

ÉRICA DE FARIA MELO

**ARMAZENAMENTO E VIRAGEM DOS OVOS DE MATRIZES PESADAS**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Nelson Carneiro Baião

BELO HORIZONTE

Escola de Veterinária da UFMG

2015

Melo, Érica de Faria, 1987-  
M528a Armazenamento e viragem dos ovos de matrizes pesadas / Érica de Faria Melo. – 2015.  
48 p. :il.

Orientador: Nelson Carneiro Baião  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.  
Inclui bibliografia

1. Ovos – Armazenamento – Teses. 2. Ovos – Eclodibilidade – Teses. 3. Ovos – pesos e medidas – Teses. 4. Produção animal – Teses. I. Baião, Nelson Carneiro. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 637.5

Dissertação defendida e aprovada em 30/07/2015, pela comissão examinadora constituída por:

---

Prof. Nelson Carneiro Baião

Orientador

---

Prof. Ângela Maria Quintão Lana

Examinador interno à UFMG

---

Mariana André Pompeu

Examinador externo à UFMG

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais Eustáquio e Vera.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, saúde e tranquilidade nos momentos de angústia.

Aos meus pais, Eustáquio e Vera, pelo apoio, confiança e amor.

Aos meus irmãos, Emerson e Eneida, pelo carinho e por compreenderem meus momentos de ausência.

Ao meu afilhado Henrique por me mostrar o quanto a vida pode ser leve e o amor puro.

Ao professor Baião pela confiança na execução deste trabalho, aprendizado e pelo exemplo de profissional.

Ao professor Léo pelos conselhos e ajudas nos momentos mais difíceis.

Aos amigos do Geav, Leozinho, Cátia, Fernanda, Anna Rosa, Marcela, Mariana Maseo, Mariana Pompeu, Luiz Felipe, Diego, Flávia, Bia, Cristiane, Paulinha, Pedro, Winnie, Edgard, Thiago, Larissa e Renata por toda a ajuda na execução do trabalho, pelos momentos de estudos e descontrações compartilhados.

À empresa Avivar pela disponibilidade de execução deste trabalho e por toda a ajuda fornecida.

A todos meus amigos e amigas.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>11</b>
<b>1 – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 – REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
2.1- Fertilização do ovo.....	13
2.2 – Condições do ambiente de armazenamento .....	14
2.3 – Alterações que ocorrem no ovo durante o armazenamento .....	15
2.4 – Armazenamento e eclosão dos ovos.....	18
2.5 – Viragem dos ovos durante o armazenamento.....	19
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1- Comitê de ética.....	21
3.2 – Ovos (coleta, seleção e armazenamento).....	21
3.3 – Tratamentos e delineamento experimental.....	22
3.4 – Incubação.....	23
3.5 – Transferência da incubadora para o nascedouro.....	23
3.6 – Nascimento dos pintos .....	24
3.7 – Variáveis analisadas.....	24
3.7.1 – Parâmetros de qualidade dos ovos.....	24
3.7.1.1 – Unidades Haugh.....	24
3.7.1.2 – pH do albúmen.....	24
3.7.1.3 – Peso relativo da gema, albúmen e casca.....	25
3.7.2 – Rendimento de Incubação.....	25

3.7.2.1 – Perda de peso durante armazenamento incubação.....	25
3.7.2.2 – Perda de peso durante incubação.....	25
3.7.2.3 – Ovos inférteis e mortalidade embrionária inicial .....	25
3.7.2.4 – Taxa de eclosão em relação ao número de ovos incubados....	26
3.7.2.5 – Peso dos pintos no momento da eclosão.....	26
3.7.2.6 – Mortalidade embrionária e ovos inférteis através do embriodiagnóstico.....	26
3.8 – Análise estatísticas dos dados.....	27
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
4.1 – Parâmetros de qualidade dos ovos.....	27
4.2- Rendimento de Incubação.....	34
4.3 – Embriodiagnóstico.....	38
<b>5 – CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Valores de peso do ovo (PO), peso relativo da gema (PG), peso relativo do albúmen (PA), peso relativo da casca (PC), Unidades Haugh (UH) e pH do albúmen (pHA) de acordo com o período de armazenamento e a viragem ou não dos ovos durante o armazenamento.....28
- Tabela 2.** Peso do ovo (g) em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos .....29
- Tabela 3.** Peso relativo da casca (%) em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos.....30
- Tabela 4.** pH do albúmen em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos.....31
- Tabela 5.** Peso do ovo, peso relativo da gema, peso relativo do albúmen, peso relativo da casca, UH e pH do albúmen de todos os tratamentos e a comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade (p) .....32
- Tabela 6.** Perda de peso dos ovos durante o armazenamento (PPA), perda de peso na incubação (PPI), eclosão total e peso do pinto (PP), de acordo com o período de armazenamento e a viragem ou não dos ovos.....34
- Tabela 7.** Perda de peso durante o armazenamento (PPA), perda de peso durante a incubação (PPI), eclosão e peso do pinto (PP) de acordo com os tratamentos e comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade (p) .....37
- Tabela 8.** Porcentagens de ovos inférteis (INF), mortalidade inicial (Mi), mortalidade intermediária (Mint), mortalidade final (Mf), bicados vivos e mortos (BIC) e contaminados e trincados (CONT/TRI).....39
- Tabela 9.** Porcentagens da mortalidade embrionária final (15 a 21 dias) dos ovos armazenados por quatro, oito ou doze dias de acordo com os tratamentos .....41
- Tabela 10.** Percentuais de ovos inférteis (INF), mortalidade embrionária inicial (Mi), mortalidade intermediária (Mint), mortalidade embrionária final (Mf), ovos bicados vivos e mortos e dos ovos contaminados e trincados (CONT/TRI) de todos os

tratamentos e a comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade ( $p$ ) .....42

## RESUMO

Realizou-se um experimento com o objetivo de avaliar o efeito do tempo de armazenamento e da viragem dos ovos durante o armazenamento sobre os parâmetros de qualidade dos ovos, rendimento de incubação e embriodiagnóstico. Os tratamentos foram definidos de acordo com o período de armazenamento (quatro, oito e doze dias) e a viragem ou não destes ovos em um ângulo de 180° uma vez ao dia e o tratamento controle foi constituído de ovos armazenados por um dia sem viragem. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3 (três períodos de armazenamento) x 2 (viragem ou não dos ovos durante o armazenamento) +1 (tratamento controle). Para as análises da qualidade dos ovos foram utilizadas 30 repetições por tratamento, sendo cada ovo considerado uma repetição. Para as avaliações da perda de peso durante o armazenamento, perda de peso durante a incubação, % eclosão, mortalidade embrionária e peso do pintinho foram utilizadas doze repetições por tratamento, sendo cada bandeja constituída por 96 ovos considerada uma repetição. Houve interação entre período de armazenamento e viragem para as variáveis peso do ovo, peso da casca e pH do albúmen ( $p \leq 0,05$ ). O peso da gema não foi influenciado pelos tratamentos ( $p > 0,05$ ). A viragem dos ovos não interferiu no peso do albúmen nem no valor de UH ( $p > 0,05$ ), no entanto, o maior peso do albúmen e maior UH foram observados nos ovos armazenados por quatro dias. A perda de peso durante o armazenamento foi maior nos ovos armazenados por oito e 12 dias ( $p \geq 0,05$ ) e a viragem dos ovos não interferiu nesta variável ( $p > 0,05$ ). Ovos submetidos a viragem durante o armazenamento apresentaram maior eclosão quando comparado com ovos não virados ( $p \leq 0,05$ ). A eclosão dos ovos armazenados por quatro e oito dias foram estatisticamente semelhantes entre si e maior que a eclosão dos ovos armazenados por 12 dias ( $p \leq 0,05$ ). Ovos armazenados por 12 dias apresentaram maior porcentagem de mortalidade embrionária inicial e tardia ( $p \leq 0,05$ ) e a viragem dos ovos durante o armazenamento não interferiu nestas variáveis ( $p > 0,05$ ). A viragem dos ovos durante o armazenamento por quatro, oito e 12 dias em um ângulo de 180°, uma vez ao dia, resulta em menor pH de albúmen, maior peso relativo da casca e maior eclosão.

Palavras-chaves: armazenamento, eclosão, ovos férteis, viragem.

## ABSTRACT

An experiment was conducted to evaluate the effect of the storage period and egg turning during storage on the quality parameters of the eggs, hatchability and embryo diagnosis. The storage period (four, eight and twelve days) and the turning or not the eggs, in a 180° angle, once a day, defined the treatments. The control treatment consisted of eggs stored for a day, without turning. The experimental design was completely randomized in a factorial 3 (three storage periods) x 2 (turning or not turning the eggs during storage) + 1 (control treatment). For the egg quality analyzes 30 replications per treatment were used, in which each egg is considered a replicate. For the analyzes of weight loss during storage, weight loss during incubation process, hatchability, embryonic mortality and chick weight 12 replications per treatment were used, in which each tray of 96 eggs constituted a replicate. There was a significant interaction of storage period and turning during storage for egg weight, shell weight and albumen pH ( $p \leq 0,05$ ). The yolk weight wasn't affected by the treatments ( $p > 0,05$ ). The turning of the eggs did not influence the albumen weight neither the Haugh Units (HU) ( $p > 0,05$ ), however, eggs stored for four days showed higher albumen weight and HU. The weight loss during storage was higher in eggs stored for eight and twelve days ( $p \leq 0,05$ ), and the turning of the eggs didn't influence this variable ( $p > 0,05$ ). Eggs subjected to turning showed higher hatching when compared with non-turning eggs ( $p \leq 0,05$ ). The hatching of eggs stored for four and eight days were statistically similar and higher than the hatching of eggs stored for twelve days ( $p \leq 0,05$ ). Eggs stored for twelve days showed higher percentage of early and late embryonic mortality ( $p \leq 0,05$ ), and the turning of the eggs during storage didn't affect these variables ( $p > 0,05$ ). The egg turning during storage period for four, eight and 12 days, in a 180° angle, once a day, result in lower albumen pH, higher relative weight of the shell and higher hatching.

Keywords: storage, hatching, fertile eggs, turning.

## 1. INTRODUÇÃO

A incubação artificial se destaca por proporcionar que uma máquina faça o papel de muitas galinhas no período de desenvolvimento do embrião dentro do ovo. Sem a incubação artificial não seria possível a produção de carne de frango na proporção que a demanda atual exige.

Atualmente, o volume de ovos férteis comercializados é grande, o que normalmente, exige um período de armazenamento mais prolongado. O armazenamento de ovos férteis é o período compreendido entre a postura do ovo até a incubação e este é uma necessidade logística da indústria avícola. Como o volume de produção de pintos de um dia exigido pelos produtores de frangos é grande e as máquinas de incubação estão com suas capacidades cada vez maiores, é quase sempre impossível atender esta demanda sem armazenar os ovos. Além disto, a estocagem dos ovos permite a incubação de ovos produzidos por um mesmo lote, evitando a mistura de ovos de vários lotes em uma mesma carga de incubação. Este procedimento facilita a rastreabilidade dos pintos, principalmente, quanto aos aspectos sanitários.

