de pequenos períodos e tempos de exposição para demonstrarem efeitos positivos. Já os protocolos de temperaturas intermediárias (<40°C), necessitam de maiores períodos de exposição para obterem ganhos de desempenho e condicionamento térmico semelhantes (Costa et al., 2020; Tainika, 2022; Khalil et al., 2024).

Ainda, são necessárias mais pesquisas para determinar se em altas temperaturas os tempos de exposição mais curtos podem gerar efeito adicional, ou seja, mais intenso do que protocolos de temperatura intermediária com tempos de exposição mais longos. Também se faz necessário estudar os efeitos deletérios de protocolos de altas temperaturas e tempos de exposição curtos.

A principal limitação deste trabalho foi a assertividade de temperatura durante a incubação. As máquinas de incubação possuem mínimas diferenças entre si que impactam diretamente na capacidade de gerar calor entre cada uma delas. Assim, visando uma maior assertividade realizou-se aferições de temperatura cinco vezes ao dia com diferentes equipamentos. Estas aferições tinham o intuito de verificar se os protocolos estavam sendo

seguidos e reduzir o efeito das máquinas e o efeito da temperatura do meio sobre o calor gerado.

A segunda maior limitação deste trabalho foi definir os períodos que seriam utilizados para os protocolos. Ainda existem muitas lacunas sobre a expressão gênica da proliferação e desenvolvimento de mioblastos e células satélites. Na tentativa de mitigar este efeito, os protocolos foram baseados na literatura em outros artigos que exploravam a primeira e a segunda onda de desenvolvimento (Piestun et al., 2015a).

Há uma expectativa de que com o avanço do mapeamento de desenvolvimento muscular embrionário das aves seja possível criar protocolos cada vez mais assertivos, que irão afetar apenas a expressão de genes de fatores de transcrição de interesse, sem ocasionar em aumento do estresse fetal ou aumenta da expressão de genes de vias negativas.

Para o futuro do uso de protocolos de altas temperaturas, se faz necessário que as próximas termomanipulações realizem a contagem de tempo a partir da unidade de medida de horas de incubação e não de dias de incubação. O uso de dias como unidade de medida é uma limitação que causa subjetividade quanto ao momento correto dentro daquele dia de desenvolvimento embrionário que se deve aplicar a termomanipulação. A não utilização de horas como unidade para marcar o tempo da termomanipulação pode ter influenciado para que acontecessem resultados divergentes mesmo utilizando protocolos idênticos e a mesma linhagem de aves (Tainika, 2022).

A principal recomendação deste trabalho para futuras experimentações quanto ao uso de protocolos de altas temperaturas é a redução dos tempos de exposição, haja vista que o protocolo de 40,5°C/6h obteve menor mortalidade, sem afetar o desempenho e a eclodibilidade, diferente do ocorrido com o protocolo de 40,5°C/12h. Esta pesquisa evidenciou os benefícios da absorção do saco vitelínico, decorrentes da exposição dos frangos de corte a temperaturas intermediárias na incubação (39,5°C/6h), o que resultou em melhora na conversão alimentar do período total, reduzindo os custos de produção.

6. CONCLUSÃO

Protocolos de altas temperaturas necessitam de mais investigações, porém se mostraram como uma ferramenta possível para indução de condicionamento térmico sem afetar a eclosão e o desempenho. O protocolo de 39,5°C, por 6 horas, do 7° ao 16° dia de desenvolvimento embrionário deve ser indicado para obtenção de melhor conversão

alimentar, ganho de peso e rendimento de coxa, sem efeitos deletérios sobre eclodibilidade e qualidade de pinto.

