

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA**

**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**

VANESSA MICHALSKY BARBOSA

**BELO HORIZONTE
2011**

VANESSA MICHALSKY BARBOSA

**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**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia, sob orientação do Prof. Dr. Nelson Carneiro Baião e co-orientação da Profa. Dra. Ângela Maria Quintão Lana e Prof. Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins

**BELO HORIZONTE
2011**

B238e Barbosa, Vanessa Michalsky, 1977-
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 / Vanessa Michalsky Barbosa. – 2011.
117 p. : il.

Orientador: Nelson Carneiro Baião
Co-orientadores: Ângela Maria Quintão Lana, Nelson Rodrigo da Silva Martins
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia

1. Frango de corte – Criação – Teses. 2. Ovos – Qualidade – Teses. 3. Ovos – Eclodibilidade – Teses. 4. Ovos – Incubação – Teses. I. Baião, Nelson Carneiro. II. Lana, Ângela Maria Quintão. III. Martins, Nelson Rodrigo da Silva. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.508

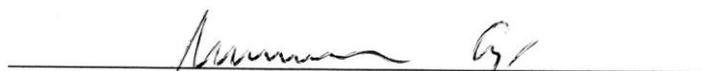
Tese defendida e aprovada em 28/02/2011, pela Comissão Examinadora constituída por:


Prof. Dr. Nelson Carneiro Baião
(Orientador)


Prof. Dr. Leonardo José Camargos Lara


Profa. Dra. Fabíola de Oliveira Paes Leme


Prof. Dr. Paulo Lourenço da Silva


Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu querido afilhado Igor, que chegou ao mundo para alegrar nossas vidas!!!

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.*

Chico Xavier

As pessoas bem sucedidas nada mais são do que gente que desenvolveu o poder de acreditar em si mesmas e naquilo que realizam.

David Schwartz

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela confiança e dedicação... vocês são simplesmente a razão de cada dia!
 À minha irmã Vivi e meu cunhado Ricardo por serem sempre meu porto seguro!
 Aos meus lindos Igor, Ana Luísa e Erick por existirem e me darem a honra de ser sua madrinha...
 À minha Vovó Maria e Tia Mariquita pelo exemplo de vida...
 A toda minha família pelo apoio e credibilidade...
 Ao querido Paulo, por ser meu companheiro, meu confidente, meu amigo... por valorizar, compreender e acreditar nos meus sonhos...
 À Fraternidade Judith Amélia e ao Orestes pelos ensinamentos...
 Ao querido professor Baião pelo exemplo, orientação, amizade e incentivo!
 Ao professor Leo, pelas palavras de estímulo, pelos valiosos conselhos e ajuda na viabilidade da tese.
 Ao professor Nelson pela co-orientação e grande empenho em acertar as metodologias do experimento.
 À professora Fabíola pela ajuda na realização das análises e interpretação dos resultados. Você abriu meus olhos para a fisiologia!
 Aos Professores Marcos Café e Paulo Lourenço, pela disponibilidade, tempo dedicado e contribuição imprescindível na banca.
 Aos meus amiguinhos Ziggy, Chalsky, Donatello e Chandom pela companhia incondicional...
 Aos meus anjinhos da guarda Leozito e Diogo, por estarem sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis!
 À querida Carol pela amizade eterna e oportunidade de lecionar na Unipac! Você me ajudou a encontrar o caminho...
 Aos amigos que sempre estarão em meu coração: Flavinha, Gleids, Lú, Brenda, Renata Crys, Walthinho, Magão, Dudu, Bru, Claudinha, Sr. João, Rê e Ana Maria.
 Aos amigos e grandes colaboradores da equipe de avicultura: Júlia, Paula Mourão, Mariana, Genilson, André, Cadu, Luíz PUC, Gerusa, Christiane, Juliana, Daniel, Diogo, Paula Cardeal, Luiz, Kamila, Sandra e Roberta pelo aprendizado, convívio e contribuição direta ou indireta na execução deste projeto.
 Ao André Fernandes, pela ajuda e profissionalismo nas fotos do desenvolvimento embrionário.
 À professora Ângela, pelo carinho e co-orientação.
 À professora Maristela (Clínica de Equinos) pelo grande apoio em emprestar o aparelho I-STAT.
 Ao professor David Lee Nelson (Faculdade de Farmácia) por disponibilizar a análise de resistência da casca.
 Ao professor Meinhart (Faculdade de Engenharia) pelo empréstimo do micrômetro.
 Aos professores Múcio e Hélio Chiarini (ICB) por viabilizar as análises de microscopia eletrônica.
 Aos professores que vêm me acompanhando e me apoiando nesta caminhada profissional: Romário, Rômulo, Norberto, Paulinho, Elias, Lívio, José Sérgio e Helton.
 À Helô, Paula e Marcos pela atenção na Secretaria e Colegiado de Pós-Graduação.
 Ao Claudinho do Departamento de Doenças das Aves, por facilitar a condução das análises.
 À Zélia e José pela hospedagem em Pará de Minas durante o experimento.
 À Granja Pif-Paf e aos seus colaboradores, especialmente ao Rodrigo, Leonardo, Clever, Marco, Guilherme, Antônio, Juliana, Viviane, Rosana e Flaviane por serem tão solícitos na concretização desta tese.
 À Granja Rio Minas, especial ao Luíz, Elácio, Alvino e Grazi, pela doação dos ovos para as fotos do desenvolvimento embrionário.
 À EV/UFGM, à Fazenda Experimental "Hélio Barbosa" e seus colaboradores, em especial ao Renato, Carlos, Iolanda, Sr. Geraldo, Dona Anita e Evaristo pela ajuda e excelente convívio durante este trabalho.
 Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

SUMÁRIO

	RESUMO	
	ABSTRACT	
1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1.	A CASCA DO OVO E SUA RELEVÂNCIA NO PROCESSO DE INCUBAÇÃO	18
2.1.1.	Estrutura da casca do ovo	18
2.1.1.1.	Membranas da casca	19
2.1.1.2.	Camada mamilar ou camada de botões mamilares	19
2.1.1.3.	Camada paliçada	20
2.1.1.4.	Camada de cristal vertical	20
2.1.1.5.	Cutícula	20
2.1.1.6.	Poros da casca	21
2.1.2.	Relação entre qualidade da casca, idade da matriz e rendimento de incubação	21
2.2.	INFLUÊNCIA DA IDADE DA MATRIZ SOBRE O PESO DO OVO E A PROPORÇÃO DE SEUS COMPONENTES	23
2.3.	FISIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	24
2.3.1.	Mudanças na composição do ovo durante a incubação	24
2.3.1.1.	Casca	24
2.3.1.2.	Conteúdo de água	25
2.3.1.3.	Conteúdo de energia e sua utilização pelo embrião	26
2.3.2.	Respiração	28
2.3.2.1.	Função respiratória durante o desenvolvimento embrionário	28
2.3.2.2.	Troca de gases entre o embrião e o ambiente externo	32
2.3.3.	Equilíbrio ácido-básico e seus mecanismos respiratórios	33
2.3.4.	Função cardiovascular	34
2.4.	A IMPORTÂNCIA DOS FATORES FÍSICOS NO AMBIENTE DAS INCUBADORAS E NASCEDOUROS	36
2.4.1.	Viragem	36
2.4.1.1.	Efeitos da duração da viragem	36
2.4.1.2.	Efeitos da frequência da viragem	38
2.4.1.3.	Efeitos do ângulo da viragem	38
2.4.2.	Umidade relativa do ar (UR)	39
2.4.2.1.	Efeitos da umidade relativa do ar sobre o rendimento de incubação e desempenho da progênie	40
2.4.3.	Temperatura	41
2.4.3.1.	Temperatura da incubadora x temperatura dos embriões	42
2.4.3.2.	Efeitos da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade	43
2.4.3.3.	Efeito da temperatura de incubação sobre o desempenho da progênie	46
2.4.4.	Ventilação	47
2.4.4.1.	Efeitos da ventilação sobre o rendimento de incubação e desempenho da progênie	48
3.	METODOLOGIA	50
3.1.	EXPERIMENTO I	50
3.1.1.	Local	50
3.1.2.	Ovos (coleta, armazenamento e seleção)	50
3.1.3.	Primeira fase experimental	50
3.1.3.1.	Tratamentos	50
3.1.3.2.	Variáveis analisadas	51
3.1.3.2.1.	Peso específico dos ovos	51
3.1.3.2.2.	Percentual de casca, gema e albúmen em relação ao peso do ovo	51
3.1.3.2.3.	Resistência da casca	52
3.1.3.2.4.	Espessura da casca	52
3.1.3.2.5.	Porosidade da casca	53
3.1.3.2.6.	Avaliação ultraestrutural das camadas da casca do ovo	53

3.1.3.3.	Delineamento experimental	54
3.1.4.	Segunda fase experimental	54
3.1.4.1.	Tratamentos	54
3.1.4.2.	Pré-incubação e incubação dos ovos	55
3.1.4.3.	Transferência da incubadora para os nascedouros	55
3.1.4.4.	Nascimento dos pintos	55
3.1.4.5.	Variáveis analisadas	56
3.1.4.5.1.	Temperatura da casca do ovo (°C) durante o período de incubação	56
3.1.4.5.2.	Ovos inférteis e embriões com mortalidade inicial observada na ovoscopia	57
3.1.4.5.3.	Perda de peso dos ovos durante o período de incubação	57
3.1.4.5.4.	Percentual de pintos nascidos, 20 e 10 horas antes da retirada no nascedouro	57
3.1.4.5.5.	Taxa de eclosão em relação ao total de ovos incubados	57
3.1.4.5.6.	Taxa de eclosão em relação ao número total de ovos férteis	57
3.1.4.5.7.	Mortalidade embrionária e ovos inférteis através de embriodiagnóstico	57
3.1.4.5.8.	Peso dos pintos no momento da eclosão	58
3.1.4.5.9.	Relação peso do pinto/peso do ovo	58
3.1.4.5.10.	Peso do coração e saco vitelino e a relação percentual destes com peso dos pintos	58
3.1.4.6.	Delineamento experimental	58
3.1.5.	Terceira fase experimental	59
3.1.5.1.	Tratamentos	59
3.1.5.2.	Variáveis analisadas	59
3.1.5.2.1.	pH sanguíneo, pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO ₂), pressão arterial de oxigênio (PaO ₂), concentração sanguínea de bicarbonato (HCO ₃ ⁻), glicose, cálcio ionizado (iCa), hemoglobina(Hb) e hematócrito (Hct) dos embriões e pintos	59
3.1.5.2.2.	Níveis plasmáticos de lactato e triglicerídeos dos embriões e pintos	60
3.1.5.3.	Delineamento experimental	61
3.2.	EXPERIMENTO II	61
3.2.1.	Local	61
3.2.2.	Instalações e equipamentos	61
3.2.3.	Aves e manejo	62
3.2.4.	Alimentação	62
3.2.5.	Tratamentos	63
3.2.6.	Variáveis analisadas	63
3.2.6.1.	Peso dos pintos no momento do alojamento	63
3.2.6.2.	Peso corporal e ganho de peso	64
3.2.6.3.	Consumo de ração	64
3.2.6.4.	Conversão alimentar	64
3.2.6.5.	Viabilidade	64
3.2.7.	Delineamento experimental	64
3.3.	Comitê de Ética em Experimentação Animal	64
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1.	EXPERIMENTO I	65
4.1.1.	Primeira fase experimental – Efeitos da idade da matriz pesada sobre a qualidade dos ovos incubáveis	65
4.1.2.	Segunda fase experimental – Efeitos da idade da matriz pesada e do momento de transferência para o nascedouro sobre o rendimento de incubação	69
4.1.3.	Terceira fase experimental – Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre os parâmetros fisiológicos dos embriões durante a incubação e dos pintos após a eclosão	78
4.2.	EXPERIMENTO II	97
5.	CONCLUSÕES	102
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