O custo de produção de pintos de corte, principalmente com ração e energia elétrica, é cada vez mais alto, e com isso o aumento da eficiência reprodutiva das galinhas é importante para a manutenção da viabilidade econômica da atividade, o que justifica a avaliação das principais causas de infertilidade e mortalidade embrionária (Kuurman et al., 2002). A eclodibilidade dos ovos férteis é afetada pelo período de armazenamento e esta redução na eclosão é acompanhada de um aumento na mortalidade embrionária inicial e tardia (Mousa-Balabel e Saleem, 2004).

Segundo Rocha et al., 2013a é possível reduzir os efeitos negativos do armazenamento prolongado sobre o rendimento de incubação, com a adoção de algumas práticas de manejo como o armazenamento dos ovos com a ponta fina virada para cima, viragem dos ovos durante a estocagem e a pré-incubação destes ovos podem ser utilizadas.

Pequenas melhorias na eclodibilidade de ovos férteis podem resultar em consideráveis ganhos econômicos (Reis et al., 1997).

Considerando-se o alto custo de produção e as variações no preço e na produção de ovos férteis e de pintos de um dia, objetivou-se analisar o efeito do período de armazenamento e da viragem dos ovos férteis durante o armazenamento sobre a qualidade interna do ovo e o rendimento de incubação.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Fertilização do Ovo**

Um dos folículos ovariano, proveniente de uma série constituída de 10 a 12 folículos organizados em hierarquia, desenvolve-se a cada 25-27 horas por meio de deposição de camadas concêntricas de lipoproteínas. O rompimento deste folículo caracteriza a ovulação e a partir deste momento tem início o desenvolvimento das outras partes do ovo. O folículo ovariano é constituído de um oócito (gameta feminino) e sua respectiva gema ficando suspenso por um pedículo folicular (Barbosa, 2011a).

O desenvolvimento embrionário se inicia aproximadamente três horas após a fecundação que ocorre no infundíbulo. O estágio de desenvolvimento embrionário no momento da postura influencia a eclodibilidade, sendo que estágios muito avançados ou muito precoces podem ser prejudiciais (Cesario, 2013).

As reservas energéticas que o embrião utilizará durante o período embrionário e pós-natal imediato, estão concentradas na gema, onde também se encontram os cromossomos maternos que aparecem como uma pequena parte de coloração esbranquiçada, com diâmetro de dois a três milímetros. Esta região da gema antes da fertilização é denominada blastodisco (Fasenko, 2007).

Nas aves, a formação do ovo e o desenvolvimento embrionário ocorrem durante a passagem da gema pelas cinco partes do oviduto (infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina). A fertilização ocorre no infundíbulo e pouco depois a segunda divisão meiótica se completa no magno. A partir deste momento, o blastodisco passa a ser denominado blastoderma. Apenas as células do blastodisco sofrem divisão. No momento da postura, a área central do blastoderme possui a espessura de uma a duas camadas de células e a periferia possui várias camadas de células. A área central é chamada de área pelúcida e a periférica, área opaca. Somente as células do epiblasto (presente na área pelúcida) contribuirão com o desenvolvimento das estruturas do corpo do embrião (Fasenko, 2007).

Anteriormente à ovoposição, o blastoderma começa a se diferenciar em duas camadas germinativas, iniciando a gastrulação (Barbosa, 2011a). No momento da postura, o embrião possui cerca de 40.000 a 60.000 células. O estágio de desenvolvimento do embrião no momento da postura sofre interferência da linhagem e da idade da matriz (Fasenko, 2007). Normalmente, o embrião encontra-se no estágio de pré-gástrula, imediatamente após a postura (Fiuza et al., 2006).

Utilizando um equipamento capaz de medir indiretamente o metabolismo embrionário (individual) através da saída de gás carbônico, Fasenko (2007) observou que em ovos armazenados por 15 dias, a taxa de saída de CO<sub>2</sub> foi menor quando comparado com ovos armazenados por quatro dias. Este fato demonstra que embriões provenientes de ovos armazenados por longos períodos não só apresentam um atraso em seu desenvolvimento como uma alteração do seu metabolismo.

## **2.2. Condições do ambiente de armazenamento dos ovos férteis**

Os ovos férteis, quando mantidos em temperaturas mais altas, permanecem em contínuo desenvolvimento embrionário, no entanto, este crescimento pode ser paralisado se submetido à temperatura ambiente abaixo do ponto zero fisiológico, que de acordo com Fasenko et al. (1992) está em torno de 20 a 21°C. Portanto, esta seria a temperatura ideal para manutenção dos ovos durante o armazenamento.

No entanto, a temperatura de armazenamento pode variar de acordo com o período de estocagem e idade da galinha. Ovos produzidos por matrizes novas suportam períodos de armazenamento mais longos em temperaturas mais elevadas e umidade mais baixa quando comparados com ovos provenientes de matrizes velhas (Rocha et al. 2013).

Para ovos armazenados por período superior a 14 dias, oito dias e dois dias os níveis ótimos de eclosão ocorreram quando a temperatura de armazenamento utilizada foi de 12°C, 15°C e 18°C, respectivamente (Olsen e Haynes, 1948; Funk e Forward, 1960, Kirk *et al.*, 1980 citados por Brake et al, 1997).

A umidade relativa do ar durante o armazenamento dos ovos deve ser controlada para evitar a perda de água do albúmen. A umidade deve estar entre 70 e 85% para minimizar a perda de água por evaporação (Schmidt et al., 2003). Normalmente, o ovo deve perder ao redor de 13% de umidade durante o armazenamento e incubação. Quando se utiliza níveis inadequados de umidade relativa do ar durante o armazenamento a perda de peso pode ser excessiva antes da incubação, o que pode vir a comprometer o rendimento da incubação. Tanure (2008) constatou que há maior perda de água com o aumento do período de armazenamento.

Incubar os ovos logo após a postura pode ser prejudicial e os melhores resultados de eclosão são obtidos quando estes ovos ficam armazenados por um, dois ou até três dias. No entanto, fica claro que não há um período mínimo de estocagem que forneça melhores resultados de eclosão. Isso porque existe interferência da idade da matriz e da

linhagem que refletirão na qualidade do albúmen e conseqüentemente no rendimento de incubação (Brake et al. 1997).

Reijrink et al. (2010) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a composição do ar do ambiente de armazenamento sobre a perda de peso na estocagem, desenvolvimento embrionário, pH do albúmen, eclosão, qualidade do pinto entre outros. O trabalho constituiu de quatro tratamentos: 0,05% de CO<sub>2</sub> (controle), 0,74% de CO<sub>2</sub>, 1,5% CO<sub>2</sub> e o último tratamento que possuía 3,0% de O<sub>2</sub>. Os ovos foram armazenados por 14 dias a 16°C e umidade relativa do ar de 75%. No tratamento em que a concentração de CO<sub>2</sub> foi de 1,5% o valor do pH do albúmen foi 8,48, enquanto que no tratamento controle, o pH do albúmen apresentou um valor de 8,96. No entanto, não houve aumento significativo na taxa de eclosão ou na qualidade dos pintos. Este fato sugere que o aumento do pH até aproximadamente 9,0 associado a redução da altura do albúmen não estão envolvidos nos efeitos negativos do armazenamento prolongado sobre a eclosão e qualidade dos pintos (avaliada pelo peso corporal, peso corporal sem o saco vitelino e comprimento do pinto no dia do nascimento). No tratamento onde a concentração de O<sub>2</sub> foi de 3%, também não houve efeito da composição do ar do ambiente de armazenamento sobre a eclosão e nem na qualidade dos pintos o que comprova que os embriões conseguem sobreviver em ambientes com baixa concentração de oxigênio durante o armazenamento.

### **2.3 Alterações que ocorrem no ovo durante armazenamento**

Fatores do ambiente de armazenamento como temperatura, umidade, concentração de gás carbônico assim como a duração desse período, possuem grande importância na manutenção da qualidade dos ovos (Samli et al., 2005).

As características dos ovos férteis “frescos” (que não foram armazenados) estão intimamente relacionadas com a idade da galinha. Ovos produzidos pelas galinhas novas apresentam qualidade de casca e de albúmen diferentes quando comparados com ovos de galinhas velhas (Tona et al., 2001).

A eclodibilidade e a qualidade do pinto podem diminuir quando o período de estocagem dos ovos excede três dias, independentemente da temperatura, pois ocorrem mudanças em certos aspectos físicos do ovo, como a redução da altura do albúmen mensurada pelas UH, que levam à diminuição da qualidade do ovo fértil (Tona et al. 2004).

De acordo com Silversides e Scott (2001), a linhagem e a idade das galinhas juntamente com o período e as condições de armazenamento são os fatores que mais influenciam na altura do albúmen. Estes autores realizaram um ensaio para avaliar a qualidade do albúmen quando os ovos são estocados por um, três, cinco e dez dias. A altura do albúmen e o pH foram os parâmetros utilizados para determinar a qualidade do albúmen. A conclusão do trabalho foi que o período de armazenamento diminui a altura do albúmen e aumenta o pH.

A temperatura de armazenamento está diretamente relacionada com as mudanças que ocorrem na qualidade do albúmen, como a maior perda de água durante o armazenamento e a redução da altura do albúmen quando os ovos são estocados em temperatura de 23,9°C comparado com ovos armazenados a 12,8°C (Walsh et al. 1995).

O albúmen posiciona a gema e o blastoderma no centro do ovo, evitando a aderência do mesmo à membrana da casca, imediatamente após a postura. A liquefação do albúmen que ocorre durante o armazenamento promove a liberação de macromoléculas, glicose e alguns íons essenciais e facilita a movimentação destas substâncias para o blastoderma que são importantes para o desenvolvimento do embrião. Além disso, a liquefação pode reduzir a barreira imposta pelo albúmen e permitir uma melhor troca gasosa (Brake et al., 1997).

Há associação significativa entre idade da matriz e período de armazenamento do ovo sobre o valor do pH do albúmen. Independente da idade da matriz, o pH do albúmen aumenta com o aumento do tempo de armazenamento e este efeito é mais pronunciado nos primeiros quatro dias de armazenamento. A altura do albúmen é maior em ovos produzidos por matrizes novas quando comparada com ovos de matrizes velhas e é também maior em ovos frescos quando os compara com ovos armazenados (Lapão et al., 1999).

Durante o armazenamento ocorrem alterações que favorecem o desenvolvimento embrionário, como o aumento do pH através da perda de gás carbônico e redução da viscosidade do albúmen. Estas alterações favorecem as trocas gasosas e a passagem de nutrientes para o embrião. Além disso, o tempo de armazenamento de ovos férteis pode influenciar o tamanho da gema do ovo, pois ocorre transferência de água do albúmen para a gema, portanto, a umidade da gema varia com o tempo de armazenamento (Souza Soares e Siewerdt, 2005).

Durante o armazenamento, a ovoalbumina se transforma em S-ovoalbumina e ocorre a dissociação do complexo ovomucina-lisozima com a destruição do gel de

ovomucina. Estas alterações provocam a redução das propriedades gelificantes e espumantes da viscosidade do albúmen, tornando-o liquefeito, o que facilita a evaporação da água através dos poros da casca (Seibel et al., 2005).

A perda de peso dos ovos que ocorre durante o armazenamento se deve à difusão do vapor de água através da casca e sofre influência de variáveis como: a condutância da casca, o número de poros, a estrutura dos poros e a espessura da casca (Mousa-Balabel e Saleem, 2004).