REFERÊNCIAS

- Almeida, V.R., Morita, V.S., Sgavioli, S., Vicentini, T.I., Castiblanco, D.M.C., Boleli, I.C., 2016. Incubation temperature manipulation during fetal development reduces adiposity of broiler hatchlings. Poult Sci 95, 316–324. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pev327
- 2. Al-Rukibat, R.K., Al-Zghoul, M.B., Hananeh, W.M., Al-Natour, M.Q., Abu-Basha, E.A., 2017a. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler chickens. Poult Sci 96, 234–240.
- 3. Al-Rukibat, R.K., Al-Zghoul, M.B., Hananeh, W.M., Al-Natour, M.Q., Abu-Basha, E.A., 2017b. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler chickens. Poult Sci 96, 234–240. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pew298
- 4. Al-Zghoul, M.B., Al-Natour, M.Q., Dalab, A.S., Alturki, O.I., Althnaian, T., Alramadan, S.Y., Hannon, K.M., 2016. Thermal manipulation mid-term broiler chicken embryogenesis: Effect on muscle growth factors and muscle marker genes. Revista Brasileira de Ciencia Avicola / Brazilian Journal of Poultry Science 18, 607–618. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0260
- Al-Zghoul, M.-B., Dalab, A.E.S., Yahya, I.E., Althnaian, T.A., Al-ramadan, S.Y., Ali, A.M., Albokhadaim, I.F., El-Bahr, S.M., Al Busadah, K.A., Hannon, K.M., 2015. Thermal manipulation during broiler chicken embryogenesis: Effect on mRNA expressions of Hsp108, Hsp70, Hsp47 and Hsf-3 during subsequent post-hatch thermal challenge. Res Vet Sci 103, 211–217. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.10.015
- Al-Zghoul, M.B., El-Bahr, S.M., 2019a. Thermal manipulation of the broilers embryos: Expression of muscle markers genes and weights of body and internal organs during embryonic and post-hatch days. BMC Vet Res 15. https://doi.org/10.1186/s12917-019-1917-6
- 7. Al-Zghoul, M.B., El-Bahr, S.M., 2019b. Thermal manipulation of the broilers embryos: Expression of muscle markers genes and weights of body and internal

- organs during embryonic and post-hatch days. BMC Vet Res 15. https://doi.org/10.1186/s12917-019-1917-6
- 8. Al-Zghoul, M.B., Sukker, H., Ababneh, M.M., 2019. Effect of thermal manipulation of broilers embryos on the response to heat-induced oxidative stress. Poult Sci 98, 991–1001. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pey379
- 9. Amjadian, T., Hossein Shahir, M., 2020. Effects of repeated thermal manipulation of broiler embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance. https://doi.org/10.1007/s00484-020-02012-w/Published
- Barri, A., Honaker, C.F., Sottosanti, J.R., Hulet, R.M., McElroy, A.P., 2011. Effect of incubation temperature on nutrient transporters and small intestine morphology of broiler chickens. Poult Sci 90, 118–125. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00908
- 11. Collin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Requena Rodó, F.E., Skiba-Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M.J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggeman, V., Decuypere, E., Picard, M., Yahav, S., n.d. ENVIRONMENT, WELL-BEING, AND BEHAVIOR Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens.
- 12. Collin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Rodón, F.E.R., Skiba-Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M.J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggeman, V., Decuypere, E., Picard, M., Yahav, S., 2007. Effects of Thermal Manipulation During Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Muscle Characteristics in Broiler Chickens. Poult Sci 86, 795–800. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/86.5.795
- Costa, B.T.A., Lopes, T.S.B., Mesquita, M.A., Araújo, I.C.S., 2020. Thermal manipulations of birds during embryogenesis. Worlds Poult Sci J. https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1823302
- 14. Dalab, A.S., Ali, A.M., 2019. Morphological Investigations of the Effect of Thermal Manipulation During Embryogenesis on Body Performance and Structure of Pectoral and Thigh Muscle of Ross Broiler Chicken. Brazilian Journal of Poultry Science 21.
- 15. Goel, A., Ncho, C.M., Gupta, V., Choi, Y.-H., 2023. Embryonic modulation through thermal manipulation and in ovo feeding to develop heat tolerance in chickens. Animal Nutrition 13, 150–159.
- 16. Halevy, O., Krispin, A., Leshem, Y., McMurtry, J.P., Yahav, S., 2001. Early-age heat exposure affects skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation in chicks. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 281, R302–R309.