ANEXOS

Anexo 1.	Referente à Tabela 5. Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca de acordo com a idade da matriz	113
Anexo 2.	Referente à Tabela 8. Espessura da casca (mm) em função da região do ovo e da idade da matriz	113
Anexo 3.	Referente à Tabela 9. Porosidade da casca em função da região do ovo e da idade da matriz	113
Anexo 4.	Referente à Tabela 13. Peso médio dos ovos, em gramas, antes da incubação	113
Anexo 5.	Referente à Tabela 16. Percentual de pintos nascidos, 10 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	114
Anexo 6.	Referente à Tabela 19. Percentual de fertilidade em relação ao número de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	114
Anexo 7.	Referente à Tabela 21. Mortalidade embrionária, em percentual, de oito a 14 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada.	114
Anexo 8.	Referente à da Tabela 22. Mortalidade embrionária, em percentual, de 15 a 18 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada	114
Anexo 9.	Referente à Tabela 23. Mortalidade embrionária e pintos bicados, em percentual, de 19 a 21 dias, calculados sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada	115
Anexo 10.	Referente à Tabela 24. Taxa dos ovos contaminados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada	115
Anexo 11.	Referente à Tabela 25. Taxa dos ovos desidratados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição percentual da ração inicial e seus respectivos níveis nutricionais calculados	62
Tabela 2.	Composição percentual da ração de crescimento e seus respectivos níveis nutricionais calculados	63
Tabela 3.	Peso específico, percentagem de casca, gema e albúmen em relação ao peso do ovo, de acordo com a idade da matriz	65
Tabela 4.	Correlação de Pearson (r) entre peso específico e percentagem de casca em relação ao peso do ovo	65
Tabela 5.	Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca de acordo com a idade da matriz	66
Tabela 6.	Correlação de Pearson (r) entre peso do ovo, espessura e resistência da casca	66
Tabela 7.	Correlação de Spearman (r) entre peso do ovo, espessura, resistência e poros da casca	66
Tabela 8.	Espessura da casca (mm) em função da região do ovo e da idade da matriz	67
Tabela 9.	Porosidade da casca em função da região do ovo e da idade da matriz	67
Tabela 10.	Avaliação ultraestrutural da espessura (μm) da casca do ovo de acordo com as regiões e com a idade da matriz	68
Tabela 11.	Percentual das camadas da casca do ovo, em relação à espessura total da casca, de acordo com a idade da matriz	69
Tabela 12.	Temperatura da casca dos ovos ($^{\circ}\text{C}$) em função dos dias de incubação e da idade da matriz	69
Tabela 13.	Peso médio dos ovos, em gramas, antes da incubação	70
Tabela 14.	Percentagens de perda de peso dos ovos durante a incubação, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	71
Tabela 15.	Percentual de pintos nascidos, 20 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	71
Tabela 16.	Percentual de pintos nascidos, 10 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	72
Tabela 17.	Percentual de eclosão em relação ao número total de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	72
Tabela 18.	Percentual de eclosão em relação ao número de ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	72
Tabela 19.	Percentual de fertilidade em relação ao número de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	73
Tabela 20.	Mortalidade embrionária, em percentual, de zero a sete dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	73
Tabela 21.	Mortalidade embrionária, em percentual, de oito a 14 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	74
Tabela 22.	Mortalidade embrionária, em percentual, de 15 a 18 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	74
Tabela 23.	Mortalidade embrionária e pintos bicados, em percentual, de 19 a 21 dias, calculados sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	74
Tabela 24.	Taxa dos ovos contaminados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	75
Tabela 25.	Taxa dos ovos desidratados, em percentual, calculada sobre ovos férteis	75

	incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	
Tabela 26.	Peso dos pintos no momento da eclosão, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	75
Tabela 27.	Relação percentual entre o peso do pinto/peso do ovo, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	76
Tabela 28.	Peso absoluto do coração dos pintos, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	76
Tabela 29.	Relação percentual entre o peso do coração/peso do pinto de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	77
Tabela 30.	Peso absoluto do saco vitelino dos pintos, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	77
Tabela 31.	Relação percentual entre o peso do saco vitelino/peso do pinto de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	77
Tabela 32.	Valores médios de pH sanguíneo dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	78
Tabela 33.	Valores médios de pH sanguíneo dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	78
Tabela 34.	Valores médios de pH sanguíneo dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	79
Tabela 35.	Valores médios da PaCO ₂ (mmHg) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	80
Tabela 36.	Valores médios da PaCO ₂ (mmHg) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	80
Tabela 37.	Valores médios da PaCO ₂ (mmHg) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	81
Tabela 38.	Valores médios da PaO ₂ (mmHg) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	82
Tabela 39.	Valores médios da PaO ₂ (mmHg) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	82
Tabela 40.	Valores médios da PaO ₂ (mmHg) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	83
Tabela 41.	Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO ₃ ⁻ (mmol/L) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	84
Tabela 42.	Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO ₃ ⁻ (mmol/L) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	84
Tabela 43.	Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO ₃ ⁻ (mmol/L) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	85
Tabela 44.	Valores médios do hematócrito (%) de embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	86
Tabela 45.	Valores médios do hematócrito (%) de embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	86
Tabela 46.	Valores médios do hematócrito (%) de pintos recém-eclodidos, de	87

	acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	
Tabela 47.	Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	88
Tabela 48.	Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	88
Tabela 49.	Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos pintos recém- eclodidos de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	89
Tabela 50.	Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	90
Tabela 51.	Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	90
Tabela 52.	Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos pintos recém- eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	91
Tabela 53.	Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)	92
Tabela 54.	Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	92
Tabela 55.	Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	93
Tabela 56.	Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos embriões aos 19 dias de incubação e antes da bicagem interna, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	94
Tabela 57.	Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	94
Tabela 58.	Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	94
Tabela 59.	Valores médios de triglicerídeos (mg/dL) dos embriões aos 19 dias de incubação e antes bicagem interna, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	95
Tabela 60.	Valores médios de triglicerídeos (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	96
Tabela 61.	Valores médios de triglicerídeos (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	96
Tabela 62.	Peso dos pintos, em gramas, no momento do alojamento, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	97
Tabela 63.	Peso dos pintos, em gramas, aos sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	98
Tabela 64.	Peso dos pintos, em gramas, aos 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	98
Tabela 65.	Peso dos frangos, em gramas, aos 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	98
Tabela 66.	Ganho de peso dos pintos, em gramas, de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	98

Tabela 67.	Ganho de peso dos pintos, em gramas, de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	99
Tabela 68.	Ganho de peso dos frangos, em gramas, de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	99
Tabela 69.	Consumo de ração, em gramas, dos pintos de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	99
Tabela 70.	Consumo de ração, em gramas, dos pintos de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	100
Tabela 71.	Consumo de ração, em gramas, dos frangos de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	100
Tabela 72.	Conversão alimentar (kg/kg) dos pintos de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	100
Tabela 73.	Conversão alimentar (kg/kg) dos pintos de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	101
Tabela 74.	Conversão alimentar (kg/kg) dos frangos de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	101
Tabela 75.	Porcentagem de viabilidade dos frangos, de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Desenho esquemático de corte transversal da casca do ovo	18
Figura 2.	Desenho esquemático das membranas e compartimentos embrionários do embrião de galinha	27
Figura 3.	Expansão da área vasculosa em embrião de galinha com três dias de incubação	28
Figura 4.	Expansão da área vasculosa em embrião de galinha com quatro dias de incubação	29
Figura 5.	Embrião de galinha com cinco dias de incubação	29
Figura 6.	Embrião de galinha com 12 dias de incubação	30
Figura 7.	Bicagem interna em embrião de galinha com 20 dias de incubação	31
Figura 8.	Embrião de galinha iniciando a fase perinatal com a bicagem interna e terminando esta fase com a bicagem externa	31
Figura 9.	Desenho esquemático da circulação cardiovascular embrionária	35
Figura 10.	Temperatura da máquina requerida para incubação numa temperatura de casca de 37.8°C em ovos pequenos e grandes	45
Figura 11.	Produção de calor (mW) em ovos grandes e pequenos durante o período de incubação	45
Figura 12.	Equipamento utilizado para a análise do peso específico dos ovos	51
Figura 13.	Aparelho utilizado para a análise de resistência da casca do ovo	52
Figura 14.	Imagem ampliada da região correspondente a 1cm ² da casca do ovo para a contagem de poros	53
Figura 15.	Desenho esquemático da posição dos tratamentos no nascedouro	55
Figura 16.	Aparelho utilizado na análise de temperatura dos ovos	56
Figura 17.	Desenho esquemático da posição dos ovos nas bandejas onde as temperaturas foram mensuradas	56
Figura 18.	Aparelho e cartuchos utilizados nas análises dos parâmetros fisiológicos	60
Figura 19.	Análise da espessura das camadas da casca do ovo realizada através de microscopia eletrônica	68
Figura 20.	Temperatura dos ovos em função dos dias de incubação	70
Figura 21.	pH sanguíneo de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	79
Figura 22.	PaCO ₂ (mmHg) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	81
Figura 23.	PaO ₂ (mmHg) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	83
Figura 24.	HCO ₃ ⁻ (mmol/L) de embriões e pintos em diferentes momentos de	85

	incubação	
Figura 25.	Hematócrito (%) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	87
Figura 26.	Hemoglobina (g/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	89
Figura 27.	Cálcio ionizado (mmol/L) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	91
Figura 28.	Glicemia (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	93
Figura 29.	Lactato (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	95
Figura 30.	Triglicerídeos (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação	97

LISTA DE ABREVIATURAS

H ₂ CO ₃	Ácido carbônico
iCa	Cálcio ionizado
Hct	Hematócrito
Hb	Hemoglobina
HCO ₃ ⁻	Íon Bicarbonato
PaCO ₂	Pressão arterial de dióxido de carbono
PaO ₂	Pressão arterial de oxigênio
UR	Umidade relativa do ar

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro dividido em três fases experimentais. Os ovos e pintos utilizados nos experimentos foram provenientes de dois lotes de matrizes pesadas Cobb® com idades de 33 e 63 semanas, consideradas aves novas e velhas, respectivamente. Na primeira fase do Experimento I, pesquisou-se a qualidade dos ovos incubáveis. Os tratamentos foram definidos pelas duas idades das matrizes. Na segunda fase, foram realizadas avaliações relacionadas ao rendimento da incubação, e na terceira fase, foram realizadas avaliações dos parâmetros fisiológicos dos embriões durante a incubação e dos pintos após a eclosão. Os tratamentos da segunda e terceira fase do Experimento I foram definidos pela idade da matriz (33 e 63 semanas) e pelos momentos de transferência da câmara de incubação para os nascedouros (15, 17 e 19 dias). O experimento II teve como objetivo verificar os efeitos da idade da matriz pesada e do momento de transferência dos ovos da câmara de incubação para o nascedouro sobre o desempenho da progênie. Os tratamentos foram considerados os mesmos utilizados na segunda e terceira fase do experimento I. Concluiu-se que ovos de matrizes velhas têm qualidade de casca inferior aos ovos das matrizes novas. As membranas da casca nos ovos de matrizes novas são mais espessas e desempenham função relevante na qualidade da casca. Durante o último terço da incubação, os embriões demonstram ter capacidade de resposta fisiológica às diferentes condições de temperatura, umidade relativa do ar, ventilação e viragem aos quais são submetidos. Estes mecanismos permitem que, independente da idade da matriz ou dos diferentes períodos que os embriões permanecem no nascedouro, ocorra uma estabilidade no equilíbrio fisiológico dos pintos após a eclosão. Independente da idade das matrizes, a transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro aos 15, 17 ou 19 dias de incubação não interfere na mortalidade embrionária, eclodibilidade e peso dos pintos ao nascimento, assim como não há influencia no desempenho da progênie. É possível adaptar o manejo de transferência à necessidade logística do incubatório ou reduzir o período dos ovos na máquina de incubação para aumentar o fluxo de produção, sem prejuízo ao rendimento de incubação e desempenho das aves na criação.

Palavras-chave: casca do ovo, eclodibilidade, fisiologia embrionária, incubação, matrizes pesadas

ABSTRACT

Two experiments were conducted, the first being divided into three experimental phases. Eggs and chicks were used in the experiments from two batches of Cobb broiler breeders ® aged 33 and 63 weeks, considered new and old birds, respectively. In the first phase of Experiment I, looked at the quality of hatching eggs. The treatments were defined by two broiler breeder ages. In the second phase, were related to performance evaluations of incubation and the third phase, were assessed physiological parameters during incubation of embryos and chicks after hatching. The treatments of the second and third phase of Experiment I were defined by breeder age (33 and 63 weeks) and by the time of transfer of the incubation chamber for the hatchers (15, 17 and 19 days). The second experiment aimed to verify the effects of broiler breeder age and transfer time of incubation egg chamber to the hatcher on the progeny performance. The treatments were considered the same as those used in the second and third phase of the experiment I. It was concluded that eggs from older broiler breeder hens have lower quality of shell eggs than the new ones. The shell membranes in eggs of a new broiler breeder hens are thicker and play important role in shell quality. During the last third of incubation, the embryos were able to respond to different physiological conditions of temperature, relative humidity, ventilation and turning that they were submitted. These mechanisms allow, regardless of breeder age or of different periods that the embryos remain in the hatcher, that occurs stability in physiological balance of the chicks after hatching. Regardless of breeder age, the eggs transfer from the incubator to the hatcher at 15, 17 or 19 days of incubation does not interfere with embryonic mortality, hatchability and chick weight at hatch, as there is no influence on the progeny performance. It is possible to adapt the incubation transfer management to the hatchery logistics needs or reduce the period of eggs incubation in the machine to increase the flow of production, without prejudice incubation yield and bird performance in rearing.

Keywords: broiler breeders, eggshell, embryonic physiology, hatchability, incubation

1. INTRODUÇÃO

A alta demanda e o custo de produção de pintos de corte tornam imprescindível o estudo de alternativas que permitam modificar a prática de incubação de forma a maximizar a produtividade, garantindo as condições necessárias ao desenvolvimento dos embriões das linhagens atuais. Da mesma maneira, mudanças no manejo da incubação não podem afetar a qualidade dos pintos e o desempenho das aves durante a criação. Para atingir estes objetivos, vários fatores que atuam em conjunto durante a incubação artificial devem ser considerados.

A casca do ovo é um dos fatores que exerce papel fundamental neste processo, oferecendo proteção contra a invasão microbiana, controlando a troca de água e gases através dos poros e constituindo a fonte de cálcio para o embrião durante seu desenvolvimento. O êxito destas funções é dependente de sua adequada formação e de sua composição estrutural (Romanoff e Romanoff, 1949; Rahn et al., 1981; Nys et al., 1999). Entretanto, a importância de camadas do ovo como as membranas da casca e cutícula estão pouco elucidadas. De acordo com Emara (2008), além das avaliações de qualidade comumente utilizadas, o uso de microscopia eletrônica pode auxiliar na compreensão dos efeitos estruturais da casca e suas relações entre a idade da matriz, o rendimento de incubação e o desempenho da progênie.

As mudanças que ocorrem na composição do ovo durante a incubação também exercem influência na produção de pintos de um dia. Porém, há escassez de pesquisas que dão ênfase na fisiologia do desenvolvimento embrionário, incluindo não somente análises sobre as mudanças na composição do ovo, como também avaliações dos parâmetros bioquímicos e hemogasométricos dos embriões durante a incubação e dos pintos após a eclosão. Estes parâmetros atuam no equilíbrio ácido-básico e permitem compreender momentos críticos, como àqueles que antecedem as bicagens interna e externa da casca e o nascimento. As respostas dos embriões a estas fases podem influenciar parâmetros de incubação como o período e o rendimento, além de afetar a qualidade dos pintos.