O período de armazenamento e a idade da matriz interferem nos valores de Unidades Haugh (UH), no entanto, em seu trabalho Tona et. al. (2004) verificaram que o período de armazenamento interfere mais (perda de 1,75UH/dia de armazenamento) do que a idade da galinha (perda de 0,68UH/semana).

As reações que ocorrem no albúmen estão diretamente relacionadas com a porcentagem de gema, visto que com a liquefação do albúmen há maior produção de água. Esta água atravessa a membrana vitelínica por osmose e é retida na gema. O excesso de água na gema determina seu aumento de volume e leva ao enfraquecimento da membrana vitelínica. É este fato que faz com que a gema se apresente maior e mais achatada (Pissinati et al., 2014).

O ovo fértil armazenado por sete dias apresenta na gema maior quantidade de ácidos graxos saturados e menor quantidade de ácidos graxos monoinsaturados quando comparado ao ovo fértil armazenado por três dias. Este fato demonstra que durante o armazenamento há a oxidação dos ácidos graxos monoinsaturados, que são mais instáveis que os saturados devido à presença de uma ligação dupla. A adição da cantaxantina à dieta na concentração de 6 ppm não foi capaz em evitar o processo de oxidação na gema de forma significativa durante o armazenamento por sete dias (Rocha et al., 2013b).

A redução da resistência da camada perivitelina observada durante o armazenamento tem sido associada à liquefação da chalaza que ocorre em períodos de armazenamento prolongados (Brake et al., 1997).

A injeção *in ovo* de alguns tipos de substâncias com capacidade tamponante, no primeiro dia de armazenamento de ovos que permaneceram quatorze dias estocados, demonstrou ser capaz de reduzir os efeitos negativos do armazenamento sobre o pH do albúmen, UH, eclosão e mortalidade embrionária. Foi injetado 0,5mL de solução tamponante em cada ovo proveniente de um lote de matriz com 48 semanas de idade. A injeção *in ovo* de uma solução tamponante aumentou em 6% a eclosão quando

comparado com o grupo controle. Com relação ao pH do albúmen, a injeção da solução tamponante reduziu em 0,3 quando comparado com o grupo que não recebeu. Esse fato ocorreu provavelmente devido aos menores valores de pH encontrado do segundo ao quinto dia de armazenamento. Com relação aos valores de UH, o tratamento que recebeu a solução apresentou 10 UH a mais quando comparado com o grupo controle (Akhlagi et al., 2013).

O número de células embrionárias viáveis diminuiu quando o período de armazenamento dos ovos passou de quatro para 14 dias. Esta redução está associada ao aumento da apoptose celular (morte celular programada) (Hamidu et al., 2011).

A diminuição no número de células embrionárias viáveis durante o armazenamento possui causas diferentes de acordo com o tipo de ave (matriz leve ou pesada). Em ovos provenientes de matrizes leves esta redução ocorre devido a apoptose e a necrose celular o que demonstra que os ovos provenientes desse tipo de ave são mais sensíveis ao armazenamento. Uma das hipóteses apontadas pelos autores para justificar essa diferença seria a maior expressão de genes ou fatores relacionados com a necrose celular nos embriões provenientes destas aves, como o fator de necrose tumoral (Hamidu et al., 2011).

Quando o ovo é armazenado, há uma alteração das proteínas da membrana da casca. Esta mudança pode afetar a forma como a membrana corioalantóide interage com as membranas internas da casca. Sugere-se que o armazenamento dos ovos com a ponta fina virada para cima ou a viragem durante o armazenamento possa reduzir os efeitos prejudiciais do armazenamento sobre as membranas da casca, o que facilita o desenvolvimento normal da membrana corioalantóide quando o ovo é incubado (Elibol et al., 2002).

#### **2.4. Armazenamento e eclosão dos ovos**

A eclodibilidade e a qualidade dos pintinhos são influenciadas pelas condições de armazenamento como: o tempo em que os ovos permanecem estocados, temperatura, umidade, concentração dos gases no ambiente e a posição ou movimentação desses ovos (Reis et al., 1997).

Tanure et al. (2009) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a influência da idade da matriz (32 e 57 semanas) e do período de armazenamento (três, cinco e sete dias) sobre a taxa de eclosão. Independente do período de armazenamento, as maiores taxas de eclosão foram obtidas para ovos provenientes de matrizes novas. O aumento no

período de armazenamento influenciou negativamente a eclodibilidade dos ovos produzidos pelas matrizes novas e velhas. Contudo, os ovos de matrizes velhas apresentaram redução significativa na taxa de eclosão quando armazenados por sete dias.

Lapão et al. (1999) avaliaram o efeito da interação de diferentes períodos de armazenamento (zero, um, quatro e oito dias) e idade de matrizes (32, 42, 54 e 59 semanas) sobre os parâmetros: eclosão, eclosão de pintos vendáveis, mortalidade embrionária e percentual de pintos eliminados após nascimento. No lote de matriz com 32 semanas houve um decréscimo na eclosão de pintos vendáveis de 0,82% por dia de armazenamento enquanto que no lote de matriz com 59 semanas este decréscimo foi de 1,92%. O decréscimo da eclosão de pintos vendáveis com o aumento do período de estocagem em lotes de matrizes velhas pode ser explicado devido a maior incidência do percentual de pintos eliminados e maior mortalidade embrionária.

A eclodibilidade dos ovos é afetada pelo período de armazenamento. Este fato se deve a mortalidade embrionária que ocorre principalmente no segundo e terceiro dia de incubação (Mousa-Balabel e Saleem, 2004). No entanto, o armazenamento de ovos de matrizes pesadas com 64 semanas de idade por até cinco dias, em condições de temperatura e umidade controladas (15°C e 75% respectivamente), não foi capaz de reduzir a eclosão de forma significativa (Sunder et al., 2010).

O ovo estocado pode apresentar maior período de incubação e atraso no desenvolvimento embrionário (Reis et al., 1997). De acordo com Mousa-Balabel e Saleem (2004) o período de incubação foi maior quando os ovos foram armazenados durante 12 dias ou mais e quando este período foi inferior não houve diferença.

O peso do pintinho aos sete dias de idade foi influenciado pelo período de armazenamento. Pintinhos provenientes de ovos armazenados por nove dias ou mais apresentaram menor peso aos sete dias quando comparado com pintinhos provenientes de ovos armazenados por menos de nove dias. Os autores trabalharam com períodos de armazenamento de zero, três, seis, nove, 12, 15, 18, 21 e 24 dias (Mousa-Balabel e Saleem, 2004).

## **2.5. Viragem dos ovos durante o armazenamento**

Normalmente, os ovos são armazenados com a parte larga virada para cima. De acordo com Schimdt e Figueredo (2003) quando o ovo fértil for estocado por mais de sete dias é necessário virar os ovos e mantê-los com a ponta fina para cima. Este manejo

evita que a gema, com o blastoderme na superfície, tenha um movimento a tal ponto que possa aderir à membrana da casca, além de dificultar a perda de água do albúmen.

Trabalhando com ovos de matriz pesada com 30 e 50 semanas de idade Elibol et al. (2002) avaliaram os efeitos da viragem dos ovos (em um ângulo de 90°) armazenados durante três, sete e 14 dias, os quais foram virados quatro ou 24 vezes ao dia. Estes autores concluíram que viragem dos ovos quatro vezes ao dia durante o armazenamento aumentou a eclosão dos ovos independente da idade da matriz.

A viragem dos ovos três, seis ou doze vezes ao dia durante o armazenamento por seis dias melhorou a eclodibilidade, o peso do pinto ao nascimento e aos sete dias de idade. A viragem dos ovos durante o armazenamento pode reduzir a mortalidade embrionária por evitar a adesão do embrião à casca (Mousa-Balabel e Saleem, 2004).

Maeda e Tiwary (2005) realizaram um trabalho com o objetivo de analisar o efeito da posição dos ovos durante o armazenamento sobre a eclosão dos ovos férteis. No primeiro experimento os ovos foram armazenados com a ponta fina virada para cima ou com a ponta fina virada para baixo por uma, duas ou três semanas. A temperatura de armazenamento foi de 15°C e umidade relativa do ar 60%. Os ovos armazenados por duas ou três semanas com a ponta fina virada para cima tiveram eclosão maior em relação aos ovos estocados pelo mesmo período, porém posicionados com a extremidade mais larga do ovo voltada para cima. No segundo experimento estes autores mediram o efeito da rotação dos ovos em um ângulo de 45° duas vezes ao dia durante o período de armazenamento por três ou quatro semanas sobre a eclosão e concluíram que a movimentação dos ovos durante a estocagem não teve efeito significativo.

Elibol e Brake (2008) realizaram dois experimentos nos quais avaliaram a interação entre o período de estocagem dos ovos, a posição dos ovos durante a estocagem e a frequência de viragem destes ovos durante a incubação. Estes autores concluíram que períodos de armazenamento prolongados diminuem a eclosão de ovos férteis enquanto que o armazenamento destes ovos com a ponta mais fina para cima foi capaz de aumentar a eclosão de ovos férteis nos dois experimentos. No entanto, este aumento da eclosão devido ao efeito da posição dos ovos (ponta fina virada para cima) no armazenamento foi expressivamente superior nos ovos armazenados por 14 dias. Estes dados demonstraram que há interação entre período de armazenamento e posição dos ovos durante estocagem.

Khan et al. (2012) realizaram um estudo com 320 ovos férteis estocados por seis dias a 16°C e umidade relativa do ar entre 70 a 75%. Estes ovos foram distribuídos em quatro tratamentos: T1 (controle), T2 (ovos foram aquecidos durante a estocagem por seis a sete horas a 85°F), T3(foi realizada a viragem dos ovos durante o armazenamento em um ângulo de 45° de seis a oito vezes por dia) e T4 (os ovos foram virados e aquecidos durante o armazenamento da mesma forma em que foi realizado nos ovos do T2 e T3). O peso dos pintos ao nascimento foi maior quando os ovos foram virados durante o armazenamento. Os autores justificaram este maior peso pela centralização do embrião em desenvolvimento no interior do ovo o que permitiu sua máxima nutrição e assim o nascimento de pintos mais saudáveis e pesados.

Lima et al. (2012) avaliaram o efeito do armazenamento dos ovos com a ponta fina virada para cima durante sete, 14 e 21 dias, sobre a perda de peso durante o armazenamento, eclosão, mortalidade embrionária e peso do pintinho ao nascimento. Os ovos foram coletados de matrizes de duas idades (32 e 58 semanas). A perda de peso durante o armazenamento foi significativamente menor para os ovos armazenados por sete e 14 dias com a ponta fina virada para cima independente da idade da matriz. Com relação à eclosão, os ovos armazenados com a câmara de ar virada para baixo por 14 dias e provenientes de matrizes novas obtiveram valor superior ao tratamento controle (ovos armazenados com a câmara de ar voltada para cima). Já para os ovos provenientes de matrizes velhas, a eclosão foi superior tanto para os que ficaram armazenados por 14 dias com a ponta fina virada para cima quanto para os que ficaram armazenados por sete dias nessa mesma posição o que demonstra haver interação entre idade da matriz e posição do ovo durante a estocagem. A mortalidade embrionária inicial foi maior nos ovos do tratamento controle armazenados por 14 dias, o que justifica a sua menor eclosão.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Comitê de Ética**

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal sob protocolo de número 362/2014.