- 17. Horowitz, M., 2002. From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 131, 475–483.
- 18. Khalil, K.M., El-Shater, S., Rizk, H., Khalifa, E., 2024. Embryonic thermal manipulation of poultry birds: Lucrative and deleterious effects. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). https://doi.org/10.1111/jpn.13896
- 19. Kubena, 1971. Hematocrit and Hemoglobin of Broilers as Influenced by Environmental Temperature and Dietary Iron Level.
- Leksrisompong, N., Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Brannan, K.E., Brake, J., 2007. Broiler Incubation.
 Effect of Elevated Temperature During Late Incubation on Body Weight and Organs of Chicks1. Poult Sci 86, 2685–2691. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps.2007-00170
- 21. Leksrisompong, N., Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Brannan, K.E., Yahav, S., Brake, J., 2009. Broiler incubation. 2. Interaction of incubation and brooding temperatures on broiler chick feed consumption and growth. Poult Sci 88, 1321–1329.
- 22. Lourens, A., Van den Brand, H., Meijerhof, R., Kemp, B., 2005. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. Poult Sci 84, 914–920.
- 23. McNabb, F.M.A., Darras, V.M., 2015. Thyroids. Sturkie's avian physiology 535–547.
- 24. Meteyake, H.T., Bilalissi, A., Kouame, Y.A.E., N'nanle, O., Tona, K., 2023a. Thermal Manipulation During Incubation: Effects on Embryo Development, Production Performance, Meat Quality, and Thermal Tolerance of Broiler Chickens. J Worlds Poult Res 13, 29–40.
- 25. Meteyake, H.T., Bilalissi, A., Kouame, Y.A.E., N'nanle, O., Tona, K., 2023b. Thermal Manipulation During Incubation: Effects on Embryo Development, Production Performance, Meat Quality, and Thermal Tolerance of Broiler Chickens. J Worlds Poult Res 13, 29–40. https://doi.org/10.36380/jwpr.2023.3
- 26. Meteyake, H.T., Bilalissi, A., Oke, O.E., Voemesse, K., Tona, K., 2020. Effect of thermal manipulation during incubation and heat challenge during the early juvenile stage on production parameters of broilers reared under a tropical climate. European Poultry Science 84, 1–16. https://doi.org/10.1399/eps.2020.318
- 27. Molenaar, R., Hulet, R., Meijerhof, R., Maatjens, C.M., Kemp, B., Van den Brand, H., 2011. High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens. Poult Sci 90, 624–632. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00970