Da mesma forma, os fatores físicos que atuam no ambiente das máquinas incubadoras e nos nascedouros devem estar adequados para dar suporte às exigências dos embriões nestes momentos críticos e durante todo o seu desenvolvimento. Ao longo da evolução da incubação industrial, poucas modificações têm sido realmente empregadas com esta finalidade, e ovos de aves modernas estão sendo incubados com o mesmo conceito de manejo e princípios de incubação praticados 40 anos atrás. Os avanços tecnológicos ocorridos nas máquinas de incubação ainda revelam pequeno efeito em resultados de produção.

O objetivo deste trabalho foi pesquisar fatores que atuam em conjunto no processo da incubação artificial e que têm sido pouco explorados ao longo dos últimos anos, como a influência da qualidade de casca de matrizes pesadas de diferentes idades e do momento de transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro sobre o status fisiológico de embriões e pintos, rendimento de incubação e desempenho da progênie.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A CASCA DO OVO E SUA RELEVÂNCIA NO PROCESSO DE INCUBAÇÃO

2.1.1. Estrutura da casca do ovo

A casca do ovo oferece proteção contra a invasão microbiana, controla a troca de água e gases através dos poros e constitui a fonte de cálcio para o embrião durante seu desenvolvimento. Além disto, a casca ameniza as flutuações de temperatura entre os componentes do ovo e seu ambiente externo. O êxito destas funções é dependente de sua adequada formação e de sua composição estrutural (Romanoff e Romanoff, 1949; Rahn et al., 1981; Nys et al., 1999).

Sua estrutura é perfeitamente ordenada, na qual é dividida em camadas e resulta de uma deposição sequencial de fração orgânica (3,5%) e mineral (96,5%) que ocorre nos segmentos istmo e útero da galinha, durante um período predeterminado. Seu principal componente é a calcita (uma das três formas do carbonato de cálcio) e há diferentes tipos de matrizes proteicas envolvidas no processo de mineralização da casca (Parsons, 1982; Nys et al., 1999). O suprimento de cálcio para sua formação tem origem primariamente via ração e o íon carbonato é originado do gás carbônico (CO₂) produzido pelo metabolismo da ave. A formação do íon carbonato a partir de CO₂ e H₂O é mediada pela enzima anidrase carbônica encontrada na mucosa do útero da galinha (Baião e Lúcio, 2005).

A porção orgânica da casca consiste nas membranas da casca, nos sítios mamilares de nucleação e na cutícula. A fração calcificada é composta pela camada mamilar (ou camada de botões mamilares), camada em paliçada e camada de cristal vertical (Sparks, 1985; Hamilton, 1986; Nys et al., 1999; Hunton, 2005).

De acordo com Solomon (1991), na região do istmo há secreção das membranas da casca pelas glândulas tubulares. Nesta região também se originam os sítios mamilares de nucleação, ao redor dos quais os sais de cálcio se depositam. O processo de calcificação ocorre nas porções iniciais do útero, onde começa a formação da camada mamilar. Em sequência, o ovo permanece no útero finalizando a formação da camada de botões mamilares e produzindo a camada em paliçada, a camada de cristal vertical e a cutícula (figura 1) (Chien et al., 2009).

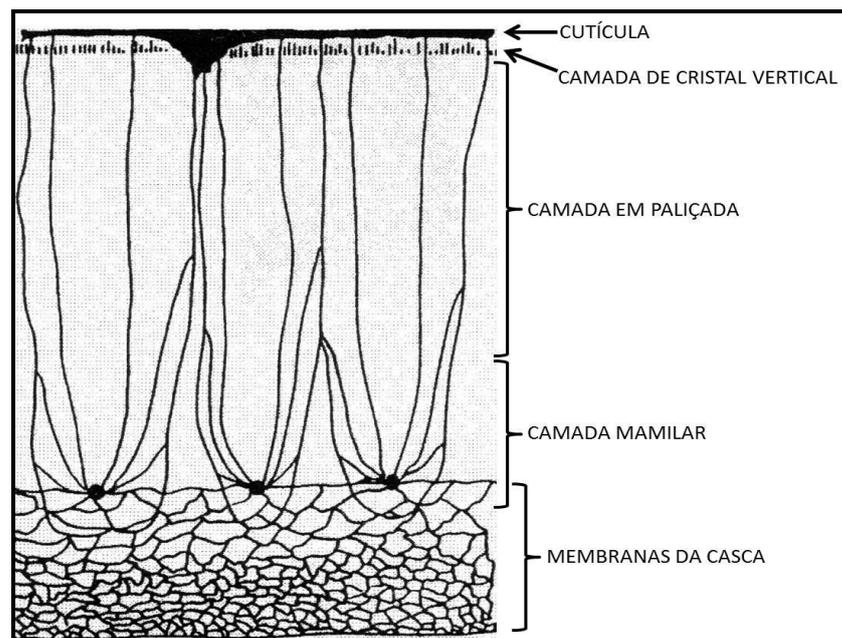


Figura 1. Desenho esquemático de corte transversal da casca do ovo. Adaptado de Parsons (1982).

2.1.2. Membranas da casca

Na sequência da formação da casca as primeiras camadas correspondem às membranas interna e externa, que se encontram ligadas exceto na região da câmara de ar. A membrana interna contorna o albúmen enquanto a membrana externa permanece ligada à porção calcificada da casca. Ambas têm aspecto de uma cadeia de fibras entrelaçadas com pequenas protuberâncias (Leach Jr., 1982; Parsons, 1982). De acordo com estudo de Britton (1977), a espessura destas membranas declina com o avanço da idade da matriz.

As membranas são semipermeáveis e permitem a troca de gases e água enquanto retém as proteínas do albúmen (Board, 1980). Segundo Krampitz e Grazer (1988), a presença destas estruturas age como um filtro contra a penetração de microorganismos e também são pré-requisitos para a mineralização da casca, visto que o crescimento de cristais é iniciado caudalmente a esta região.

Örberg (1990) avaliou a influência das membranas sobre a resistência da casca e encontrou alta correlação entre o índice de deformações na casca e a junção irregular de suas membranas, sugerindo que as mesmas contribuem para a resistência da casca provavelmente por servir como reforço a sua porção calcificada. Esta informação foi posteriormente confirmada por Solomon (1991).

Leach Jr. (1982) e Nakano et al. (2001) relataram que a principal constituição das membranas da casca é proteica, sendo a maior proporção de colágenos do tipo I, V e X. Sialoproteína e osteopontina também foram identificadas em menores quantidades. Pesquisas de Nakano et al. (1994) e Nakano et al. (2003) revelaram a presença de glicosaminoglicanos, como ácido hialurônico e sulfato de queratina. No estudo de Ha et al. (2007), a correlação encontrada entre o sulfato de queratina presente nas membranas e a resistência da casca foi relevante ($r= 0,985$ e $p<0,0005$).

Kemps et al. (2006) verificaram as características das membranas da casca e suas mudanças durante o período de produção de poedeiras, compreendido entre 33 e 78 semanas de idade das aves e observaram que a força de ligação à porção calcificada da casca e a resistência à quebra foi menor à medida que as aves foram aumentando a idade.

2.1.1.2. Camada mamilar ou camada de botões mamilares

A deposição de carbonato de cálcio na forma de calcita se inicia em agregados específicos, os chamados sítios mamilares de nucleação, que são formados nas membranas da casca e correspondem ao local de remoção de cálcio pelo embrião. Estes núcleos orgânicos consistem num complexo proteína-mucopolissacarídeo e a presença de ovoalbumina, lisozima e ovotransferrina também têm sido demonstradas nestes locais ligadas à membrana da casca (Hincke, 1995; Gautron et al., 1997; Nys et al., 1999; Panheleux et al., 1999; Chien et al., 2009).

Segundo Hodges (1974), citado por Nascimento e Salle (2003), a partir dos sítios mamilares de nucleação, os cristais de calcita crescem lateralmente formando cumes basais e o crescimento radial dá origem aos cones mamilares, completando a formação da camada mamilar. Baião e Lúcio (2005) informaram que a deficiência de manganês pode comprometer a formação desta camada, pois este mineral faz parte das moléculas de mucopolissacarídeos, que compõem a matriz orgânica da casca.

Variações nesta camada foram associadas às alterações na resistência da casca por Bunk e Balloun (1978) e Solomon (1991). Bain (1992) demonstrou que quando ocorrem quebras na casca, geralmente o início se dá na camada mamilar. Hunton (1995) citou que a densidade da camada mamilar confere grande característica de resistência à casca, sendo que quanto mais largo os botões, maior a probabilidade de ocorrerem fraturas nos espaços intermamilares. Entretanto, trabalhando com ovos de poedeiras de 30 e 58 semanas de idade, Rodriguez-Navarro et al. (2002) não encontraram

mudanças significativas na densidade da camada mamilar ou danos em sua superfície que pudessem explicar a contribuição na piora da resistência da casca relatada por estes autores.

2.1.1.3. Camada paliçada

A camada paliçada ou camada em paliçada da casca estende-se além da base da camada mamilar e termina alinhada perpendicularmente a superfície da casca numa fina camada de cristal vertical. É composta de colunas de cristais romboédricos de calcita com orifícios vesiculares e em alta magnitude tem a aparência facetada, sendo também denominada camada esponjosa (Parsons, 1982). Assim como a camada de botões mamilares, seu principal constituinte proteico é a ovocleidin-17, seguida de osteopontina (Hunton, 2005).

Bain (1992) sugeriu que a organização das colunas da camada em paliçada da casca seria o principal fator responsável pela sua rigidez e consequentemente pela sua resistência. Porém Khatar et al. (1997) demonstraram que a resistência está diretamente relacionada com a espessura da casca e como esta camada compreende cerca de dois terços da porção calcificada, alterações na espessura da mesma poderiam afetar a resistência da casca independentemente da reorganização estrutural das colunas da camada em paliçada.

Fraser et al. (1998) pesquisaram a distribuição dos orifícios vesiculares da camada em paliçada nos ovos de poedeiras com 24, 46 e 72 semanas de idade, e constataram que o declínio da qualidade da casca associado com o final de produção estava relacionado à mudança concomitante da matriz calcificada por um aumento dos orifícios vesiculares.

2.1.1.4. Camada de cristal vertical

A porção calcificada da casca encerra-se na camada de cristal vertical, que é constituída de fina camada superficial de cristais com calcita verticalmente orientada, sendo uma extensão da camada em paliçada, porém contendo uma quantidade bem menor de orifícios vesiculares. A sua posição resulta na orientação da matriz perpendicular à superfície (Simons, 1971; Parsons, 1982).

Poucos estudos têm dado importância à esta região da casca. Perrott et al. (1981) sugeriram que ocorrem mudanças nas condições de deposição de cálcio no útero no momento de formação desta camada e que este é o fator responsável pela transição das colunas da camada em paliçada para pequenos policristais com uma ordenação levemente angulada próximos à superfície, evidenciada na camada de cristal vertical.

Durante e posteriormente à deposição desta fina camada, os níveis séricos de fosfato se elevam, induzindo a interrupção da calcificação. Portanto, a formação da casca é um processo sequencial e as fases se seguem com uma duração definida depois da ovulação (Fernandez et al., 1997).

2.1.1.5. Cutícula

A cutícula caracteriza-se por um complexo orgânico lubrificante disposto na superfície mineral da casca no final de sua formação, momentos antes da postura do ovo (Board e Halls, 1973). É constituída primariamente por proteínas associadas a uma porção de polissacarídeos e lipídios (Sparks, 1994).

Fraser et al. (1999) revelaram a presença de duas camadas cuticulares, sendo que a camada interna possui vesículas compostas de hidroxiapatita e a camada externa é desprovida destas estruturas vesiculares. Conforme os autores, pesquisas demonstraram a hipótese de que o fósforo desempenha importante papel no término da formação da casca (Dennis et al., 1996; Fernandez et al., 1997), e a presença deste mineral associado à hidroxiapatita encontrada nas vesículas da cutícula reforçam esta teoria.

Esta camada é considerada a primeira linha de defesa do ovo (barreira física), prevenindo contaminações pela entrada de microorganismos e consequentemente reduzindo riscos de infecção ao embrião. Ao mesmo tempo em que a cutícula age vedando parcialmente os poros da casca para impedir a entrada de fungos e bactérias, permite a troca de gases entre o embrião e o meio ambiente e dificulta a perda excessiva de umidade do ovo (Peebles e Brake., 1985; Fraser et al., 1999).

Wellman-Labadie et al. (2008) avaliaram a atividade da cutícula contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Os autores encontraram atividade enzimática de lisozima e presença de proteínas antimicrobianas que confirmaram sua importância como agente antibacteriano. Estes pesquisadores advertiram que alterações na integridade estrutural da cutícula podem comprometer o desenvolvimento embrionário.

2.1.1.6. Poros da casca

Os poros são cavidades em forma de funis, amplos na superfície da casca e que se estreitam, formando canais que penetram as camadas de cristal e terminam em fissuras adjacentes aos botões mamilares. Os canais destes poros são irregulares, caracterizados por glóbulos que se afloram ao longo de toda sua extensão. Na superfície da casca, a abertura dos poros é vedada parcialmente pela cutícula (Parsons, 1982). Pesquisando ovos de matrizes Cobb® com 28 semanas de idade, La Scala Jr. et al. (2000) encontraram tamanhos de poros entre 1 e 10 µm.