#### **3.2 Ovos (coleta, seleção e armazenamento)**

A coleta dos ovos foi realizada no município de Carmo do Cajuru, Minas Gerais e a incubação dos ovos no município de São Sebastião do Oeste, Minas Gerais, ambas propriedades pertencentes a mesma empresa, no período de 10/12/2014 a 14/01/2015.

Os ovos foram obtidos de um lote de matriz pesada da linhagem Cobb® Slow 500 com 55 semanas de idade. Realizou-se quatro coletas (11/12, 15/12, 19/12 e 22/12) e em cada uma coletaram-se 2500 ovos, com exceção da última, que coletou-se 1250 ovos. Foram realizadas quatro coletas, em dias diferentes, para que todos os ovos pudessem ser incubados no mesmo dia, com o objetivo de minimizar a variação inerente à máquina de incubação. Todos os ovos foram provenientes da segunda e terceira coletas do dia realizada às 10:00 e 13:00 horas, respectivamente. O galpão possuía ninho automático, sendo as coletas realizadas por meio de esteira. Os ovos foram coletados em pentes de plásticos com capacidade de 30 ovos cada e a seleção dos ovos foi feita eliminando aqueles considerados não incubáveis (sujos, duas gemas, deformados, trincados e pequenos). À medida que as coletas foram sendo efetuadas cada pente era identificado com a data da postura, lote e tratamento.

Imediatamente após as coletas, ainda na granja, os ovos destinados à incubação foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de  $15\text{g/m}^3$ , sendo posteriormente armazenados em sala climatizada ( $24^\circ\text{C}$ ) para ao final do dia, serem transportados ao incubatório. Na sala climatizada os pentes foram pesados para a determinação da perda de peso durante o armazenamento.

No dia seguinte à coleta, os pentes de ovos foram transferidos para caixas de plásticos identificadas de acordo com os tratamentos onde permaneceram armazenados até um dia antes da incubação. O armazenamento dos ovos foi realizado na sala de ovos do incubatório onde a temperatura média da sala foi de  $20,3^\circ\text{C}$  e umidade relativa do ar média de 72%. Todos os ovos foram armazenados sob as mesmas condições de temperatura e umidade.

De acordo com os tratamentos, uma vez por dia no período da manhã, os ovos foram virados manualmente em um ângulo de  $180^\circ$ .

### **3.3 Tratamentos e delineamento experimental**

Os tratamentos foram dispostos no delineamento experimental inteiramente ao acaso em esquema fatorial  $3 \times 2 + 1$ , sendo três períodos de armazenamento (quatro, oito e 12 dias), com ou sem viragem dos ovos durante o armazenamento e mais um tratamento controle (ovos armazenados por um dia sem viragem). Para avaliação dos parâmetros de

qualidade dos ovos (peso do ovo, peso da gema, peso do albúmen, peso da casca, pH do albúmen e UH) foram utilizadas 30 repetições por tratamento, sendo cada ovo considerado uma repetição. Para as análises da perda de peso dos ovos durante o armazenamento, perda de peso dos ovos durante a incubação, eclosão, peso médio do pintinho, ovos inférteis, mortalidade inicial, mortalidade intermediária, mortalidade final, ovos bicados e contaminados e trincados foram utilizadas 12 repetições por tratamento, sendo a bandeja com 96 ovos considerada uma repetição. Os tratamentos ficaram definidos da seguinte forma:

A – ovos armazenados por um dia sem viragem

B – ovos armazenados por quatro dias com viragem em ângulo de 180° a cada 24 horas

C – ovos armazenados por oito dias com viragem em ângulo de 180° a cada 24 horas

D – ovos armazenados por 12 dias com viragem em ângulo de 180° a cada 24 horas

E – ovos armazenados por quatro dias sem viragem

F – ovos armazenados por oito dias sem viragem

G – ovos armazenados por 12 dias sem viragem

### **3.4 Incubação**

No dia anterior à incubação os ovos de todos os tratamentos foram transferidos dos pentes plásticos para as bandejas de incubação com capacidade de 96 ovos cada, as quais foram devidamente identificadas. Para cada tratamento foram utilizadas 12 bandejas de incubação.

Antes da incubação dos ovos cada bandeja foi pesada individualmente.

Os ovos dos sete tratamentos foram incubados juntos em incubadora Casp Cmg 125HT, estágio múltiplo, com capacidade para 124.416 ovos cada, sob temperatura de 37,4°C (99,4°F) e umidade relativa de 58% (82°F). Foram incubados 8064 ovos, em bandejas distribuídas aleatoriamente na mesma incubadora no mesmo dia.

Aos 14 dias de incubação foi realizada ovoscopia de todos os ovos para a retirada dos inférteis ou com mortalidade embrionária precoce.

### **3.5 Transferência da incubadora para o nascedouro**

A transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro foi feita com 456 horas de incubação (19 dias). Neste momento, todos os ovos foram vacinados *in ovo* contra a doença de Marek e Gumboro e todas as bandejas de incubação foram pesadas individualmente. Após a vacinação, os ovos foram transferidos para as bandejas de

eclosão que continuaram sendo devidamente identificadas de acordo com os tratamentos.

O nascedouro utilizado neste experimento foi modelo Casp G 21HT com capacidade para 20736 ovos. Os ovos foram mantidos com temperatura e umidade relativa média de 98,5°F (36,9°C) e 88°F (31°C), respectivamente.

### **3.6 Nascimento dos pintos**

Com o objetivo de não prejudicar o nascimento dos pintinhos provenientes de ovos armazenados por um período prolongado, a retirada das aves do nascedouro foi realizada com 510 horas de incubação, seis horas a mais do que usualmente é utilizado. Os carrinhos com as bandejas foram retirados dos nascedouros e encaminhados para a sala de pintos.

Nesta sala, os pintos foram contados e colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos e repetições. O número de ovos não eclodidos de cada bandeja foi registrado. Os ovos não eclodidos foram quebrados e examinados para determinação da fase em que ocorreu a mortalidade embrionária incluindo observações sobre anormalidades de formação e contaminações.

### **3.7 Variáveis analisadas**

#### **3.7.1 Parâmetros de qualidade dos ovos**

##### **3.7.1.1 Unidades Haugh (UH)**

No dia da incubação, 30 ovos de cada tratamento foram pesados individualmente em balança de precisão de 0,01g. Em seguida estes ovos foram quebrados em mesa com superfície plana para mensuração da altura do albúmen, utilizando-se um aparelho específico medidor de Unidades Haugh (UH) – Ames modelo S-8400, Massachusetts, EUA (Haugh, 1937). A mensuração foi feita no albúmen denso o mais próximo da chalaza possível. Diante do peso do ovo e a altura do albúmen, o aparelho já converte os dados para o valor de UH.

##### **3.7.1.2 pH do albúmen**

Após a determinação do valor de UH, os mesmos ovos foram utilizados para medir o pH do albúmen. A separação da gema e do albúmen foi feita manualmente. O albúmen separado foi colocado em recipiente de plástico e assim o eletrodo do pHmetro ( Sentron® 1001) foi introduzido, até que a leitura fosse feita.

### **3.7.1.3 Peso relativo da gema, albúmen e casca**

Para as avaliações dos componentes dos ovos foram utilizados 210 ovos, os mesmos pesados anteriormente (30 ovos por tratamento). A separação da gema foi feita manualmente e, após este procedimento, esta foi pesada individualmente. As cascas foram lavadas em água corrente para a retirada dos resíduos do albúmen e secas em temperatura ambiente por 24 horas antes da pesagem individual. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo inteiro e o peso da gema e da casca. A balança utilizada nas pesagens dos componentes dos ovos tinha precisão de 0,01g.

Os pesos dos componentes dos ovos foram registrados em valores absolutos e os pesos relativos foram calculados pela divisão entre o peso do componente e o peso do ovo, expresso em porcentagem.

### **3.7.2 Rendimento de Incubação**

#### **3.7.2.1 Perda de peso dos ovos durante o armazenamento**

A perda de peso dos ovos foi determinada pesando os pentes de ovos no dia da coleta (retirando-se a tara) de cada tratamento e no dia da incubação. O percentual de perda de peso dos ovos foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{(\text{Peso dos ovos no dia da postura} - \text{Peso dos ovos no dia da incubação}) \times 100}{\text{Peso dos ovos no dia da postura}}$$

#### **3.7.2.2 Perda de peso dos ovos durante incubação**

A perda de peso dos ovos foi determinada por pesagem individual de todas as bandejas (menos a tara) de cada tratamento antes dos ovos serem colocados na incubadora e no momento em que foram transferidos para os nascedouros. O percentual de perda de peso dos ovos foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{(\text{Peso dos ovos no dia da incubação} - \text{Peso dos ovos no dia da transferência}) \times 100}{\text{Peso dos ovos no dia da incubação}}$$

#### **3.7.2.3 Ovos inférteis e mortalidade inicial observada na ovoscopia**

No 14º dia de incubação, todas as bandejas do experimento foram colocadas uma a uma em um ovoscópio posicionado no corredor da sala de incubação. Os ovos claros foram retirados e quebrados, sendo identificados os ovos inférteis e aqueles com

embriões mortos. Os dados foram registrados para posteriormente serem incluídos na análise final de mortalidade embrionária e fertilidade.

#### **3.7.2.4 Taxa de eclosão em relação ao total de ovos incubados**

A taxa de eclosão em relação ao total de ovos incubados, expressa em percentual, foi calculada dividindo-se o número total de pintos nascidos pelo número total de ovos incubados, e multiplicando-se por 100.

#### **3.7.2.5 Peso dos pintos no momento da eclosão**

Os pintos nascidos foram colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos e repetições. Os pintos de cada caixa foram contados e pesados, em conjunto de aproximadamente 70 aves, com o uso de uma balança de precisão de 5g. Para se determinar o peso médio dos mesmos, foi dividido o peso da caixa (menos a tara) pelo número de pintos da mesma.

#### **3.7.2.6 Mortalidade embrionária e ovos inférteis através de embriodiagnóstico**

A determinação das idades em que ocorreram as mortalidades embrionárias e a identificação dos ovos inférteis foi realizada ao final do período de incubação em todos os ovos não eclodidos de cada repetição dos tratamentos. Estas avaliações foram feitas de acordo com os critérios utilizados na rotina do incubatório. A caracterização dos ovos não eclodidos foi a seguinte:

- ovos inférteis;
- ovos com embriões que morreram no início da incubação (0 a 7 dias);
- ovos com embriões que morreram entre 8 a 14 dias de incubação (mortalidade intermediária);
- ovos com embriões que morreram entre 15 a 21 dias de incubação (mortalidade tardia);
- ovos bicados com embriões vivos e mortos;
- ovos contaminados (dos quais os embriões morreram devido à contaminação bacteriana ou fúngica) e desidratados (devido a trincas da casca ocorridas durante o processo);

Segundo Plano e Matte (2013), ovos bicados não eclodidos são aqueles cujos pintos bicaram a casca, mas não eclodiram totalmente e que no momento do embriodiagnóstico ainda poderiam estar vivos. Ovos trincados são aqueles que ao serem

abertos no embriodiagnóstico apresentam o conteúdo desidratado ou ausência de conteúdo devido a fissuras na casca durante a manipulação, com conseqüente perda excessiva de água. Os ovos podem ser contaminados por bactérias ou fungos. A contaminação fúngica se caracteriza pela cor verde-azulada do interior do ovo ou pela observação direta das colônias de fungos. A contaminação por bactérias produz um odor fétido característico e alterações da coloração e dos tecidos.