- 28. Molenaar, R., Reijrink, I., Meijerhof, R., Van den Brand, H., 2010. Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. Rev Bras Cienc Avic 12, 137–148. https://doi.org/10.1590/S1516-635X2010000300001
- 29. Moraes, V.M.B., Malheiros, R.D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., Van As, P., Onagbesan, O.M., Buyse, J., Decuypere, E., Macari, M., 2004. The effect of timing of thermal conditioning during incubation on embryo physiological parameters and its relationship to thermotolerance in adult broiler chickens. J Therm Biol 29, 55–61. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2003.10.006
- 30. Morita, V. de S., Almeida, V.R. de, Matos, J.B., Vicentini, T.I., van den Brand, H., Boleli, I.C., 2016. Incubation temperature during fetal development influences morphophysiological characteristics and preferred ambient temperature of chicken hatchlings. PLoS One 11, e0154928.
- 31. Muhammad, M., Muhammad, L.U., Ambali, A.G., Mani, A.U., 2010. A survey of early chick mortality on small-scale poultry farms in Jos, central Nigeria. Int J Poult Sci 9, 446–449.
- 32. Narinç, D., Erdoğan, S., Tahtabiçen, E., Aksoy, T., 2016a. Effects of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chickens on developmental stability, hatchability and chick quality. Animal 10, 1328–1335. https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S1751731116000276
- 33. Narinç, D., Erdoğan, S., Tahtabiçen, E., Aksoy, T., 2016b. Effects of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chickens on developmental stability, hatchability and chick quality. Animal 10, 1328–1335. https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S1751731116000276
- 34. Piestun, Y., Halevy, O., Shinder, D., Ruzal, M., Druyan, S., Yahav, S., 2011. Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions. J Therm Biol 36, 469–474. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.08.003
- 35. Piestun, Y, Halevy, O., Yahav, S., 2009. Thermal manipulations of broiler embryos—
 The effect on thermoregulation and development during embryogenesis1. Poult Sci
 88, 2677–2688. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps.2009-00231
- 36. Piestun, Yogev, Harel, M., Barak, M., Yahav, S., Halevy, O., 2009. Thermal manipulations in late-term chick embryos have immediate and longer term effects on myoblast proliferation and skeletal muscle hypertrophy. J Appl Physiol 106, 233–240. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.91090.2008.-We

- 37. Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Yahav, S., 2008. The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and post-hatch thermoregulation. J Therm Biol 33, 413–418. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2008.06.007
- 38. Piestun, Y., Yahav, S., Halevy, O., 2015. Thermal manipulation during embryogenesis affects myoblast proliferation and skeletal muscle growth in meat-type chickens. Poult Sci 94, 2528–2536. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pev245
- 39. Porto, M.L., Fontenele-Neto, J.D., 2020. Effect of thermal manipulation during incubation on the hematological variables, serum biochemistry and morphometry of cloacal bursa of Japanese quails submitted to chronic heat stress. Arq Bras Med Vet Zootec 72, 505–516. https://doi.org/10.1590/1678-4162-11132
- 40. Şahan, U., Ipek, A., Sozcu, A., 2014. Yolk sac fatty acid composition, yolk absorption, embryo development, and chick quality during incubation in eggs from young and old broiler breeders. Poult Sci 93, 2069–2077. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps.2013-03850
- 41. Saleh, K.M.M., Tarkhan, A.H., Al-Zghoul, M.B., 2020. Embryonic thermal manipulation affects the antioxidant response to post-hatch thermal exposure in broiler chickens. Animals 10, 126.
- 42. Sgavioli, S., Santos, E.T., Domingues, C.H.F., Quadros, T.C.O., Castiblanco, D.M.C., Andrade-Garcia, G.M., Amoroso, L., Nääs, I.A., Garcia, R.G., Baraldi-Artoni, S.M., 2016. Effect of high incubation temperature on the blood parameters of layer chicks. Revista Brasileira de Ciencia Avicola / Brazilian Journal of Poultry Science 18, 41–47. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0095
- 43. Sozcu, A., Ipek, A., 2013. Incubation Conditions Affect Chick Quality and Broiler Performance Arda SÖZCÜ*, Aydın İPEK, Cilt.
- 44. Tainika, B., 2022. Thermal Manipulation: Embryonic Development, Hatchability, and Hatching Quality of Broiler Chicks, in: Broiler Industry. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.101894
- 45. Tarkhan, A.H., Saleh, K.M.M., Al-Zghoul, M.B., 2020. HSF3 and Hsp70 expression during post-hatch cold stress in broiler chickens subjected to embryonic thermal manipulation. Vet Sci 7, 1–12. https://doi.org/10.3390/vetsci7020049
- 46. Tona, K., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V.M.B., Buyse, J., Onagbesan, O., Decuypere, E., n.d. Effects of Egg Storage Time on Spread of Hatch, Chick Quality, and Chick Juvenile Growth.