Baxter-Jones (1991) mencionou que a casca do ovo é perfurada por cerca de 10.000 a 20.000 poros. Marques (1994) informou que a porosidade da casca varia entre 100 e 300 poros por mm², sendo este número maior na região equatorial ou no pólo mais largo do ovo onde se encontra a câmara de ar. Segundo Romanoff e Romanoff (1949), Hunton, (1995) e La Scala Jr. (2003), o maior número está na região da câmara de ar. Estes autores afirmaram que os poros terminam na membrana externa e interna da casca do ovo, que por sua vez fazem contato com a corioalantóide. Desta forma, o sangue venoso é lançado do coração do embrião e passa adjacente à última membrana, onde o processo de difusão se encarrega de enviar CO₂ para fora e oxigênio (O₂) para dentro da corioalantóide através dos poros da casca.

Vários pesquisadores partindo deste princípio consideram que o número, o comprimento e o diâmetro dos poros da casca dos ovos para incubação representam os fatores mais importantes em sua estrutura. Uma baixa concentração de poros ou o diâmetro muito pequeno dos mesmos causam dificuldades nas trocas de gases entre o embrião e o meio externo, estando estes fatores diretamente relacionados com o desenvolvimento e com a mortalidade embrionária. Uma alta concentração de poros, ou poros com diâmetros muito grandes, causa excesso de perda de calor ou desidratação, gerando em ambos os casos, um efeito negativo sobre o embrião (Tyler, 1953; Tullett e Burton, 1982; Tullett e Deeming, 1982; Burton e Tullett, 1983; Peebles e Brake, 1985; Burton e Tullett, 1985; Deeming, 1995). Segundo McLoughlin e Gous (2000), ovos produzidos por matrizes velhas são maiores, frequentemente têm a casca mais fina e maior número de poros, resultando no aumento de ovos quebrados ou contaminados, além da diminuição da eclodibilidade, sendo que o inverso acontece com os ovos de matrizes jovens.

2.1.2. Relação entre qualidade da casca, idade da matriz e rendimento de incubação

Os critérios comumente utilizados para avaliar a qualidade da casca de ovos baseiam-se nas medições do peso específico, espessura, resistência, relação entre o peso da casca e o peso do ovo e peso da casca por unidade de área; sendo que estes fatores estão altamente correlacionados entre si (Orband e Roland Sr., 1990). De acordo com Emara (2008), o uso de microscopia eletrônica tem fornecido informações relevantes sobre a composição da casca e os resultados destas análises ultraestruturais evidenciam o conceito de que as propriedades mecânicas da casca não podem ser definidas apenas pelas análises citadas anteriormente. O autor destacou que a

microscopia eletrônica pode auxiliar na compreensão dos efeitos da qualidade da casca e suas relações entre idade da matriz e rendimento de incubação.

De acordo com Hamilton (1978), o tamanho e o peso do ovo aumentam com a idade das aves, mas o peso da casca não aumenta na mesma proporção. Em consequência, à medida que a ave envelhece, a espessura da casca e sua porcentagem em relação ao peso do ovo diminuem. Brake (1996) justifica que a diminuição da espessura da casca com o aumento da idade da ave é devido à maior extensão da superfície destes ovos, com uma menor deposição de carbonato de cálcio por unidade de área.

McDaniel et al. (1979) demonstraram que a queda na qualidade da casca está associada ao aumento da idade da matriz. Os autores trabalharam com ovos de matrizes pesadas com 36, 52 e 64 semanas de idade, e constataram uma elevação da taxa de mortalidade embrionária, com consequente declínio na eclodibilidade dos ovos das matrizes mais velhas, que foram associados a pesos específicos abaixo de 1.080.

Os efeitos da qualidade da casca e da idade da matriz sobre a eclodibilidade e mortalidade embrionária também foram avaliados por Roque e Soares (1994). Ovos de matrizes com três faixas de idade (27 a 31, 40 a 44 e 55 a 59 semanas) foram divididos em dois grupos de acordo com o peso específico (≤ 1.080 considerados ovos de baixa qualidade e > 1.080 , considerados de boa qualidade). Ovos de baixo peso específico foram mais incidentes com o aumento da faixa de idade das aves. Independente da idade da matriz, ovos considerados de boa qualidade obtiveram melhor eclodibilidade, que foram justificadas por menor mortalidade embrionária nos últimos dois terços do período de incubação.

Rosa e Ávila (2000) observaram que aves com idade entre 35 e 55 semanas, produziram ovos com maior peso específico (1.075 a 1.090), sendo associados a maiores índices de eclosão. As aves com idades superiores a 56 semanas produziram ovos com casca de qualidade inferior, determinada pelo menor peso específico (< 1.075), o que resultou em piores índices de eclosão.

Investigando a qualidade dos ovos de matrizes pesadas com 30, 45 e 60 semanas, Luquetti et al. (2004) não encontraram diferenças significativas entre as idades em relação ao peso específico e espessura da casca, sendo que as médias de peso específico foram de 1.082 a 1.085 e as médias de espessura 0,43 a 0,44mm. Barbosa (2005) fez um estudo de associação entre peso específico e a perda de peso durante a incubação, utilizando ovos de matrizes leves com 26, 41 e 56 semanas. À medida que as matrizes avançaram a idade, o peso específico dos ovos diminuiu e a perda de peso aos 18 dias de incubação foi mais pronunciada, porém, estes fatores não tiveram efeitos sobre a eclodibilidade.

Como método de análise de resistência, é comum utilizar-se a fratura por compressão, por impacto ou por punção (Hamilton, 1982). Emara (2008) usando a avaliação de resistência da casca à quebra por compressão demonstrou que a idade tem um grande efeito nesta variável, pois o aumento progressivo da idade da ave diminuiu a resistência à quebra. Segundo o autor, a resistência da casca é um fator importante a ser considerado na manipulação dos ovos de consumo e férteis, devido a perdas na produtividade.

Em relação às análises ultraestruturais, Ruiz e Lunam (2000) utilizaram a microscopia eletrônica para estabelecer interações entre as diferentes camadas da casca do ovo, idade da matriz e eclodibilidade sobre os ovos férteis. Este experimento foi conduzido ao longo de um período de 30 semanas utilizando a produção de matrizes pesadas de 28 a 58 semanas de idade. A espessura absoluta das camadas mamilar, paliçada, cristal vertical e cutícula e seus percentuais em relação à espessura total da casca foram mensuradas. Não foram encontradas alterações significativas da espessura total da região calcificada da casca entre as idades (média de 346,9 μm). A cutícula teve espessura significativamente menor no início e no final de produção quando comparada com a fase

intermediária (idade de 38 semanas), mas sua proporção em relação à espessura total da casca não foi alterada nas diferentes idades (média de 0,67%). O percentual de contribuição das camadas mamilar e paliçada foram semelhantes em cascas com diferentes espessuras, sugerindo uma conservação da proporção destas camadas independentemente da espessura da casca. No decorrer do período estudado, o percentual correspondente a cada camada sofreu variações, porém essas alterações não foram correlacionadas à eclodibilidade dos ovos férteis. Independente da idade da ave, as correlações entre eclodibilidade dos ovos férteis e espessura relativa das camadas mamilar, paliçada e cutícula não foram significativas. Ao contrário, foi observado correlação entre viabilidade e espessura da camada de cristal vertical. De acordo com os autores, o significado deste resultado permanece desconhecido devido ao fato de não haver função biológica atribuída a esta camada descrita na literatura.

A influência da composição estrutural e da espessura da casca dos ovos de matrizes consideradas novas (30 semanas de idade) e velhas (58 semanas de idade) foi verificada em pesquisa de Rodriguez-Navarro et al. (2002). De modo geral, os autores concluíram que as cascas dos ovos de aves velhas são menos resistentes e mostram grande variabilidade em suas propriedades estruturais como espessura, morfologia granular e textura cristalográfica.

2.2. INFLUÊNCIA DA IDADE DA MATRIZ SOBRE O PESO DO OVO E A PROPORÇÃO DE SEUS COMPONENTES

O peso do ovo e a proporção dos seus componentes sofrem influência da idade da matriz, o que tem sido reportado em vários estudos. Com o aumento da idade da ave ocorre um aumento no peso do ovo, que está associado a maior deposição de gema. A secreção de albúmen também aumenta em consequência do maior tamanho de gema, porém em menores proporções (North, 1984; French e Tullet, 1991).

A produção de ovos sofre um declínio à medida que as aves envelhecem, ocorrendo também maior intervalo entre as ovulações. O ciclo ovulatório é caracterizado pelo recrutamento de um grupo de folículos que sofrem maturação em sequência. Esta sequência consiste em um número de dias em que ocorre a oviposição a cada 24 ou 26 horas, seguido por período de pausa. Folículos pré-ovulatórios de aves com idade mais avançada maturam mais vagarosamente e ovulam quando alcançam maior tamanho, comparativamente a folículos pré-ovulatórios de aves mais jovens. Desta forma a sequência de postura vai tornando-se mais curta com o avançar da idade, assim como também ocorre o aumento no tamanho das gemas (North, 1984; French e Tullet, 1991; Vieira, 2001; Sesti, 2003; Rutz et al., 2005).

Trabalhando com ovos de matrizes pesadas de diferentes idades, Suarez et al. (1997) encontraram diferenças significativas para o peso do ovo, percentual de gema e albúmen. Foi observado que o peso do ovo aumentou de 57,7g para 69,6g, o percentual de gema aumentou de 27,2% para 32,7% e o percentual de albúmen diminuiu de 60,1% para 55,9% em ovos de matrizes com 29 e 52 semanas, respectivamente. O percentual de casca foi semelhante entre os tratamentos, sendo 10% para ambos. As diferenças de peso do ovo, percentual de gema e albúmen também foram constatadas por Vieira e Moran Jr. (1998), que avaliaram ovos de matrizes com 27 e 62 semanas. Porém neste estudo, os ovos de matrizes mais novas apresentaram menor proporção de casca em relação ao peso do ovo.

Peebles et al. (2000) iniciaram o acompanhamento de um lote da linhagem Arbor Acres® em aves com 26 semanas de idade e mediram o peso dos ovos, o percentual relativo de albúmen e a relação proporcional da gema sobre o albúmen quando as aves completaram 31, 35, 41 e 47 semanas. O peso dos ovos aumentou progressivamente com a idade da matriz. O percentual de albúmen em relação ao peso do ovo reduziu gradativamente de 31 até 41 semanas. Foram observados aumentos significativos na relação gema/albúmen entre as idades de 26 a 31 semanas e de 31 a 35 semanas. Nas idades de 35, 41 e 47 semanas esta relação foi semelhante.

Ferreira et al. (2005), estudaram a influência da idade (28 e 57 semanas) de matrizes Ross® sobre as partes do ovo. Os resultados revelaram diferenças significativas entre as duas idades, sendo que a matriz mais nova apresentou menor peso do ovo e percentual de gema, e maior percentual de casca e albúmen. Tanure et al. (2008) obtiveram diferenças semelhantes quando compararam ovos de matrizes leves nas idades de 32 e 57 semanas.

O peso do ovo e o peso relativo dos seus componentes em matrizes da linhagem Cobb® com 31, 38 e 43 semanas de idade foram avaliados por Rocha (2007). O peso do ovo e o percentual de gema aumentaram significativamente com o avanço da idade das aves, assim como o percentual de albúmen diminuiu. As matrizes com 31 semanas apresentaram ovos com menor percentual de casca do que as matrizes de 38 e 43 semanas, que foram semelhantes entre si. De acordo com Ulmer-Franco et al. (2010), os ovos de matrizes novas (29 semanas de idade) têm menores proporções de gema e maiores proporções de albúmen em relação ao peso do ovo, quando comparados aos ovos de matrizes velhas (59 semanas de idade).

2.3. FISIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

2.3.1. Mudanças na composição do ovo durante a incubação

O desenvolvimento do embrião promove modificações simultâneas em todos os componentes do ovo, que vão diminuindo em diferentes proporções ao longo do período de incubação. A casca é uma fonte de cálcio, e este mineral auxilia no controle do equilíbrio eletrolítico. O albúmen fornece proteínas e se liquefaz, tornando disponível água e eletrólitos para o embrião. A gema fornece energia para as demandas fisiológicas de manutenção, sendo que água também é produzida quando os lipídios são oxidados. Outra parte da energia originada da gema é utilizada para sintetizar os tecidos e permitir o crescimento embrionário (Ar et al., 1974; Rahn e Ar, 1974; Sotherland e Rahn, 1987; Tullet, 1990; Tazawa e Whittow, 2000).

2.3.1.1. Casca

A casca é a fonte primária de cálcio para o desenvolvimento embrionário. Outros minerais são fornecidos a partir da casca para o embrião em desenvolvimento, como magnésio e fósforo (Romanoff e Romanoff, 1949). Segundo Richards (1997), também são encontrados traços de cobre, zinco, manganês e ferro na casca e suas membranas, sendo que estes minerais também contribuem para o metabolismo embrionário.

No decorrer da incubação, o intercâmbio de CO₂ em conjunto com a enzima anidrase carbônica cria condições de meio ácido que permitem a dissolução da casca e a transferência de cálcio para a circulação. A dissolução dos botões mamilares adjacentes à interface “corioalantóide-casca” representam a fonte dominante de cálcio no sangue. Com esta recuperação de cálcio e conjuntamente de fósforo, o esqueleto do embrião inicialmente constituído de cartilagem vai sendo mineralizado (Tuan e Ono, 1986; Dieckert et al., 1989; Tazawa e Whittow, 2000).