Após esta análise, os dados de mortalidade inicial e ovos inférteis obtidos aos 14 dias na ovoscopia foram somados, sendo então calculados o percentual de mortalidade embrionária em relação número de ovos incubados e o percentual de fertilidade em relação ao total de ovos incubados.

### **3.8 Análise estatística dos dados**

Os dados com distribuição de probabilidade normal e variâncias homogêneas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As variáveis: ovos inférteis, mortalidade inicial e mortalidade final sofreram transformação logarítmica. Os dados que violaram o princípio de normalidade foram avaliados por meio de estatística não-paramétrica, analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. Para a comparação do tratamento controle com cada um dos demais tratamentos, foram estabelecidos contrastes ortogonais submetidos posteriormente à análise de variância. Utilizou-se o programa estatístico SAS (1999).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Parâmetros de qualidade dos ovos**

Os resultados referentes aos parâmetros de qualidade dos ovos férteis estão apresentados nas tabelas 1 a 5. Estes dados foram coletados no dia da incubação após o armazenamento dos ovos.

Tabela 1. Valores de peso do ovo (PO), peso relativo da gema (PG), peso relativo do albúmen (PA), peso relativo da casca (PC), Unidades Haugh (UH) e pH do albúmen (pHA) de acordo com o período de armazenamento e a viragem ou não dos ovos durante o armazenamento

	<b>PO (g)</b>	<b>PG (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>PC (%)</b>	<b>UH</b>	<b>pHA</b>
<b>Viragem</b>						
Com viragem	67,10	32,56	58,18	9,26	69	9,12
Sem viragem	66,90	32,34	58,32	9,10	67	9,26
<b>Tempo (dias)</b>						
4	68,04	32,12	58,97 a	8,55	73 a	9,16
8	66,46	32,83	57,76 b	9,41	69 b	9,23
12	66,50	32,39	58,03 b	9,57	63 c	9,19
<b>Análise de variância</b>						
Viragem (V)	0,66	0,46	0,64	0,04	0,14	0,0011
Tempo (T)	0,01	0,12	0,002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
VxT	0,02	0,89	0,62	<0,0001	0,07	<0,0001
CV (%)	4,82	5,96	3,37	5,68	13,71	0,90

Médias seguidas de letras distintas na coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

CV= coeficiente de variação, em percentual.

O peso do ovo não sofreu influência da viragem ( $p > 0,05$ ), mas foi afetado pelo tempo de armazenamento ( $p \leq 0,05$ ). O peso dos ovos armazenados por quatro dias foi superior que o peso dos ovos armazenados por oito e 12 dias e estes foram semelhantes entre si. Este fato pode ser explicado pela pesagem dos ovos terem sido realizadas no dia da incubação e, por isso, os ovos que permaneceram mais tempo armazenados perderam maior quantidade de água por evaporação. Estes dados estão de acordo com Akyurek e Okur (2009), que afirmam que a perda de peso dos ovos durante o armazenamento é influenciada pela idade da galinha, tempo e temperatura de armazenamento e que quanto maior o período de armazenamento maior é a perda de peso do ovo. De acordo com os resultados apresentados na tabela 1, houve interação

significativa entre tempo de armazenamento e viragem e o desdobramento desta interação é demonstrado na tabela 2.

Tabela 2. Peso do ovo (g) em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos

<b>Tempo Armazenamento (dias)</b>	<b>Peso do Ovo (g)</b>	
	<b>Sem</b>	<b>Com</b>
<b>4</b>	67,24 Aa	68,85 Aa
<b>8</b>	66,13 Aa	66,79 Ba
<b>12</b>	67,32 Aa	65,68 Ba

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A viragem dos ovos não influenciou o peso dos ovos ( $p > 0,05$ ). Os ovos que foram virados e armazenados por oito e doze dias apresentaram peso menor e uma possível explicação seria que a maior movimentação dos ovos favoreceria a perda de água (Tabela 2).

O peso relativo da gema não foi influenciado significativamente pelo tempo de armazenamento nem pela viragem (Tabela 1). É provável que o tempo de estocagem tenha sido insuficiente para que a passagem de água do albúmen para a gema se tornasse significativa ou o volume de água transferido foi pequeno. Hagan et al. (2013) demonstraram que o armazenamento dos ovos por até 20 dias não foi capaz de alterar o peso relativo da gema o que pode justificar o resultado encontrado neste trabalho já que o maior período de armazenamento utilizado foi de 12 dias. Entretanto, Jin et al. (2011) observaram que com o aumento do período e da temperatura de armazenamento houve aumento do peso relativo da gema. Como os ovos foram armazenados nas mesmas condições de temperatura e umidade e o período de armazenamento utilizado foi de até doze dias não era esperado encontrar diferenças significativas no peso relativo da gema.

O peso do albúmen foi maior ( $p \leq 0,05$ ) para os ovos armazenados por quatro dias quando comparado com os ovos armazenados por oito e 12 dias (Tabela 1). Este resultado está de acordo com os resultados encontrados por Silversides e Scott (2001) os quais observaram que longos períodos de armazenamento resultam em maiores pesos relativos de casca e gema e menores de albúmen. Durante o armazenamento ocorrem alterações no albúmen que podem favorecer o desenvolvimento embrionário, como a

redução de sua viscosidade. O ovo com o albúmen liquefeito perde mais água por evaporação o que contribui para redução do seu peso relativo (Souza Soares e Siewerdt, 2005).

Houve interação significativa entre tempo de armazenamento e viragem para o peso relativo da casca ( $p \leq 0,05$ ). O desdobramento da interação é apresentado a seguir na tabela 3.

Tabela 3. Peso relativo da casca (%) em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos

<b>Tempo Armazenamento (dias)</b>	<b>Peso Relativo da Casca (%)</b>	
	<b>Viragem</b>	
	<b>Sem</b>	<b>Com</b>
<b>4</b>	9,01 Ba	8,09 Bb
<b>8</b>	9,21 Bb	9,60 Aa
<b>12</b>	9,56 Aa	9,59 Aa

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Para os ovos que não foram virados, o aumento do período de armazenamento promoveu um aumento do peso relativo da casca e a diferença significativa foi encontrada ao comparar os ovos com quatro e oito dias de armazenamento com os ovos armazenados doze dias (Tabela 3). Este fato pode ser justificado pela diminuição do peso do albúmen com o aumento do armazenamento o que faz com que a casca represente uma proporção maior do ovo. Quando se observa os ovos que foram virados, este comportamento se manteve, no entanto, o peso relativo da casca se tornou estatisticamente superior a partir de oito dias de armazenamento (Tabela 3). A viragem pode ter acelerado a perda de água do albúmen e com isso a casca apresentou peso relativo maior precocemente. Para os ovos armazenados por quatro dias, a viragem proporcionou menor peso relativo da casca e para os ovos armazenados por doze dias não houve diferença (Tabela 3). Este fato provavelmente ocorreu devido à forma aleatória de escolhas das amostras sem fixar uma faixa de peso do ovo para proceder a análise. Já a viragem dos ovos durante o armazenamento por oito dias apresentou maior peso relativo da casca supostamente por ter reduzido o peso relativo do albúmen ao aumentar a perda de água.

O valor de UH dos ovos não apresentou influência da viragem durante o armazenamento (Tabela 1). Contudo, à medida que o tempo de armazenamento aumentou o valor de UH diminuiu (Tabela 1). Como a avaliação deste parâmetro é realizada com base no peso do ovo e na altura do albúmen, era esperado que houvesse redução destes valores com o aumento do tempo de armazenamento, pois o albúmen se liquefaz durante o armazenamento (Silversides e Scott, 2001; Tona et al. 2004; Oliveira e Oliveira, 2013).

Figueiredo et al. (2011) avaliaram os parâmetros de qualidade de ovos de consumo provenientes de poedeiras novas e velhas, armazenados de um a 15 dias em ambiente refrigerado (2,6°C) e sem refrigeração (26°C) e observaram redução linear significativa de UH ao longo do período de armazenamento, sendo este efeito mais pronunciado nos ovos provenientes de galinhas velhas. A redução significativa ( $p < 0,05$ ) de UH com o aumento do período de armazenamento pôde também ser observada neste trabalho.

Para a variável pH do albúmen houve interação significativa entre tempo de armazenamento e viragem (Tabela 1). O desdobramento desta interação é apresentado na tabela 4.

Tabela 4. pH do albúmen em função do tempo de armazenamento e viragem ou não dos ovos

Tempo Armazenamento (dias)	pH Álbumen	
	Viragem	
	Sem	Com
4	9,30 Ab	9,02 Ba
8	9,31 Ab	9,15 Aa
12	9,18 Ba	9,20 Aa

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

O pH do albúmen dos ovos que foram virados e que permaneceram armazenados por oito e 12 dias foi significativamente menor quando comparado com o pH do albúmen dos ovos armazenados pelo mesmo período mas que não foram virados (Tabela 4). Este fato demonstra que a viragem dos ovos pode ter influenciado no pH do albúmen. No entanto, com doze dias de armazenamento virar ou não os ovos não

refletiu em alteração no pH do albúmen (Tabela 4). Para os ovos submetidos à viragem, o pH do albúmen aumentou à medida que o tempo de armazenamento aumentou (Tabela 4), o que era esperado, já que de acordo com Silversides e Scoot (2001), a altura do albúmen diminui e o pH aumenta com o aumento do período de armazenamento. Os ovos que não foram virados apresentaram um comportamento inverso, aos doze dias de armazenamento o valor do pH do albúmen foi significativamente menor quando comparado com os ovos armazenados por oito e quatro dias. Não foi encontrado nenhum relato na literatura que justificasse o ocorrido.

Na tabela 5 são apresentados os resultados do tratamento controle (um dia de armazenamento sem viragem) com cada um dos demais tratamentos que não foram submetidos a viragem de forma isolada.

Tabela 5. Peso do ovo, peso relativo da gema, peso relativo do albúmen, peso relativo da casca, UH e pH do albúmen de todos os tratamentos e a comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade (p)

<b>Tratamentos*</b>	<b>Peso do Ovo (g)</b>	<b>Peso da Gema (%)</b>	<b>Peso Albúmen (%)</b>	<b>Peso Casca (%)</b>	<b>UH</b>	<b>pH Albúmen</b>
<b>A</b>	69,22	32,22	59,06	8,72	81	8,72
<b>B</b>	68,85	32,17	58,81	9,01	73	9,01
<b>C</b>	66,13	32,90	57,89	9,20	69	9,20
<b>D</b>	67,32	32,60	57,85	9,56	66	9,56
<b>E</b>	67,23	32,07	58,12	8,99	73	8,99
<b>F</b>	66,79	32,77	57,63	9,60	69	9,60
<b>G</b>	65,68	32,19	58,21	9,59	59	9,59
<b>A x E</b>	<0,05	0,27	0,63	0,11	<0,05	<0,05
<b>A x F</b>	<0,05	0,95	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<b>A x G</b>	<0,05	0,92	0,10	<0,05	<0,05	<0,05
<b>CV (%)</b>	4,67	5,97	3,45	7,90	12,80	1,25

\*A = ovos armazenados por um dia sem viragem; B = ovos armazenados por quatro dias com viragem; C = ovos armazenados por oito dias com viragem; D = ovos armazenados por doze dias com viragem; E = ovos armazenados por quatro dias sem viragem; F = ovos armazenados por oito dias sem viragem, G = ovos armazenados por doze dias sem viragem. A x B; A x C; A x D; A x E; A x F; A x G = contrastes ortogonais. CV = coeficiente de variação.