- 47. Tzschentke, B., 2007. Attainment of Thermoregulation as Affected by Environmental Factors1. Poult Sci 86, 1025–1036. https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/86.5.1025
- 48. Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Tharian, J.A., Shanmugam, M., Rajkumar, U., 2015. Effect of thermal manipulation during embryogenesis on liver heat shock protein expression in chronic heat stressed colored broiler chickens. J Therm Biol 53, 162–171. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.10.010
- 49. Willemsen, H., Kamers, B., Dahlke, F., Han, H., Song, Z., Pirsaraei, Z.A., Tona, K., Decuypere, E., Everaert, N., 2010. High and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. Poult Sci 89, 2678–2690. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00853
- 50. Yalçin, S., Babacanoğlu, E., Güler, H.C., Akşit, M., 2010. Effects of incubation temperature on hatching and carcass performance of broilers. Worlds Poult Sci J 66, 87–94.
- 51. Yalçin, S., Çabuk, M., Bruggeman, V., Babacanoğlu, E., Buyse, J., Decuypere, E., Siegel, P.B., 2008. Acclimation to Heat During Incubation. 1. Embryonic Morphological Traits, Blood Biochemistry, and Hatching Performance. Poult Sci 87, 1219–1228. https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps.2007-00435
- 52. Zaboli, G.R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K., Baghbanzadeh, A., Mehri, M., 2017. Physiology and reproduction: Thermal manipulation during pre and post-hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. Poult Sci 96, 478–485. https://doi.org/10.3382/ps/pew344

ANEXOS

ANEXOS 1 — Quadro explicativo das variáveis e suas definições, com como das características com seus devidos pontos (escores) para avaliar os parâmetros de qualidade de pintos neonatos

Variável	Definição	Característica	Escore
Atividade	Verificada quando se	Bom	16
	coloca o pintainho de	Médio	8
	costas. Um rápido	Fraco	
	retorno à posição em		0
	pé é definido como		
	boa, Se permanecer		
	deitado, é definido		
Danugam	como fraca	Limno a saga	12
Penugem	A aparência deve ser limpa e seca. Se	Limpa e seca Limpa e úmida	12
	estiver úmida e suja,	-	6
	ou ambos são	Suja e umida	0
	classificados como		V
	ruim		
Olhos	Coloca-se o	Abertos e brilhantes	10
	pintainho em pé e	Abertos e sem brilho	5
	observam-se seus	Fechados	5
	olhos, o brilho e a		0
	extensão que ocupa a		
	pálpebra sobre o olho		
Umbigo	Examina-se a área do	Fechado e limpo	12
	umbigo e ao redro	Fechamento	6
	dele, veririficando-se	incompleto,	
	o seu fechamento e	coloração normal	0
	sua cor. Se a cor for	Aberto e coloração	
	diferente da pele, registra-se como má	normal	
	qualidade		
Membrana	Na área do umbigo,	Sem membrana	12
remanescente	avalia-se o tamanho	Pequena	
	de uma possível	Grande	6
	membrana		0
	remanescente. O		
	tamanho será		
	classificado como		
	muito grande, grande		
	ou pequeno		
Adbômen	Examina-se o	Normal	12
	abdômen do pinto	Médio	6
	visualmente. Se	Distendido	Ü

-			
	estiver grande (balofo) é		0
	classificado como ruim		
Pernas	O pinto é colocado	Pernas/dedos e	10
		articulações normais Uma perna/dedo e	5
	permanece firme	articulações afetadas	0
	* ,	Duas pernas/dedos e	
	conformação dos dedos e a articulação	artıculações atetadas	
	do joelho é examinada		
Canelas	Observa-se o brilho e	Brilhante	16
	a cor da canela. A normal deve ser	avermelhada Brilhante e pálida	8
	avermelhada e brilhante	Opaca e pálida	0

Fonte: Adaptado de Tona et al. (2003)