Concomitantemente com a mineralização do embrião, ocorrem acúmulos de grânulos calcificados nos limites do saco vitelino. Neste caso, o cálcio vai sendo transferido através das vilosidades no sistema vascular do saco vitelino e agrega-se em esferas na superfície do mesmo. Estes grânulos de cálcio só são absorvidos após a bicagem interna, quando acaba o acesso de cálcio através da casca devido à interrupção da ação da corioalantóide. A mineralização e o desenvolvimento esquelético do embrião são mantidos, devido a esta transição da fonte de cálcio e fósforo da casca para a absorção dos grânulos de cálcio e fosfovítina da gema. Porém o acesso a esta fonte diminui gradativamente após a eclosão com a absorção do saco vitelino pelo pinto (Tazawa e Whittow, 2000).

Peebles et al. (2001) pesquisaram as mudanças de peso ocorridas na casca durante a embriogênese de ovos provenientes de matrizes pesadas com 27 semanas de idade (aves novas) e 36 semanas de idade (consideradas pelo autor como aves velhas). Esta análise foi realizada quando os

embriões estavam com seis, 12 e 18 dias de incubação e revelaram que o peso da casca diminui com a progressão da incubação, sendo que os ovos das matrizes mais velhas tiveram aumento significativo nas perdas de peso de casca quando comparadas às matrizes novas.

Abdel-Salam et al. (2006) utilizaram ovos de matrizes pesadas de 36 a 40 semanas de idade para avaliar as espessuras relativas das camadas mamilar, paliçada, cristal vertical e cutícula em relação ao peso do ovo, através da técnica de microscopia eletrônica nos momentos anteriores à incubação e após a eclosão. Estas análises ultraestruturais, segundo os autores, confirmaram pesquisas anteriores que demonstraram que as cascas têm uma perda expressiva da espessura durante a incubação. A camada mamilar, neste experimento, perdeu cerca de 50% de sua espessura original, estando relacionada diretamente à captação de cálcio pelo embrião durante seu desenvolvimento.

2.3.1.2. Conteúdo de água

A distribuição de água no ovo não é uniforme, sendo que a gema tem um nível relativamente baixo na concentração de água quando comparada ao albúmen. O albúmen é considerado o principal local de armazenamento de água, apresentando aproximadamente 85 a 95% em sua constituição, seguida de proteínas, enquanto os lipídios e os minerais estão incluídos em frações mínimas (Sotherland e Rahn, 1987).

A utilização do albúmen permite o provimento de água e eletrólitos para o desenvolvimento embrionário e através da formação do fluido sub-embrionário, o embrião é capaz de transformar esses nutrientes dentro do ovo para utilizá-los durante seu crescimento. A formação do fluido sub-embrionário ocorre porque o volume de água do albúmen é reduzido rapidamente embora sua pressão osmótica diminua. Essa queda de pressão, apesar da evaporação contínua de água do albúmen, ocorre pela ação de bombeamento iônico dentro do espaço de formação do blastodermis, localizado na superfície da gema. A água então é retraída neste espaço, formando o compartimento do fluido sub-embrionário. Este fluido pode ser considerado como um local de estoque temporário de água e eletrólitos, de onde estes são canalizados através dos vasos sanguíneos a outros sítios. Ao mesmo tempo, o fluido sub-embrionário contribui para a dispersão dos nutrientes condensados da gema, aumentando a sua disponibilidade para a membrana do saco vitelino (Schlesinger, 1958; Whittman e Kalter, 1988; Ar, 1991).

Em relação à perda de água do ovo, a maior fração é perdida através de difusão por meio dos poros da casca para o ambiente. A perda de água do conteúdo do ovo também ocorre por outras vias: uma parte é retida pelo embrião e pelo saco vitelino e outra porção é mantida nos resíduos do ovo eclodido, principalmente nas membranas da casca (Rahn e Ar, 1974; Sotherland e Rahn, 1987; Ar, 1991).

Ao longo da incubação, o ar do meio externo vai substituindo a água perdida pelo ovo, provocando aumento da câmara de ar (Ar et al., 1974; Tullet e Deeming, 1982; Tazawa e Whittow, 2000).

Segundo Ar et al. (1974) e Rahn e Ar (1974), a taxa de perda de peso dos ovos (M_{H_2O}) (mg.dia^{-1}) é determinada pelos seguintes fatores: a condutância de vapor de água da casca e das membranas da casca (G_{H_2O}) ($\text{mg.dia}^{-1}.\text{torr}^{-1}$) e a diferença de pressão do vapor de água entre os componentes do ovo e o ambiente ao redor dos mesmos (ΔP_{H_2O}) (torr).

Esta taxa de perda de peso foi expressa pelos autores através da fórmula:

$$(M_{H_2O}) = (G_{H_2O}) \times (\Delta P_{H_2O})$$

A (ΔP_{H_2O}) é a diferença de pressão do vapor de água entre os componentes do ovo ($P_{H_2O, ovo}$) e a pressão do vapor de água do ambiente ao redor dos ovos ($P_{H_2O, ambiente}$). A ($P_{H_2O, ovo}$) está

relacionada a temperatura interna do ovo, enquanto a ($P_{H_2O, ambiente}$) é afetada pela temperatura, umidade e ventilação das máquinas de incubação.

Com o aumento da idade da matriz ocorre aumento da (G_{H_2O}). O termo condutância foi conceituado como uma medida que avalia a capacidade da casca em permitir a troca de gases e vapor de água entre o embrião e o meio ambiente. Esta é diretamente relacionada com o número e dimensão dos poros, com a espessura ou resistência da casca e suas membranas (Tullet, 1990).

Buhr (1995) avaliou a perda de peso dos ovos de matrizes leves com idades de 34 e 49 semanas no período de um a 18 dias de incubação e concluiu que os ovos das reprodutoras com 49 semanas perderam mais peso quando comparadas às matrizes de idade mais nova. Santos et al. (2005), estudando este mesmo parâmetro em matrizes leves e pesadas com 30, 45 e 60 semanas de idade, verificaram que a perda de umidade dos ovos aumenta significativamente com o aumento da idade das matrizes, devido principalmente ao aumento da condutância da casca com a progressão da idade das aves.

2.3.1.3. Conteúdo de energia e sua utilização pelo embrião

No início do desenvolvimento embrionário, o acesso ao oxigênio é limitado à difusão simples auxiliada por hemoglobina ainda primitiva. A energia gasta neste momento decorre em grande parte por glicólise através de glicose prontamente acessível ou por um aumento transitório de lactato que ocorre até a corioalantóide se tornar funcional (Ciotto e Arangi, 1989).

À medida que a corioalantóide inicia sua função respiratória, o acesso ao oxigênio, via poros da casca sustenta plenamente a oxidação de ácidos graxos da gema, utilizados como fonte primária de energia e como base para o desenvolvimento embrionário. O principal componente empregado na produção de energia são os triglicerídeos, correspondendo cerca de 67% dos lipídios da gema. A membrana vitelínica, uma estrutura vascularizada que reveste a gema externamente, assume posição de grande relevância no que diz respeito ao metabolismo lipídico, sendo responsável pela absorção de lipídios da gema e posterior transferência para o corpo do embrião (Noble e Cocchi, 1990; Speak et al., 1998b; Sato et al., 2006).

Entre o 10° e 12° dia de incubação, a expansão do embrião dentro do saco amniótico associado ao aumento de seus movimentos, faz com que o albúmen anteriormente compartimentalizado na parte mais fina do ovo tenha sua ruptura na conexão seroamniótica (figura 2). Desta forma acontece um consumo oral desta mistura de albúmen e fluido amniótico, que é absorvida através do sistema gastrointestinal. Este consumo e absorção se tornam contínuos até que o fluido albúmen-amniótico desapareça e a bicagem interna se inicie. Ovoalbumina, ovotransferrina e ovomucóide são proteínas de destaque evidenciadas no sangue e continuam a ser detectáveis após a eclosão. Ovomucóide é uma das proteínas do albúmen que tem grande quantidade de carboidratos. O embrião utiliza estes carboidratos do albúmen com o objetivo de preservar os aminoácidos para a síntese proteica. Como resultado, a glicose no sangue aumenta progressivamente para dar suporte ao fígado e a deposição de glicogênio muscular (Moran Jr., 2007).

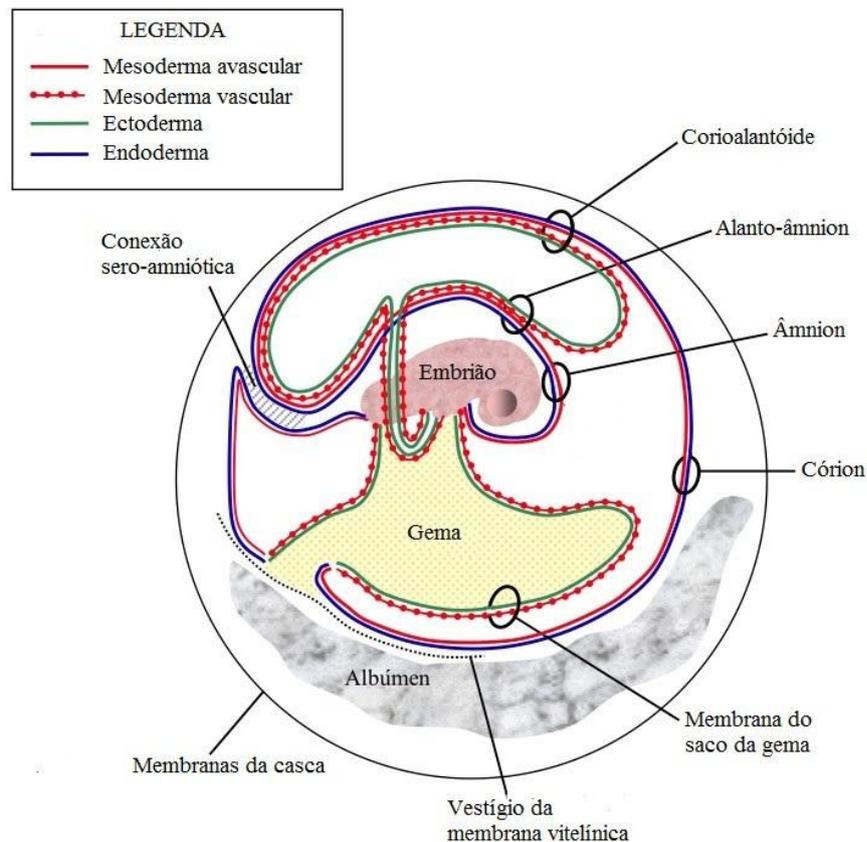


Figura 2. Desenho esquemático das membranas e compartimentos embrionários do embrião de galinha. Adaptado de Baggott (2001).

Depois do uso de lipídios, a estratégia metabólica muda no momento da bicagem interna. Neste momento, a demanda de oxigênio do embrião excede o suprimento disponível pela difusão através da casca, e então o embrião começa a metabolizar carboidratos através de mecanismos anaeróbicos até o momento da bicagem externa. Os músculos mais ativos no momento da eclosão usam glicose proveniente das reservas de glicogênio (Freeman, 1969; Menna e Mortola, 2002). De acordo com Hoiby et al. (1987), o aumento transitório de lactato (produto da glicólise anaeróbia) que ocorre após a bicagem interna, desaparece quando a função pulmonar provê concentração de oxigênio adequada para o catabolismo de ácidos graxos continuar como fonte de energia. A demanda de utilização de energia através do metabolismo lipídico da gema se eleva com o crescimento do embrião e reflete em concomitante acréscimo do consumo de oxigênio, sendo que este consumo diminui antes da bicagem interna e externa da casca e aumenta novamente após a eclosão (Freeman, 1969; Moran Jr., 2007). Morita et al. (2009) afirmaram que a energia derivada do metabolismo anaeróbico durante os períodos anteriores à eclosão é necessária para sustentar tanto a manutenção fisiológica como o crescimento, entretanto se esta energia é limitada, o embrião terá que escolher entre crescimento corporal e atividade vital de manutenção. No experimento destes autores, os níveis de glicose no embrião aumentaram significativamente entre o 15° e 21° dia de incubação, independente das idades das matrizes estudadas, que variaram entre 29 e 60 semanas, demonstrando a demanda energética crescente do embrião.

A incorporação do saco vitelino na cavidade abdominal se inicia a partir dos 19 dias de incubação e a retração se completa antes que aconteça a eclosão. O pinto permanece com esta reserva de saco vitelínico residual, suficiente para manter um suprimento adequado de nutrientes como fonte de energia, por pelo menos dois dias após o nascimento (Noy e Sklan, 1998; Speake et al., 1998a). Latour et al. (1998) encontraram níveis séricos de triglicerídeos significativamente menores em pintos recém-eclodidos descendentes de matrizes com 51 semanas quando comparado aos pintos

das matrizes de 64 semanas de idade. Burnham et al. (2001) demonstraram menor relação percentual de saco vitelino residual nos pintos eclodidos dos ovos de matrizes novas. Foi justificado pelos autores que os pintos descendentes dessas aves têm taxa de absorção de saco vitelino mais elevada do que aqueles originados das galinhas mais velhas, provavelmente para compensar possíveis deficiências de nutrientes no saco vitelino, ineficiência embrionária na transferência de lipídios ou na utilização destes nutrientes.

Pesquisando o peso absoluto do saco vitelino residual, Sklan et al. (2003) incubaram ovos de um lote de matrizes desde a idade de 29 até 69 semanas e observaram que o peso dos sacos vitelinos de pintos recém-eclodidos foi maior com a progressão da idade. Os autores citaram que o resultado obtido foi coerente, visto que aves mais velhas têm ovos com maior peso e maior percentual de gema. Estes resultados concordaram com os encontrados por Barbosa et al. (2005a). Entretanto, neste trabalho os autores verificaram que a relação percentual entre o peso do saco vitelino e o peso do pinto foi significativamente menor nos pintos descendentes das matrizes leves de 56 semanas (13,0%) quando comparado às idades de 26 e 41 semanas (13,9%) que foram semelhantes entre si. Rocha et al. (2008), ao analisarem estas variáveis em pintos descendentes de matrizes pesadas com idades de 31, 38 e 43 semanas, não verificaram diferenças significativas entre as idades.