O peso do ovo do tratamento controle (A) foi diferente ( $p < 0,05$ ) de todos os contrastes ortogonais testados (Tabela 5) o que já era esperado, pois os ovos do tratamento A permaneceram armazenados por apenas um dia, então a perda de água foi menor e conseqüentemente o peso do ovo maior.

Ao comparar os pesos relativos da gema do tratamento A com cada um dos demais tratamentos não foi encontrada diferença estatística (Tabela 5). Estes resultados estão de acordo com os resultados que Samli et al. (2005) encontraram ao avaliar o peso da gema de ovos armazenados por dois, cinco e dez dias, armazenados em diferentes temperaturas (5°C, 21°C e 29°C). Estes autores observaram que o tempo de armazenamento não influenciou significativamente no peso da gema, mas houve influência da temperatura de armazenamento. Como os ovos utilizados neste trabalho permaneceram armazenados nas mesmas condições de temperatura e umidade esta seria uma possível explicação para os dados encontrados.

O peso relativo do albúmen do tratamento F foi menor ( $p < 0,05$ ) que o peso relativo do albúmen do tratamento A (Tabela 5) devido a perda de água que ocorre no albúmen durante o armazenamento. Esta diferença de peso só foi significativa com oito dias de armazenamento, apesar do peso do albúmen dos ovos armazenados por doze dias apresentarem valor de  $p$  próximo ao nível de significância ( $p = 0,10$ ). Esses resultados se assemelham aos encontrados por Hagan et. al. (2013) que comparando o peso relativo do albúmen de ovos frescos com ovos armazenados por cinco, dez, 15 e 20 dias, observaram que o peso do albúmen dos ovos frescos foi maior que o peso do albúmen dos ovos armazenados.

De acordo com a tabela 5, o peso relativo da casca dos ovos do tratamento A foi menor ( $p \leq 0,05$ ) que os pesos relativos da casca dos ovos dos tratamentos F e G. Este fato pode ser justificado pela diminuição do peso do albúmen com o aumento do tempo de armazenamento o que faz com que a casca represente uma proporção maior do ovo. Figueiredo et al. (2011) observaram que ao comparar o peso relativo da casca de ovos armazenados refrigerados e ovos armazenados em temperatura ambiente, o peso relativo da casca de ovos armazenados em temperatura ambiente foi maior que o peso relativo da casca de ovos estocados refrigerados e os autores atribuíram essa diferença a maior perda de peso do albúmen.

As UH e o pH do albúmen do tratamento controle (A) diferiram ( $p \leq 0,05$ ) de todos os tratamentos (Tabela 5). De acordo com Silversides e Scott (2001) o armazenamento dos ovos diminui a altura do albúmen, e conseqüentemente as UH, e aumenta o pH do

albúmen. Este fato foi confirmado neste trabalho em que o tratamento controle (ovos armazenados por um dia) apresentou maior UH e menor pH do albúmen.

#### 4.2 Rendimento de Incubação

Os resultados referentes ao rendimento de incubação são apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Perda de peso dos ovos durante o armazenamento (PPA), perda de peso na incubação (PPI), eclosão total e peso do pinto (PP), de acordo com o período de armazenamento e a viragem ou não dos ovos

Fatores	PPA (%)	PPI (%)	ECLOSÃO (%)	PP (g)
<b>Viragem</b>				
Com viragem	1,06	12,57	81,97 a	47,59
Sem viragem	1,19	12,29	79,95 b	47,53
<b>Tempo (dias)</b>				
4	0,58 b	12,46	84,02 a	47,60
8	1,30 a	12,48	82,32 a	47,39
12	1,50 a	12,35	76,53 b	47,68
<b>Análise de variância</b>				
Viragem (V)	0,32	0,09	0,04	0,75
Tempo (T)	<0,0001	0,79	<0,0001	0,51
VxT	0,55	0,29	0,21	0,17
CV (%)	37,38	5,53	5,22	1,83

Médias seguidas por letras distintas, na coluna diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A perda de peso dos ovos durante o armazenamento sofreu efeito do tempo. Ovos armazenados por oito e doze dias apresentaram perda de peso semelhante ( $p > 0,05$ ) e maior que os ovos armazenados por quatro dias (Tabela 6). A perda de peso durante o armazenamento não foi afetada pela viragem dos ovos. Ao armazenar ovos de matrizes velhas (58 semanas) e novas (32 semanas) por sete e 14 dias, Lima et al. (2012) demonstraram que a perda de peso dos ovos durante o armazenamento é maior quanto maior o tempo de estocagem dos ovos, independente da idade da matriz. Neste mesmo trabalho, os autores demonstraram que o armazenamento dos ovos com a ponta fina

virada para cima proporcionou uma menor perda de peso durante o armazenamento, o que não ocorreu neste trabalho, apesar dos ovos permanecerem com a ponta fina virada para cima em alguns dias já que a viragem dos ovos ocorria a cada 24 horas. Tanure et al. (2009) também observaram maior perda de peso dos ovos durante o armazenamento quando estes foram armazenados por sete dias comparados com o ovos armazenados por cinco e três dias.

Com relação à perda de peso dos ovos que ocorreu durante a incubação, não houve diferença ( $p>0,05$ ) entre os períodos de armazenamento e a viragem ou não dos ovos (Tabela 6). Este resultado era esperado, pois todos os ovos foram incubados na mesma máquina com a mesma temperatura e transferidos para o nascedouro no mesmo momento. Fasenko et al. (2001) avaliaram o efeito do pré-aquecimento dos ovos antes do armazenamento em ovos estocados por quatro e catorze dias sobre a perda de peso durante a incubação. Para cada tempo de armazenamento foi utilizado um grupo controle, ou seja, que não foi submetido à pré-incubação. Para todos os tratamentos, a perda de peso durante a incubação foi semelhante, demonstrando que esta variável sofre maior influência de fatores inerentes a incubação como temperatura, umidade e tempo o que justifica os resultados encontrados no trabalho com relação a esta variável.

A eclosão dos ovos férteis foi influenciada pelo tempo de armazenamento e pela viragem dos ovos, apesar da interação não ter sido significativa ( $p>0,05$ ). A viragem dos ovos uma vez ao dia, em um ângulo de  $180^\circ$  durante o armazenamento, melhorou a eclosão em 2,02% quando comparado à eclosão dos ovos que não foram virados (Tabela 6). Elibol et al. (2002) demonstraram que a viragem dos ovos em um ângulo de  $90^\circ$  quatro ou vinte e quatro vezes ao dia foi capaz de melhorar a eclosão em 1,7% e 3,1% respectivamente, comparado com os ovos não virados. De acordo com estes autores, quando o ovo é armazenado há uma alteração das proteínas da membrana da casca. Esta mudança pode afetar a forma como a membrana corioalantóide interage com a membrana interna da casca. Sugere-se que o armazenamento dos ovos com a ponta fina virada para cima ou a viragem durante o armazenamento reduz os efeitos prejudiciais do armazenamento sobre as membranas da casca o que facilita o desenvolvimento normal da membrana corioalantóide quando o ovo é incubado. Esta explicação poderia justificar a maior eclosão dos ovos quando estes são submetidos à viragem. Resultados contrários foram descritos por Maeda et al. (2005), os quais comprovaram que a rotação dos ovos em um ângulo de  $45^\circ$  por duas vezes ao dia em ovos armazenados por uma,

duas, três ou quatro semanas não foi eficaz em melhorar a eclosão quando comparado com ovos que não foram submetidos a este manejo.

Lima et al. (2012) compararam a eclosão de ovos armazenados por sete e 14 dias com a ponta fina do ovo virada para cima ou com a ponta fina virada para baixo, de ovos provenientes de matrizes novas e velhas, e obtiveram resultados de eclosão melhores quando estes ovos foram armazenados com a ponta fina virada para cima, independente da idade da matriz e do tempo de armazenamento.

Brake et al. (1997) afirmaram que a maior eclosão dos ovos quando estes são armazenados com a ponta fina virada para cima, provavelmente, está associada com o posicionamento mais central da gema, assim como a localização do blastoderme na posição equatorial do ovo. Os autores também relatam que em ovos de matrizes mais velhas o blastoderma tende a se deslocar da região equatorial do ovo devido a menor espessura do albúmen nestas aves. Como o lote de matriz utilizado no experimento era de aves mais velhas (55 semanas) pode ser que a viragem dos ovos durante o armazenamento foi capaz de manter a gema mais centralizada o que favoreceu a maior a eclosão.

O período de armazenamento influenciou a eclosão dos ovos ( $p \leq 0,05$ ). Ovos armazenados por quatro e oito dias apresentaram eclosão semelhantes entre si ( $p > 0,05$ ) e diferentes dos ovos armazenados por doze dias (Tabela 6). Lapão et al. (1999) estudaram o efeito do período de armazenamento (zero, quatro e oito dias) e da idade da matriz (32, 42, 54 e 59 semanas) sobre a eclosão dos ovos. A eclosão total dos ovos armazenados por quatro e oito dias foram estatisticamente diferentes independente da idade da matriz, o que não ocorreu neste trabalho. Esta divergência entre os resultados dos trabalhos pode ser explicada pelas condições do ambiente de armazenamento diferentes, linhagem ou manejo que os ovos receberam durante a estocagem (viragem). A menor eclosão sobre o número de ovos férteis foi encontrada nos ovos estocados por oito dias, e este efeito foi mais pronunciado nos ovos de matrizes velhas devido a maior mortalidade embrionária. A perda na eclosão já se inicia no primeiro dia após a postura possivelmente pela perda na qualidade do albúmen (Lapão et al., 1999).

Tona et al. (2004) avaliaram a eclosão de ovos armazenados por zero e sete dias provenientes de matrizes com 35 e 45 semanas e observaram que para os ovos de matrizes mais novas a eclosão não foi influenciada pelo tempo de armazenamento. Já para os ovos de matrizes com 45 semanas, a eclosão quando estes permaneceram armazenados por sete dias foi inferior a eclosão dos ovos sem armazenamento e os

autores atribuíram essa diferença a menor qualidade do ovo, mensurada no trabalho pelas UH.

O peso do pinto não foi influenciado pelo período de armazenamento nem pela viragem dos ovos (Tabela 6). De forma semelhante, Tona et al. (2004) não observaram efeito do período de armazenamento sobre o peso do pintinho, mas sim da idade da matriz. Pintos provenientes de matrizes mais velhas tiveram maior peso.

Na tabela 7 são apresentadas as comparações do tratamento controle (um dia de armazenamento sem viragem) com cada um dos demais tratamentos de forma isolada.