2.3.2. Respiração

2.3.2.1. Função respiratória durante o desenvolvimento embrionário

Existem três áreas onde ocorre função respiratória durante o desenvolvimento embrionário, sendo elas: área vasculosa, membrana corioalantóide e pulmões. A área vasculosa é uma região altamente vascularizada do saco vitelino que toma forma espalhando-se “em leque” a partir do embrião e envolve a gema, ocorrendo crescimento mais acelerado durante o terceiro e quinto dia de incubação (figuras 3 e 4). Desde o segundo dia de incubação, os vasos sanguíneos do saco vitelino conectados à aorta dorsal do embrião permitem que o sangue inicie a circulação através do embrião e da área vasculosa (Hamburger e Hamilton, 1951; Ackerman e Rahn, 1981; Tazawa e Whittow, 2000).



Figura 3. Expansão da área vasculosa em embrião de galinha com três dias de incubação. Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.



Figura 4. Expansão da área vasculosa em embrião de galinha com quatro dias de incubação. Nesta etapa, ocorre completa formação das membranas extra-embriônicas. Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.

Esta fina rede do sistema circulatório vitelínico desempenha papel principal na troca de gases até que a corioalantóide faça contato com a membrana interna da casca entre o quinto e sexto dia de incubação (figura 5). O mesênquima que recobre o fundo do saco alantóide entra em contato com o mesênquima que recobre o córion. Estes dois anexos embrionários começam a se fundir e o saco alantóide em crescimento pressiona o córion, que se encontra próximo a casca e ao longo de toda a sua extensão. A parte nivelada do alantóide que se adere ao córion constitui a corioalantóide (Costa, 1950; Lillie, 1952; Houillon, 1972).

A partir do quinto dia de incubação há uma transição da função respiratória exercida pela área vasculosa para a corioalantóide, até o oitavo dia de incubação, quando a área vasculosa termina sua função de troca gasosa (Ackerman e Rahn, 1981).

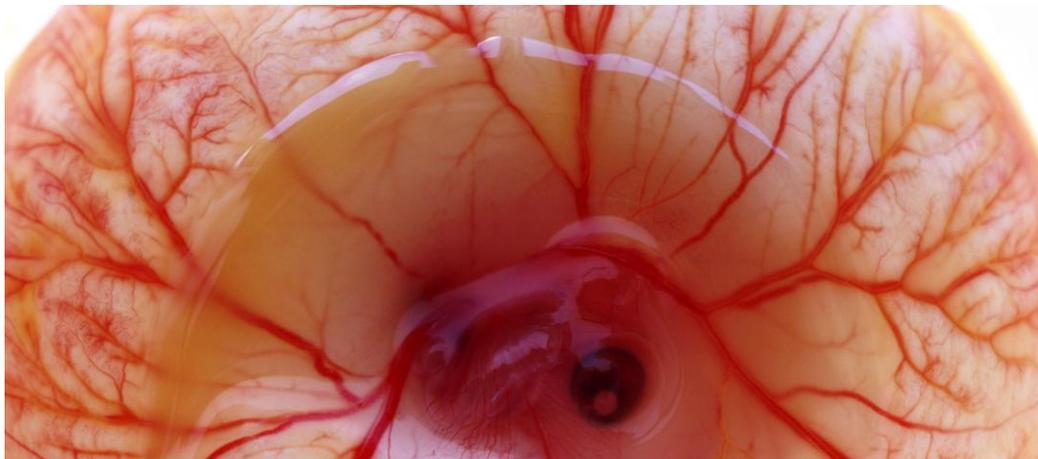


Figura 5. Embrião de galinha com cinco dias de incubação. Nesta etapa, córion e alantóide se fundem para dar origem à membrana corioalantóide que se adere às membranas e aos poros da casca. Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.

Esta membrana cresce rapidamente e por volta do 12º dia de incubação a corioalantóide já está envolvendo todo o conteúdo do ovo, revestindo toda a superfície da membrana interna da casca e está completamente infiltrada nos poros (figura 6). A função respiratória da corioalantóide se estende até quase a fase final da vida embrionária (Ackerman e Rahn, 1981; Tullet, 1990).

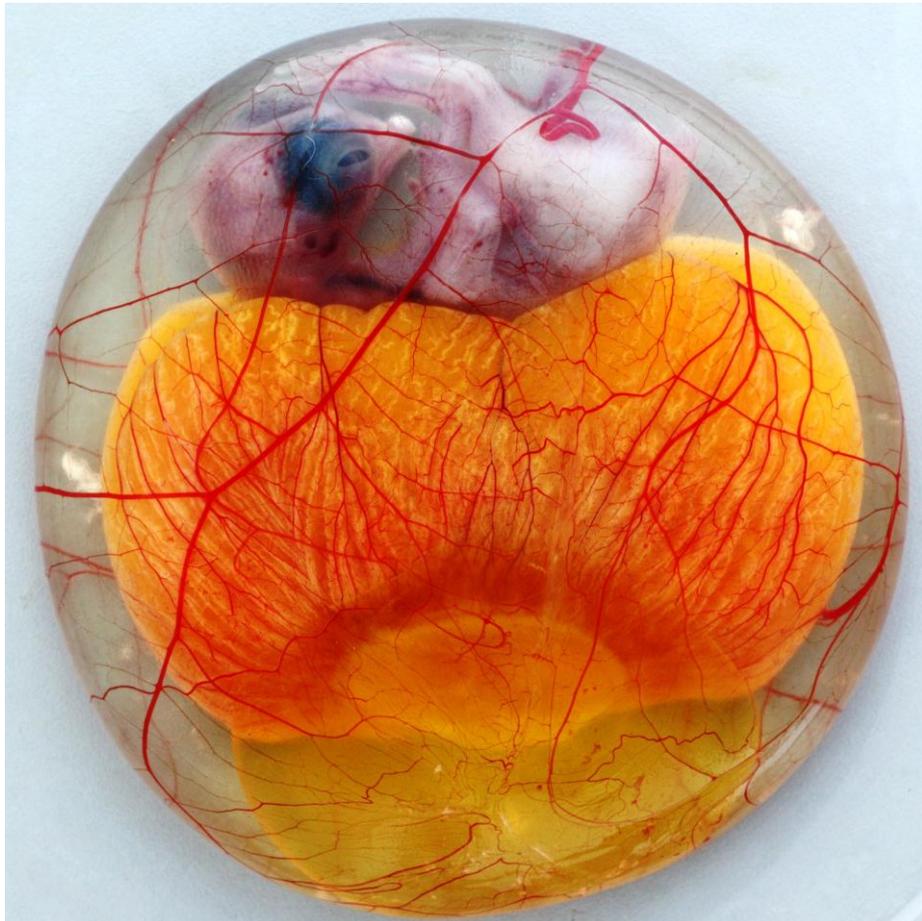


Figura 6. Embrião de galinha com 12 dias de incubação. Nesta etapa, a corioalantóide envolve todo o conteúdo do ovo. Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.

O momento da “bicagem interna” é marcado pela perfuração da membrana corioalantóide e membrana interna da casca (figura 7) e ocorre inicialmente pela reinalação dos gases da câmara de ar, onde inicia a respiração através dos pulmões. A membrana corioalantóide ainda tem funcionalidade, que vai sendo progressivamente reduzida. O estágio de desenvolvimento do embrião se divide em dois: fase pré-natal até ocorrência da bicagem interna (cuja respiração ocorre através da área vascular e posteriormente da corioalantóide); e fase perinatal, que vai da bicagem interna até a bicagem externa da casca (figura 8). A partir da eclosão, a ventilação pulmonar é estabilizada e os pulmões assumem definitivamente a função respiratória (Romanoff, 1960; Tullet e Deeming, 1982; Wangeesten e Weibel, 1982; Tazawa e Whittow, 2000).



Figura 7. Bicagem interna em embrião de galinha com 20 dias de incubação. Neste estágio, o embrião tem acesso à câmara de ar e inicia a transição da respiração corioalantóide para pulmonar. Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.

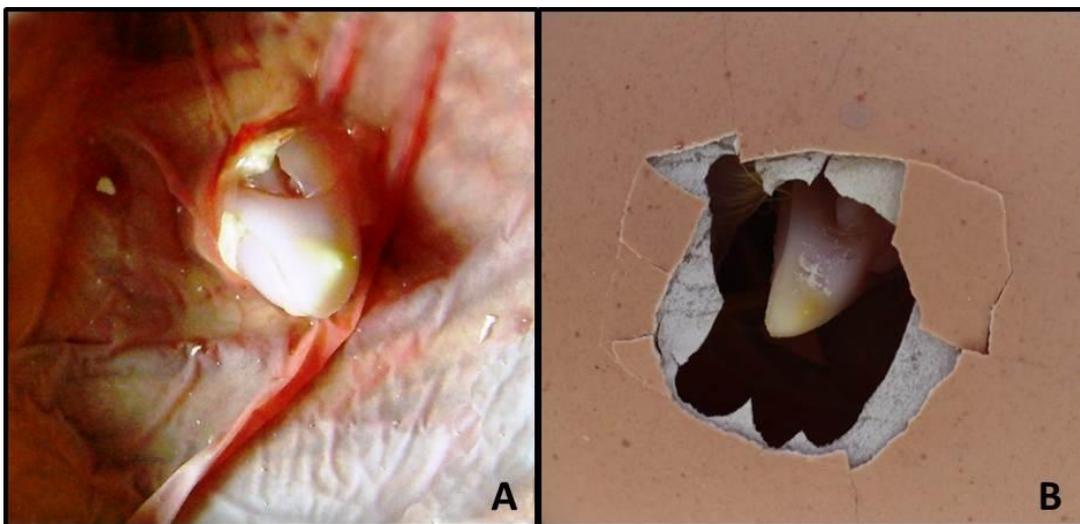


Figura 8. Embrião de galinha iniciando a fase perinatal com a bicagem interna (A) e terminando esta fase com a bicagem externa (B). Arquivo pessoal de Vanessa Michalsky e André Fernandes.

2.3.2.2. Troca de gases entre o embrião e o ambiente externo

Durante a incubação, as trocas gasosas antes da bicagem interna (respiração na fase pré-natal), ocorrem por transporte difusivo entre o ambiente externo e o sangue capilar, através dos poros da casca e suas membranas. Após o início da bicagem interna (respiração na fase perinatal) acontece a transição para a troca gasosa via pulmonar (Wangesteen et al., 1970; Metcalfe et al., 1981; Decuyper et al., 1991).

Com a formação da membrana corioalantóide, o fluxo de O_2 vindo do ambiente externo que entra em contato com a hemoglobina dos vasos capilares aumenta devido ao aumento progressivo da capacidade de difusão entre a corioalantóide e os vasos capilares. Enquanto o fluxo de sangue através da corioalantóide aumenta cerca de seis vezes durante o período entre o 10º e o 18º dia de incubação, o tempo de contato das hemácias com o oxigênio quando estas passam através dos capilares diminui pela metade, provavelmente por consequência da redução do tempo de circulação. Embora ocorra este processo, o volume de troca de gases pelos capilares aumenta mesmo após a corioalantóide se espalhar por toda a superfície da membrana interna da casca. Isto ocorre principalmente pela elevação do hematócrito nesta fase, permitindo aumento da oxigenação do sangue no leito dos capilares. Porém, no final do desenvolvimento pré-natal, o aumento da difusão de oxigênio reduz sua velocidade e os níveis de oxigênio no embrião vão se tornando menores (Wangesteen e Weibel, 1982; Tazawa e Whittow, 2000; Wagner-Amos et al., 2003).

Aproximadamente no 19º dia de incubação, aumenta a necessidade de oxigênio e a difusão não pode suprir essa exigência, apresentando uma hipóxia que estimula o embrião à bicagem interna e à eclosão. Este estímulo pode ser também neuroendócrino ou devido às mudanças do equilíbrio ácido-básico ou pressão de gases, sendo que existe a possibilidade de uma combinação de todos estes fatores. O período entre a bicagem interna e a bicagem externa oscila entre cinco e 12 horas e a hipóxia neste período pode ter influência tanto na sobrevivência do embrião como nos processos metabólicos e no desenvolvimento pós-eclosão (Christensen, 1995; Rondón e Murakami, 1998; Onagbesan et al., 2007).

Em 1970, Wangesteen e Rahn já afirmavam que a câmara de ar caracteriza-se pela hipóxia e hipercapnia nos períodos finais de desenvolvimento embrionário. Posteriormente, Tona et al. (2003) e De Smit et al. (2005) avaliaram a pressão parcial de oxigênio (pO_2) e a pressão parcial de gás carbônico (pCO_2) na câmara de ar aos 18 dias de incubação e no estágio da bicagem interna. Os dados destes experimentos demonstraram que a pCO_2 aumentou significativamente entre estes dois momentos, assim como também houve decréscimo significativo da pO_2 . Stanishevskaya (2006) estudou a relação CO_2/O_2 em várias zonas da casca, e relatou que durante o período entre 13 a 19 dias de incubação esta relação foi significativamente maior na região da câmara de ar. O autor afirmou que este fato está relacionado à maior atividade de penetração de O_2 na região equatorial do ovo nesta fase e a maior excreção de CO_2 para a região da câmara de ar.

Hamidu et al. (2007) pesquisaram a produção de CO_2 durante o período de incubação em duas linhagens de matrizes pesadas. Esta produção aumentou principalmente após o 12º dia de incubação. Cerca de dois dias antes da bicagem interna, a produção de CO_2 atingiu seu platô, representando diminuição do consumo de O_2 . Segundo os autores, essa diminuição pode ter ocorrido devido à incapacidade da casca e/ou do sistema circulatório do embrião em absorver volume de O_2 necessário à sua demanda nesta fase. Após a bicagem interna, a produção de CO_2 continuou aumentando significativamente, e revelou os maiores níveis em toda a incubação, evidenciando maior exigência metabólica no processo de nascimento.

Pesquisadores como O'Dea et al. (2004), Hamidu et al. (2007) e Bamelis et al. (2008) afirmaram que para ocorrência da eclosão alguns requisitos devem ser atingidos, como perda adequada de água pelo embrião, aumento da concentração de CO_2 na câmara de ar e diminuição da concentração de O_2 . A condutância da casca determina todas estas condições, mantendo um papel fisiológico importante para o metabolismo embrionário, principalmente na fase final de incubação e no estabelecimento dos valores normais do equilíbrio ácido-básico no sangue. O'Dea et al. (2004)

reportaram que o metabolismo embrionário também aumenta com a idade da matriz. Foram avaliados produção de calor, gás carbônico e consumo de oxigênio nos embriões de ovos de três linhagens de matrizes pesadas com idades de 33 e 38 semanas. Todas as análises demonstraram valores significativamente maiores para os embriões descendentes das matrizes com idade mais avançada. Entretanto, estes valores não afetaram a eclodibilidade sobre os ovos férteis.

2.3.3. Equilíbrio ácido-básico e seus mecanismos respiratórios

Para o funcionamento ideal das células que constituem o organismo animal, a composição iônica dos líquidos corporais é mantida dentro de limites estreitos. A concentração do íon hidrogênio (H^+) é importante, sendo medida através do valor de pH. Desvios acentuados do pH para além dos limites normais podem perturbar de forma drástica o metabolismo celular e a função corporal, sendo que uma queda no pH indica aumento da acidez, causado pelo aumento da concentração de H^+ ; e o aumento de pH representa alcalose, causada pela diminuição da concentração de H^+ (Dawes e Simkiss, 1969; Carlson, 1997; Cunningham, 1999).

A manutenção do equilíbrio ácido-básico envolve tampões, bem como o controle dos sistemas respiratório e renal. Um dos fatores fundamentais na regulação do equilíbrio ácido-básico é a concentração de gás carbônico. O CO_2 produzido, ao difundir-se na corrente sanguínea, combina-se instantaneamente com H_2O , formando o ácido carbônico (H_2CO_3). Este ácido é considerado fraco e devido a sua instabilidade, se dissocia em H^+ e HCO_3^- , através da mediação da enzima anidrase carbônica. Assim, um aumento na concentração de CO_2 nos líquidos corporais reduzirá o pH sanguíneo, enquanto que uma diminuição nesta concentração elevará o pH. Dessa maneira, a taxa de ventilação alveolar, ou seja, as trocas entre o ar atmosférico e o ar alveolar é que vão determinar a concentração de CO_2 no organismo e conseqüentemente o seu pH (Carlson, 1997; Cunningham, 1999; DiBartola, 2000).

A pressão parcial de O_2 (pO_2) é uma determinação da tensão ou pressão do O_2 dissolvido no sangue, que serve como parâmetro para avaliação da oxigenação sanguínea. Já a pressão parcial de CO_2 (pCO_2) representa a tensão ou pressão de CO_2 dissolvido no sangue. A pCO_2 demonstra o equilíbrio entre a produção celular de O_2 e a remoção ventilatória de CO_2 (Gomes, 1997; DiBartola, 2000).

A acidose respiratória é uma situação que ocorre sempre que a habilidade para eliminar CO_2 pelo sistema respiratório está debilitada, ou seja, existe ou existiu um balanço positivo de CO_2 . Nesse caso, a alteração primária será um aumento na pCO_2 sanguínea e diminuição do pH. Já a alcalose respiratória trata-se de um processo no qual existe hiperventilação, que se torna desproporcional à produção de CO_2 . Na alcalose respiratória, a redução da pCO_2 tem como consequência imediata, a redução da concentração de H_2CO_3 e dos íons H^+ (Carlson, 1997; Epstein e Singh, 2001; Furlan et al., 2002).

Em se tratando do equilíbrio ácido-básico durante o desenvolvimento embrionário de aves, Rowlett e Simkiss (1989) revelaram que o aumento contínuo da demanda metabólica de O_2 pelo embrião é seguido por aumento do fluxo sanguíneo através do sistema respiratório da corioalantóide, elevação do hematócrito e concentração de hemoglobina e mudanças na afinidade do O_2 pela hemoglobina. Apesar dessas adaptações, a pO_2 no sangue do embrião cai durante todo o período final de incubação e só é revertida quando a respiração pulmonar é estabilizada momentos antes da eclosão. Segundo os autores, as primeiras medições de gases em sangue de embriões demonstraram também acúmulo de CO_2 e acidose respiratória progressiva neste período final de desenvolvimento, ocorrendo aumento de HCO_3^- no plasma como forma de compensação do pH sanguíneo.

Bruggeman et al. (2007) avaliaram o comportamento da pCO_2 e pO_2 no sangue e na câmara de ar, o pH e HCO_3^- sanguíneos durante o desenvolvimento embrionário em ovos de matrizes Cobb® com 43 semanas. No período compreendido entre o 12° e 18° dia de incubação a

pCO₂ no sangue e na câmara de ar aumentaram progressivamente, concomitantemente ao decréscimo destes parâmetros em relação a pO₂. Acompanhando estes eventos fisiológicos, a concentração de HCO₃⁻ sanguíneo aumentou paralelamente à elevação da pCO₂. No 14º dia de incubação a capacidade tamponante do HCO₃⁻ demonstrou iniciar a compensação da acidose respiratória ocorrida a partir do 12º dia. Neste caso, o pH sanguíneo revelou uma queda entre o 12º e o 14º dia de incubação, seguidos de uma elevação até o 18º dia, entretanto este aumento não foi suficiente para retomar os valores iniciais.

Os mesmos parâmetros sanguíneos medidos no experimento anterior foram estudados por Yalçın et al. (2008). Porém, neste experimento, embriões de matrizes pesadas com 32, 42 e 65 semanas de idade foram avaliados no momento da bicagem interna e à eclosão. Nestas fases, o valor de pH dos embriões de matrizes com 65 semanas foi significativamente menor quando comparado às idades mais novas, que foram semelhantes entre si. Esta situação se repetiu no caso das concentrações de HCO₃⁻ à eclosão, entretanto anteriormente, na bicagem interna, as idades não tiveram influência neste parâmetro. A pO₂ e a pCO₂ nos embriões de matrizes de diferentes idades não revelaram diferenças significativas tanto no momento da bicagem interna quanto à eclosão. Apesar dos dados obtidos neste experimento não terem sido analisados estatisticamente em relação aos momentos de bicagem interna e eclosão, foi possível observar diminuição da pCO₂ e HCO₃⁻ e elevação da pO₂ após o nascimento.

2.3.4. Função cardiovascular

O coração primordial do embrião é uma estrutura tubular emparelhada que logo se torna única. A limitação devido à falta de espaço imposta sobre este órgão em crescimento obriga o coração tubular a curvar-se, representando apenas o ventrículo e o bulbo entre as primeiras 36 a 48 horas de incubação. As alterações estruturais que separam o átrio do ventrículo, ventrículo da aorta, e às câmaras direita e esquerda, ocorrem a partir do 3º dia e estendem-se ao 8º dia de incubação. O coração do embrião atinge sua estrutura e morfologia definitiva com aproximadamente 18 dias de incubação (Hamburger e Hamilton, 1951; La Cruz et al., 1972; Tazawa e Whittow, 2000; Bellairs e Osmond, 2005).

Os primeiros batimentos são evidenciados com aproximadamente 30 horas de incubação sendo que o sangue começa a circular após cerca de 40 horas, quando as conexões entre a aorta dorsal e os vasos do saco vitelino completam a área vasculosa. A pressão arterial e o volume de sangue aumentam como uma função exponencial do tempo de incubação, mas a taxa do aumento de volume sanguíneo é menos veloz comparada ao crescimento do embrião. Embora a tendência do débito cardíaco seja aumentar paralelamente com o crescimento embrionário, a sua distribuição para a corioalantóide diminui à medida que os embriões crescem. Provavelmente, no 10º dia de incubação, cerca de metade do débito cardíaco vai para a circulação corioalantóide, e no 18º dia apenas um quarto do débito cardíaco flui através dela (Tazawa et al., 1971; Okuda e Tazawa, 1988; Croosley II et al., 2002). Com o início da bicagem interna, o fluxo de saída do sangue do ventrículo e átrio direitos para os pulmões aumenta enquanto este fluxo para os tecidos sistêmicos e a corioalantóide diminui. No período perinatal o fluxo para os tecidos e corioalantóide diminuem tanto, que até o momento da eclosão, 75% do sangue que sai do átrio direito circula pelas artérias pulmonares (figura 9) (Rahn et al., 1985; Sbrong e Dzialowski, 2007).

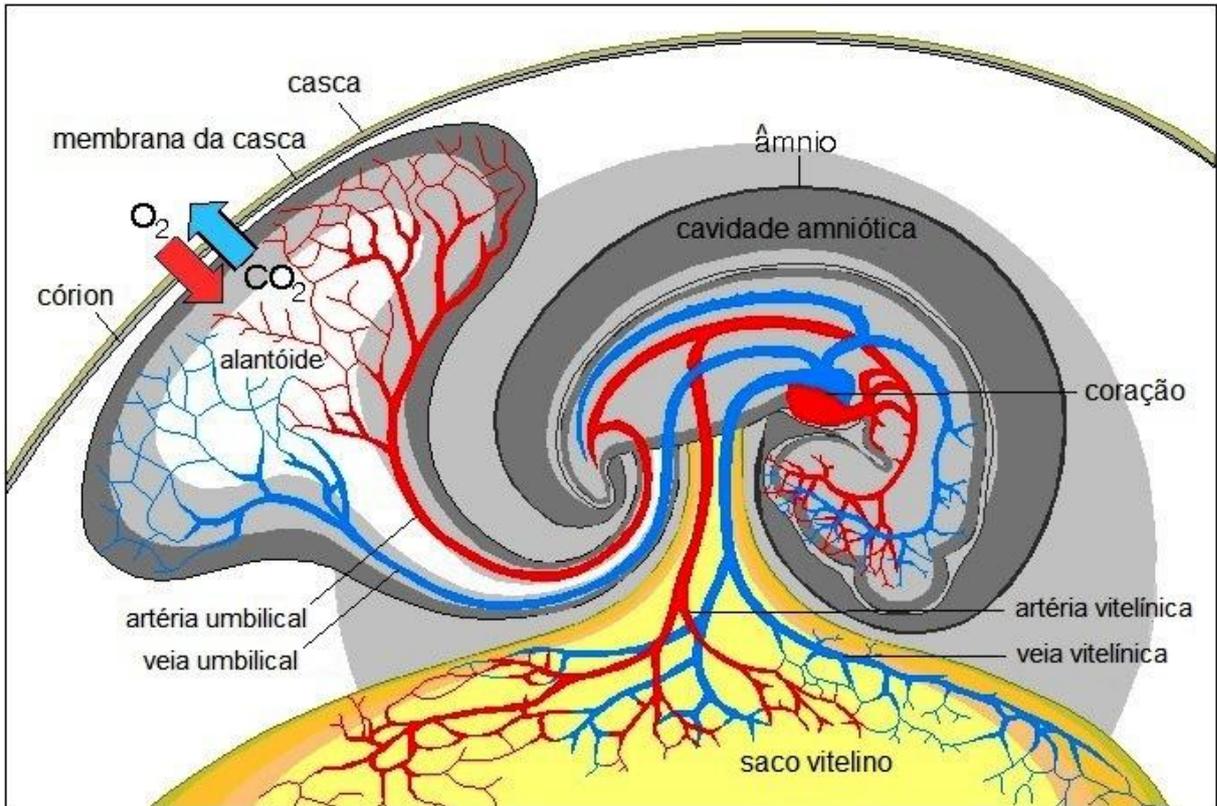


Figura 9. Desenho esquemático da circulação cardiovascular embrionária. Adaptado de Staveley (2011).

Em contraste com os padrões das variáveis circulatórias que aumentam com o crescimento embrionário, a frequência cardíaca se altera de forma diferente durante a incubação. A frequência dos batimentos cardíacos aumenta rapidamente e depois se estabiliza até o início da segunda semana de desenvolvimento do embrião. Durante a última metade de incubação, a variação diária da frequência cardíaca torna-se pequena. Quando os embriões bicam a casca e começam a respirar o ar, a frequência cardíaca aumenta significativamente, e após a eclosão reduz para os mesmos níveis pré-natais (Tazawa et al., 1992; Aubert et al., 2004; Lierz et al., 2006).

Assim que os embriões crescem, o peso do coração também aumenta até que a taxa de crescimento é desacelerada durante os últimos estágios de desenvolvimento. O crescimento relativo do coração é maior do que o crescimento corporal no início do desenvolvimento embrionário quando comparado com os períodos posteriores. A relação de peso do coração/massa corporal total cai de 1,8% no 4º dia para 0,7%, no dia 18º de incubação (Tazawa e Whittow, 2000).

A influência da idade da matriz pesada sobre os parâmetros sanguíneos e cardíacos da progênie foi estudada por Luquetti et al. (2004). Foram utilizados pintos recém-eclodidos provenientes dos ovos das aves com 30, 45 e 60 semanas de idade. O hematócrito, concentração de hemoglobina e a viscosidade sanguínea não revelaram diferenças significativas entre as idades.