Tabela 7. Perda de peso durante o armazenamento (PPA), perda de peso durante a incubação (PPI), eclosão e peso do pinto (PP) de acordo com os tratamentos e comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade ( $p$ )

<b>Tratamentos</b>	<b>PPA (%)</b>	<b>PPI (%)</b>	<b>Eclosão (%)</b>	<b>PP (g)</b>
<b>A</b>	0,45	12,63	84,88	47,61
<b>B</b>	0,58	12,62	86,14	47,65
<b>C</b>	1,33	12,45	82,29	47,65
<b>D</b>	1,90	12,64	77,46	47,46
<b>E</b>	0,58	12,31	81,90	47,55
<b>F</b>	1,26	12,50	82,34	47,13
<b>G</b>	1,35	12,06	75,59	47,89
<b>A x E</b>	0,49	0,24	0,09	0,87
<b>A x F</b>	<0,05	0,63	0,15	0,19
<b>A x G</b>	<0,05	<0,05	<0,05	0,43
<b>CV (%)</b>	37,38	5,32	5,17	1,82

A = ovos armazenados durante um dia sem viragem; B = ovos armazenados por quatro dias com viragem; C = ovos armazenados por oito dias com viragem; D = ovos armazenados por doze dias com viragem; E = ovos armazenados por quatro dias sem viragem; F = ovos armazenados por oito dias sem viragem, G = ovos armazenados por doze dias sem viragem. A x B; A x C; A x D; A x E; A x F; A x G = contrastes ortogonais. CV = coeficiente de variação.

A perda de peso durante o armazenamento diferiu ( $p \leq 0,05$ ) entre o tratamento controle (A) e os tratamentos F e G (Tabela 7). Já o armazenamento dos ovos por quatro dias não foi diferente do tratamento A ( $p > 0,05$ ).

Maeda et al. (2005) ao avaliarem a perda de peso dos ovos durante o armazenamento observaram diferença ( $p \leq 0,05$ ) entre os ovos que não foram armazenados e os que foram armazenados por sete, 14 e 21 dias. Ao comparar os resultados de Maeda et al. (2005) com os dados do presente trabalho pode-se inferir que, a perda de peso durante o armazenamento não é afetada por um período de armazenamento de até quatro dias, mas a partir de sete dias esta perda de peso tende a ser significativa ( $p \leq 0,05$ ).

De acordo com a tabela 7, a perda de peso durante a incubação foi diferente ( $p \leq 0,05$ ) apenas entre o tratamento A e o tratamento no qual os ovos permaneceram armazenados por doze dias sem viragem (tratamento G). De acordo com Schimdt e Figueredo (2003), o ovo deve perder em torno de 13% de umidade, se a perda de peso antes da incubação for excessiva, pode haver comprometimento dos resultados da incubação. Assim, como o tratamento G já havia perdido mais peso durante o armazenamento, a perda de peso durante a incubação foi menor.

A eclosão dos ovos do tratamento controle foi diferente ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos cujos ovos permaneceram armazenados por doze dias (Tabela 7). Mousa-Balabel e Saleem (2004) ao armazenarem ovos férteis da linhagem Lohmann por zero a 24 dias observaram que a redução significativa da eclosão iniciou a partir do nono dia de armazenamento. Estes resultados estão de acordo com os dados deste experimento em que a eclosão dos ovos armazenados por um, quatro e oito dias não diferiram ( $p > 0,05$ ).

De acordo com os resultados apresentados na tabela 7, o peso dos pintos não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre o tratamento controle (A) e os demais tratamentos. Como os ovos foram provenientes de um mesmo lote de matriz, com a mesma idade e submetidos ao mesmo manejo esse resultado era esperado, já que o peso do pinto, de acordo com Rocha (2007), corresponde a aproximadamente 68,3% do peso do ovo. À medida que aumenta a idade da matriz, há aumento do peso do ovo e com isso maior peso do pintinho (Rocha, 2007).

#### **4.3 Embriodiagnóstico**

Os resultados referentes ao embriodiagnóstico estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Porcentagens de ovos inférteis (INF), mortalidade inicial (Mi), mortalidade intermediária (Mint), mortalidade final (Mf), bicados vivos e mortos (BIC) e contaminados e trincados (CONT/TRI)

<b>Fatores</b>	INF*(%)	Mi*(%)	Mint***(%)	Mf*(%)	BIC***(%)	CONT/TRI** (%)
<b>Viragem</b>						
Com viragem	7,12	4,66	0,32	3,52	1,25	0,55
Sem viragem	7,32	5,50	0,32	3,96	1,26	0,85
<b>Tempo (dias)</b>						
4	7,38	3,34 b	0,09	3,11	0,83	0,61
8	6,77	4,25 b	0,57	3,43	1,30	0,35
12	7,51	7,64 a	0,31	4,69	1,62	1,16
<b>Análise de Variância</b>						
Viragem (V)	0,33	0,16	0,76	0,34	0,63	0,19
Tempo (T)	0,53	<0,05	0,09	<0,05	0,19	0,07
Interação V x T	0,43	0,70		0,03		
CV (%)	15,41	32,28	NA	25,04	NA	NA

\* Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Estes dados sofreram transformação logarítmica.

\*\* Médias seguidas nas colunas são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ).

Mi = Mortalidade inicial (0 a 7 dias)

Mint = Mortalidade intermediária (8 a 14 dias)

Mf = Mortalidade final (15 a 21 dias)

NA = Não se aplica

Quanto à fertilidade não foram observadas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 8). Este resultado era esperado, pois as matrizes pertenciam ao mesmo lote, possuíam a mesma idade, sendo, portanto, submetidas ao mesmo manejo. De acordo com Barbosa (2011b), a infertilidade aumenta a medida que as aves envelhecem. Alguns fatores podem interferir na fertilidade dos machos, tais como: a nutrição, o fotoperíodo, a temperatura ambiente, algumas patologias e o comportamento de cobertura dos galos (Rodenos et al. 2005).

Quanto à mortalidade embrionária inicial não houve efeito ( $p>0,05$ ) da viragem, apenas do tempo de armazenamento (Tabela 8). Os ovos armazenados durante doze dias apresentaram maior mortalidade embrionária inicial quando comparados com ovos armazenados por quatro e oito dias (Tabela 8). Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al (2012) em que a mortalidade embrionária inicial de ovos armazenados por 14 dias foi maior ( $p\leq 0,05$ ) que a mortalidade inicial de ovos armazenados por sete dias. De acordo com Mousa-Balabel e Saleem (2004) a mortalidade embrionária que ocorre com o aumento do período de armazenamento se concentra nas primeiras 48 a 72 horas de incubação.

A mortalidade embrionária intermediária foi semelhante ( $p>0,05$ ) para todos os períodos de armazenamento e para a viragem ou não dos ovos durante a estocagem (Tabela 8). Segundo Boleli (2013) as principais causas de mortalidade embrionária intermediária estão relacionadas com temperatura e umidade impróprias de incubação, contaminação dos ovos e deficiências de algumas vitaminas (B2, D, ácido pantotênico). Como os ovos foram incubados em uma mesma máquina e as matrizes receberam a mesma ração não era esperado encontrar diferenças na mortalidade embrionária intermediária.

Com relação ao percentual de ovos bicados mortos e vivos apresentados não houve diferença significativa entre os tratamentos. O ovo estocado pode apresentar maior período de incubação devido ao atraso no desenvolvimento embrionário (Reis et al., 1997). A utilização de seis horas a mais de incubação (510 horas) pode ter contribuído para que o número de ovos bicados fosse menor nos tratamentos com períodos de armazenamentos prolongados.

Quanto ao percentual de ovos contaminados e trincados não foi encontrada diferença ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 8).

Com relação à mortalidade embrionária final foi encontrada diferença entre os períodos de armazenamento ( $p\leq 0,05$ ), mas não entre a viragem ou não dos ovos ( $p>0,05$ ). No entanto, foi observado efeito da interação entre tempo de armazenamento e viragem (Tabela 8). O desdobramento desta interação é apresentado na tabela 9.

Tabela 9. Porcentagens da mortalidade embrionária final (15 a 21 dias) dos ovos armazenados por quatro, oito ou doze dias de acordo com os tratamentos.

Tempo Armazenamento (dias)	Mortalidade Final (%)	
	Viragem	
	Sem	Com
4	3,71 Aba	2,55 Ba
8	2,99 Ba	3,94Aba
12	5,26 Aa	4,17 Aa

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

De acordo com os dados apresentados na tabela 9, os ovos armazenados por doze dias, independentemente da viragem, apresentaram mortalidade embrionária tardia superior ( $p \leq 0,05$ ) quando comparada aos demais tratamentos, sendo estatisticamente semelhante somente a taxa de mortalidade final dos ovos armazenados por quatro dias sem viragem e oito dias com viragem. Resultados semelhantes foram encontrados por Brake et al. (2002) que ao virar os ovos por quatro ou 24 vezes ao dia, independente do tempo de armazenamento, alcançaram taxas de mortalidade embrionária final semelhantes entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Também, Lima et al. (2012) observaram que com o aumento do período de armazenamento de sete para 14 dias houve aumento ( $p \leq 0,05$ ) da mortalidade embrionária final.

Na tabela 10, estão apresentadas as comparações do tratamento controle (um dia de armazenamento sem viragem) com cada um dos demais tratamentos de forma isolada, para as variáveis analisadas no embriodiagnóstico.

Tabela 10. Percentuais de ovos inférteis (INF), mortalidade embrionária inicial (Mi), mortalidade intermediária (Mint), mortalidade embrionária final (Mf), ovos bicados vivos e mortos e de ovos contaminados e trincados (CONT/TRI) de todos os tratamentos e a comparação dos contrastes ortogonais com os respectivos valores do nível de probabilidade (p)

<b>Tratamentos</b>	<b>INF*(%)</b>	<b>Mi*(%)</b>	<b>Mint***(%)</b>	<b>Mf*(%)</b>	<b>BIC*(%)</b>	<b>CONT/TRI***(%)</b>
<b>A</b>	7,76	2,65	0,19	2,19	0,87	0,96
<b>B</b>	6,77	2,52	0,17	2,55	0,79	0,53
<b>C</b>	6,60	4,25	0,26	3,94	1,05	0,53
<b>D</b>	7,98	7,20	0,52	4,17	1,93	0,62
<b>E</b>	7,98	4,17	0,00	3,71	0,87	0,70
<b>F</b>	6,94	4,25	0,88	2,99	1,58	0,17
<b>G</b>	7,03	8,07	0,09	5,26	1,33	1,90
<b>A x E</b>	0,77	0,20	0,13	<0,05	0,79	0,55
<b>A x F</b>	0,31	0,09	<0,05	0,13	0,11	<0,05
<b>A x G</b>	0,57	<0,05	0,56	<0,05	0,24	0,15
<b>CV (%)</b>	15,05	32,42	NA	27,92	NA	NA

A = ovos armazenados durante um dia sem viragem; B = ovos armazenados por quatro dias com viragem; C = ovos armazenados por oito dias com viragem; D = ovos armazenados por doze dias com viragem; E = ovos armazenados por quatro dias sem viragem; F = ovos armazenados por oito dias sem viragem, G = ovos armazenados por doze dias sem viragem. A x B; A x C; A x D; A x E; A x F; A x G = contrastes ortogonais. CV = coeficiente de variação.

\* Contrastes realizados pelo teste de Tukey a 5%. Os dados sofreram transformação logarítmica.

\*\* Contrastes realizados pelo teste Kruskal-Wallis a 5%

NA = Não se aplica.

Com relação ao número de ovos férteis, nenhum contraste apresentou diferença significativa (tabela 10), o que era esperado, pois todos os ovos foram provenientes de um mesmo lote de matriz e o período de armazenamento ou viragem dos ovos não interfere nesta variável, como já demonstrado na tabela 8.

A mortalidade embrionária inicial do tratamento A, (ovos armazenados por um dia sem viragem), diferiu ( $p \leq 0,05$ ) apenas dos tratamentos D e G (ovos armazenados por doze dias com e sem viragem respectivamente). Resultados semelhantes foram encontrados por Sunder et al. (2010) ao avaliar a eclosão dos ovos provenientes de

matrizes com 64 semanas, quando estes permaneceram armazenados por dois, cinco, oito e onze dias. Os autores observaram que a eclosão dos ovos armazenados por dois, cinco e oito dias foram semelhantes ( $p>0,05$ ) e que apenas a eclosão dos ovos armazenados por onze dias foi estatisticamente menor. Esta menor eclosão pode estar associada a maior mortalidade embrionária inicial como o que ocorreu no experimento realizado em que a eclosão dos ovos, quando estes permaneceram armazenados por doze dias, foi menor devido a maior taxa de mortalidade inicial.

A mortalidade embrionária intermediária do tratamento A diferiu ( $p\leq 0,05$ ) apenas do tratamento F (ovos armazenados por oito dias sem viragem). Ao comparar os resultados encontrados para esta variável com os resultados encontrados para o percentual de ovos contaminados e trincados observa-se o mesmo comportamento dos dados, o tratamento A diferiu apenas ( $p\leq 0,05$ ) do tratamento F (Tabela 10).

Com relação à mortalidade embrionária final apenas os tratamentos B (ovos armazenados quatro dias com viragem) e F (ovos armazenados oito dias sem viragem) foram semelhantes ( $p>0,05$ ) ao tratamento A (tabela 10). Brake et al. (2002) encontraram diferenças ( $p\leq 0,05$ ) na taxa de mortalidade embrionária tardia em ovos armazenados por três, sete e catorze dias independente da viragem destes ovos durante o armazenamento. A mortalidade embrionária nos ovos armazenados por três dias foi estatisticamente diferente dos ovos armazenados por 14 dias e semelhante ( $p>0,05$ ) à mortalidade dos ovos armazenados por oito dias, assim como a mortalidade dos ovos armazenados por catorze e oito dias foram semelhantes ( $p>0,05$ ).

O percentual de ovos bicados vivos e mortos não diferiu ( $p>0,05$ ) em nenhuma comparação dos contrastes ortogonais utilizados (tabela 10). Provavelmente, o maior período de incubação utilizado tenha reduzido este percentual nos ovos armazenados por períodos prolongados.

## **5. CONCLUSÃO**

A viragem dos ovos, provenientes de matrizes com 55 semanas de idade, durante o armazenamento por quatro, oito e doze dias em um ângulo de  $180^\circ$ , uma vez ao dia, resulta em menor pH de albúmen, maior peso relativo da casca e maior eclosão. No entanto, o peso do ovo, o peso relativo da gema e do albúmen, as Unidades Haugh, a perda de peso durante o armazenamento e incubação e os resultados do embriodiagnóstico não diferem entre os ovos que foram submetidos à viragem durante o armazenamento e os que não foram.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHLAGHI, A.; AHANGARI, Y. J.; HASHEMI, S. R. *et al.* Prestorage in ovo injection of biological buffers: an approach to improve hatchability in long-term stored eggs. *Poultry Science*, v. 92, p.874-881, 2013.

AKYUREK, H.; OKUR, A. A. Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v.8, p.1953-1958, 2009.

BARBOSA, V. M. *Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário*. Belo Horizonte: FEP MVZ, 2011a. 124p.

BARBOSA, V. M. *Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre o status fisiológico de embriões e pintos, rendimento da incubação e desempenho da progênie*. 2011b. 118f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

BOLELI, I. C. Estresse, mortalidade e malformações: princípios básicos e implicações para o sucesso da incubação. In: MANEJO da Incubação. Jaboticabal: FACTA, 2013. Seção 2.7, p.277-202.

BRAKE, J.; WALSH, T. J.; BENTON, C. E. *et al.* Egg handling and storage. *Poultry Science*, v. 76, p.144-151, 1997.

CESARIO, M. D. Desenvolvimento embrionário pré e pós-postura: períodos críticos. In: MANEJO da Incubação. Jaboticabal: FACTA, 2013. Seção 1.3, p.48-64.

ELIBOL, O.; PEAK, S.D.; BREAK, J. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, v.81, p.945-950, 2002.

ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of egg position during three and fourteen days of storage and turning frequency during subsequent incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, v.87, 1237-1241, 2008.

FASENKO, G.M.; HARDIN, R.T.; ROBINSON, F.E. Relationship of hen age and egg sequence position with fertility, hatchability, viability and preincubation embryonic development in broiler breeders. *Poultry Science*, v. 71, p.1374-1383, 1992.

FASENKO, G.M. Egg storage and the embryo. *Poultry Science*, v.86, p.1020-1024, 2007.

FIGUEIREDO, T. C.; CANÇADO, S. V.; VIEGAS, R. P. et al. Qualidade de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.3, p.712-720, 2011.

FIUZA, M. A.; LARA, L. J. C.; AGUILAR, C. A. L. et al. Efeito das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.3, p.408-413, 2006.

HAGAN, J.K; ADJEL, I.A.; BAAH, A. Effects of extended period of storage and strain of layer on quality of chicken eggs. *Journal of Science and Technology*, v.33, n.2, p.1-11, 2013.

HAMIDU, J. A.; UDDIN, Z.; LI, M. et al. Broiler egg storage induces cell death and influences embryo quality. *Poultry Science*, v. 90, p.1749-1757, 2011.

JIN, Y. H.; LEE, K. T.; LEE, W. I. et al. Effects of storage temperature and time on the quality of eggs from laying hens at peak production. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v.24, n.2, p.279-284, 2011.

KHAN, M.J.; ABBAS, A.; AYAZ, M. et al. Effect of pre-heating and turning during storage period on hatchability and post hatch performance of broilers. *Journal of Biological Sciences*, v.1, p.1-6, 2012.

KUURMAN, W. W.; BAILEY, B. A.; KOOPS, W. J. et al. Influence of storage days on the distribution for time of embryonic mortality during incubation. *Poultry Science*, v.81, p.1-8, 2002.

LAPAO, C.; GAMA L. T.; SOARES, M. C. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poultry Science*, v. 78, p.640-645, 1999.

LIMA, J. C.S.; SILVA, P. L.; COELHO, L. R. *et al.* Effects of inverting the position of layers eggs during storage on hatchery performance parameters. *Brazilian Journal of Poultry Science*. v. 14, n.4, p.233-304, 2012.

MAEDA, T.; TIWARY, A.K. Effects of egg storage position and injection of solutions in stored eggs on hatchability in chickens (*Gallus domesticus*). *The Journal of Poultry Science*, v.42, p. 356-362, 2005.

MOUSA-BALABEL, T. M.; SALEEM, E. K. Effect of selection and duration of storage of broiler hatching eggs on hatchability percent and chick weight. *Karf El-Sheikh Veterinary Medical Journal*, v.2, n.2, p.192-208, 2004.

OLIVEIRA, B. L.; OLIVEIRA, D. D. *Qualidade e tecnologia de ovos*. Lavras: UFLA, 2013. 224p.

PISSINATI, A.; OBA, A.; YAMASHITA, F. *et al.* Qualidade interna de ovos submetidos a diferentes tipos de revestimento e armazenados por 35 dias a 25°C. *Semina: Ciências Agrárias*, v.35, n.1, p.531-540, 2014.

PLANO, C. M.; DI MATTE, A. M. Embriodiagnóstico e patologia perinatal. In: *MANEJO da Incubação*. Jaboticabal: FACTA, 2013. Seção 2.10, p.245-272.

REIJRINK, I. A. M.; VAN DUIJVENDIJK, L. A. G.; MEIJERHOF, R. *et al.* Influence of air composition during egg storage on egg characteristics, embryonic development, hatchability, chick quality. *Poultry Science*, v. 89, p.1992-2000, 2010.

REIS, L.H.; GAMA, L.T.; SOARES, M.C. Effects of short storage conditions and broiler breeder age on hatchability, hatching time, and chick weights. *Poultry Science*, v.76, p.1459-1466, 1997.

ROCHA, J. S. R. *Efeitos da idade da matriz e do tamanho do ovo sobre os pesos dos componentes dos ovos, do pinto, do saco vitelino, a uniformidade, o desempenho e o rendimento de abate do frango de corte*. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

ROCHA, J. S. R.; BAIAO, N.C.; BARBOSA, V. M. et al. Negative effects of fertile eggs storage on the and the embryo and suggested hatchery management to minimise such problems. *World's Poultry Science Journal*. v.69, p.35-44, 2013a.

ROCHA, J.S.R.; BARBOSA, V.M.; LARA, L.J.C. et al. Efeito do armazenamento e da cantaxantina dietética sobre a qualidade do ovo fertile e desenvolvimento embrionário. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65,p.792-800,2013b.

RODENAS, C. E. O.; MURGAS, L. D. S.; MACIEL, M. P. et al. Características seminais de galos alimentados com rações suplementadas com diferentes oleos e níveis de vitamina E. *Ciencia e Agrotecnologia*, v.29, n.1, p.160-167, 2005.

SALIM, H. E.; AGMA, A.; SENKOYLU, N. Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 14, p. 548-553, 2005.

SAS/STAT User's guide. Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

SEIBEL, N. F.; BARBOSA, L. N.; GONÇALVES, P. M.; et al. Qualidade física e química de ovos de codornas alimentadas com dietas modificadas. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 64, n. 1, p. 58-64, 2005.

SCHMIDT, G.S; FIGUEIREDO,E.A.P; MONTICELLI, C.J. Incubação: estocagem de ovos férteis. *Comunicado Técnico*, Embrapa, n.303, 2003, 5p.

SILVERSIDES, F.G.; SCOTT, T.A. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Science*, v.80, p.1240-1245, 2001.

SOUZA-SOARES, L.A.; SIEWERDT, F. *Aves e ovos*. Pelotas: UFPEL, 2005. p.137.

SUNDER, G. S.; KUMAR, C. V.; PANDA, A. K. et al. Influence of energy restriction and pré-incubation holding period of eggs fertility and hatchability in aged broiler breeders. *Asian-Australian Journal Animal Science*, v. 23, n.2, p.240-245, 2010.

TANURE, C.B.G.S. *Idade da matriz e período de armazenamento de ovos incubáveis no rendimento de incubação e desempenho inicial de poedeiras comerciais*. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiás.

TANURE, C. B. G. S.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M. *et al.* Efeitos da idade da matriz leve e do período de armazenamento de ovos incubáveis no rendimento de incubação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.6, p.1391-1396, 2009.

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

TONA, K.; ONAGBESAN, O.; DE KETELAERE, B. *et al.* Effects of age of broiler breeders and egg storage on egg quality, hatchability, chick quality, chick weight and chick posthatch growth to forty-two days. *Journal of Applied Poultry Research*, v.13, p.10-18, 2004.

WALSH, T. J.; RIZK, R. E.; BRAKE, J. Effects of temperature and carbon dioxide on albumen characteristics, weight loss and early embryonic mortality of long storage hatching eggs. *Poultry Science*, v.74, p.1403-1410, 1995.