Barbosa et al. (2008) estudaram a relação peso do coração/peso do pinto dos descendentes de matrizes leves de diferentes idades. Esta relação nos pintos das matrizes com 56 semanas tiveram maior percentual (0,81%) do que aqueles descendentes das matrizes com idades de 26 e 41 semanas (0,78%) que foram estatisticamente semelhantes.

Comparando pintos recém-eclodidos de matrizes pesadas com 29 e 60 semanas, Morita et al. (2009) avaliaram os parâmetros de peso absoluto do coração e sua relação percentual com o peso do pinto, hematócrito e concentração de hemoglobina. Todas as variáveis foram semelhantes entre as duas idades das aves.

2.4. A IMPORTÂNCIA DOS FATORES FÍSICOS NO AMBIENTE DAS INCUBADORAS E NASCEDOUROS

2.4.1. Viragem

Em condições naturais a posição para um ovo durante a incubação é completamente horizontal, entretanto a galinha vira os ovos frequentemente. No caso das incubadoras, o posicionamento dos ovos durante os primeiros 18 ou 19 dias de incubação é com a extremidade mais larga, que contém a câmara de ar, voltada para cima. Nas máquinas atuais a viragem neste período é automática, ocorrendo a cada hora num ângulo de 45°. Após a transferência para o nascedouro, os ovos são colocados em posição horizontal nas bandejas de eclosão e o processo de viragem é descontinuado (Decuypere, 2001).

Dentre os benefícios da viragem dos ovos durante a incubação estão a prevenção de aderências prematuras do embrião e da gema na membrana da casca, redução de distorções no posicionamento do embrião, completo fechamento da membrana corioalantóide na extremidade mais fina do ovo e utilização adequada do albúmen pelo embrião em desenvolvimento (Tullet e Deeming, 1987; Tullet, 1990; Tona et al., 2003).

Tullet e Deeming (1987) afirmaram que o atraso no nascimento ou a inabilidade para eclodir dos embriões que não sofrem viragem não está relacionado ao peso do ovo, porosidade da casca ou perda de peso durante a incubação e sim ao desenvolvimento da membrana do saco vitelino e ao grau de absorção do albúmen que se completam aproximadamente entre 12 e 13 dias de incubação. Baggott et al. (2002) ponderaram a importância da viragem na formação e composição do fluido sub-embriônico, pois este está intimamente ligado ao crescimento da área vasculosa na membrana do saco vitelino.

De acordo com Deeming (1989) e Wilson (1991), o período crítico por falta de viragem dos ovos estende-se do 3° ao 7° dia de incubação. Neste período, a falta de viragem pode ter aspectos adversos na troca de gases através da membrana corioalantóide, pois o albúmen não absorvido se interpõe entre esta membrana e a membrana interna da casca, impedindo a expansão da área vasculosa, reduzindo o intercâmbio de gases entre o embrião e o meio externo. Pearson et al. (1996) encontraram diferenças entre parâmetros fisiológicos dos embriões submetidos ou não a viragem durante o período de incubação, sendo que a taxa de consumo de oxigênio e a frequência cardíaca dos embriões de ovos sem viragem foram significativamente menores quando comparados aos embriões que sofreram viragem. Tona et al. (2005) complementaram estas afirmações, relatando também diminuição da pressão de oxigênio arterial dos embriões na fase final da incubação e aumento dos valores do hematócrito e dos níveis dos hormônios tireoideanos. Segundo os autores, algumas pesquisas sobre a duração, frequência e ângulo de viragem têm sugerido que estes fatores além de influenciarem os parâmetros fisiológicos dos embriões e pintos, interferem no rendimento de incubação, no desempenho da criação, como também interagem com a idade e linhagem da matriz.

2.4.1.1. Efeitos da duração da viragem

Estudando o período de viragem dos ovos na incubação sobre a eclodibilidade e o desempenho dos pintos após a eclosão, Proudfoot et al. (1981) não encontraram evidências de efeitos na eclodibilidade quando a viragem foi realizada até 13 dias de incubação, assim como a performance dos pintos não foi prejudicada quando a viragem foi cessada aos 16 dias. Wilson e Wilmering (1988) realizaram experimentos com ovos de matrizes leves e pesadas submetidos a períodos de viragem de 10, 13, 16 e 19 dias na incubadora. A incidência de embriões com mal posicionamento não foi influenciada pelos tratamentos. Os autores concluíram que a viragem poderia ser descontinuada aos 16 dias sem provocar redução da eclodibilidade.

Em estudo de Tona et al. (2001), ovos de matrizes Hybro®, Cobb® e Ross® entre 27 a 75 semanas, foram transferidos da incubadora para as bandejas de nascimento com 15, 16, 17 ou

18 dias de incubação. A melhor eclodibilidade foi observada nos ovos transferidos com 18 dias quando comparada aos demais tratamentos, entretanto as diferenças entre as eclodibilidades dos ovos transferidos aos 15, 16 e 17 dias não foram significativas. O percentual de ovos não eclodidos aumentou com a idade das matrizes e foi afetado pela linhagem. A eclosão dos ovos da linhagem Hybro® e dos provenientes de lotes mais velhos (acima de 51 semanas) foi a mais afetada pela antecipação da transferência. Os autores recomendaram que além da característica individual de cada linhagem, o momento da transferência deve ser considerado para otimizar a eclodibilidade e a qualidade dos pintos, especialmente quando ovos de matrizes velhas são incubados.

Tona et al. (2003) utilizaram ovos de matrizes Cobb® com idade entre 28 e 58 semanas para avaliarem os efeitos da duração da viragem (até 12, 15 ou 18 dias de incubação) sobre os níveis de corticosterona, os níveis de hormônios tireoideanos, a pressão parcial de gases na câmara de ar no momento da bicagem interna e os parâmetros produtivos. O nível de corticosterona aumentou a partir dos 15 dias de incubação até o momento da eclosão, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos, indicando que este hormônio não teve influência sobre os parâmetros estudados neste experimento. A viragem realizada até 18 dias de incubação aumentou os níveis de T_3 e T_4 no embrião, sugerindo aumento da atividade metabólica com conseqüente redução na concentração de oxigênio e aumento de gás carbônico na câmara de ar. Neste tratamento ainda foi observado melhor eclodibilidade (90,4%) do que os ovos virados até 15 dias (86,4%). Porém o tratamento com a viragem até 12 dias de incubação teve eclodibilidade de 88,7%, sendo este resultado estatisticamente semelhante aos tratamentos com duração de 15 e 18 dias. O peso do pinto com um dia foi semelhante entre os três tratamentos, entretanto o peso aos sete dias reduziu significativamente à medida que aumentou a duração da viragem. Foi levantada a hipótese de que como em ovos não virados a utilização do saco vitelino é mais lenta, a viragem em período prolongado promova rápida e excessiva utilização do saco vitelino e resulte em pior desempenho na primeira semana.

Para avaliar o efeito da duração da viragem em três períodos de desenvolvimento embrionário (zero a sete; oito a 14 e 15 a 18 dias) sobre o rendimento de incubação, Elibol e Brake (2004) utilizaram ovos de matrizes Ross 308® com idades de 29 e 68 semanas. Os autores testaram as combinações de presença ou ausência de viragem nestes três períodos. A ausência de viragem entre zero a sete dias de incubação apresentou os maiores efeitos negativos sobre a eclodibilidade, sendo estes mais acentuados nos ovos provenientes do lote mais velho. A falta de viragem neste período provocou alta mortalidade na fase inicial ou causou atraso no crescimento e desenvolvimento, que foi evidenciado nos dois terços finais da incubação devido ao aumento nas mortalidades intermediária e tardia e problemas de mal posicionamento. Os autores explicaram que quando a viragem não é feita na primeira semana de incubação o embrião ou as membranas extra-embriônicas aderem-se à membrana da casca, impedindo o crescimento adequado da membrana corioalantóide e causam anormalidades no desenvolvimento ou a morte do embrião. Outro fator nocivo seria o aumento da viscosidade do albúmen que restringe a expansão do suprimento sanguíneo do embrião e leva à formação do “anel de sangue”, comumente visto na mortalidade aos cinco dias de incubação. Com a realização da viragem na primeira semana, a ausência ou a presença deste procedimento nos demais dias de incubação não revelaram diferenças significativas, demonstrando que a viragem sendo continuada após sete dias de incubação possuiu pouco ou nenhum benefício sobre a mortalidade embrionária. Quando da ausência de viragem até sete dias de incubação, os efeitos deletérios pioraram à medida que a falta de viragem foi estendida. Independente dos tratamentos de viragem, as incubações provenientes de ovos de matrizes com 68 semanas revelaram médias de eclosão sobre ovos férteis inferiores às encontradas em ovos de matrizes com 29 semanas.

Tona et al. (2005) incubaram ovos de matrizes Cobb® para estudar o efeito da duração da viragem sobre a utilização do albúmen e peso do embrião. Os tratamentos foram definidos pela ausência de viragem, viragem realizada até nove, 12, 15 ou 18 dias de incubação. Estes autores afirmaram que a viragem aumentou a utilização do albúmen e que este fator parece estar relacionado ao crescimento embrionário, visto que embriões cujos ovos não foram virados tiveram menor peso e maior albúmen residual quando comparados aos tratamentos onde ocorreram viragens. A incubação até os 12 dias já foi suficiente para completa absorção do albúmen e os maiores pesos embrionários

ocorreram nas viragens até 15 e 18 dias, levando os autores a considerarem que a viragem tem efeito estimulante sobre a taxa de crescimento do embrião e que esta não deveria ser cessada pelo o menos até os 15 primeiros dias de incubação.

2.4.1.2. Efeitos da frequência da viragem

Ovos de matrizes Ross 308® com 37, 41, 59 e 63 semanas foram submetidos a três frequências de viragem diárias (24, 48 ou 96 vezes) entre o terceiro e o 11° dia de incubação (Elibol e Brake, 2003). De um a dois e de 12 a 18 dias, os ovos foram virados 24 vezes diariamente. A eclodibilidade sobre os ovos férteis foi maior para os lotes mais novos (37 e 41 semanas) quando comparada aos lotes mais velhos (59 e 63 semanas de idade). Ovos de matrizes com 59 e 63 semanas apresentaram maior mortalidade inicial (zero a seis dias) e tardia (18 a 21 dias). Foi observado maior eclodibilidade dos ovos submetidos a 96 viragens diárias, atribuída principalmente à redução na porcentagem de mortalidade tardia. Esta faixa de idade, segundo os pesquisadores, poderia estar relacionada a anormalidade no desenvolvimento da membrana corioalantóide devido a associação de atraso no seu crescimento e falta de viragem nos estágios iniciais de incubação.

Investigando a influência da frequência da viragem durante a segunda semana de incubação Elibol e Brake (2006b) utilizaram ovos de lotes Ross 308® com idades de 34 e 37 semanas considerados jovens, e 59 e 61 semanas, classificados como velhos. Os ovos foram submetidos a duas frequências (24 e 96 viragens por dia) e quatro períodos de viragem (até 8, 10, 12 ou 14 dias de incubação). A melhor eclosão sobre os ovos férteis foi verificada nos ovos de matrizes mais novas independentemente da frequência e do período de viragem utilizados. Não houve diferença significativa entre os períodos de viragem aplicados no experimento, indicando que a viragem poderia ser descontinuada a partir de oito dias de incubação. A viragem realizada 96 vezes por dia aumentou a eclodibilidade significativamente, devido principalmente à interação entre a idade da matriz e a frequência de viragem, pois reduziu a mortalidade embrionária tardia nos ovos de lotes velhos. Como os lotes velhos foram beneficiados pelo aumento na frequência da viragem, foi concluído que a idade do lote e a qualidade do ovo devem ser consideradas nos estudos sobre incubação.

Estes mesmos autores em 2008, examinaram o efeito da posição dos ovos e da duração do armazenamento associados à subsequente viragem no período de incubação, sobre a eclodibilidade e à mortalidade embrionária de matrizes pesadas com 60 e 62 semanas de idade. Os ovos foram dispostos com a parte mais larga do ovo para cima ou para baixo durante 3 ou 14 dias de armazenamento, e após estes períodos, foram incubados com uma frequência de viragem de 24 ou 96x por dia, durante os primeiros 18 dias de incubação. Maiores períodos de armazenamento causaram decréscimo na eclodibilidade independente das outras variáveis. Houve interação entre posição do ovo e período de armazenamento durante 14 dias, sendo que ovos armazenados com a parte mais larga para baixo apresentaram melhores eclodibilidades. De acordo com os pesquisadores, este resultado pode ser associado ao fato de que, em períodos de armazenamento mais prolongados, esta posição provoca maior centralização do saco vitelino e localização do blastodermo na região equatorial do ovo, evitando mortalidade embrionária nos primeiros dias de incubação. Neste mesmo período de armazenamento, também foi observada que a viragem de 96x por dia na incubação melhorou significativamente a eclosão. Este fato foi justificado pela possibilidade de melhor interação do blastodermo com maior quantidade de albúmen fresco em frequência de viragem aumentada nos períodos de armazenamento prolongados. Os dados deste experimento sugeriram que os efeitos prejudiciais do armazenamento prolongado podem ser amenizados tanto pela posição invertida do ovo neste período, quanto pelo subsequente aumento da frequência de viragem na incubação.

2.4.1.3. Efeitos do ângulo da viragem

French (1997) sugeriu que a redução do ângulo de viragem poderia aumentar o espaço e facilitar o fluxo de ar entre as bandejas, beneficiando a ventilação dos ovos e resultando em redução da velocidade de ar necessária dentro da máquina de incubação, visto que a distância entre as

bandejas durante a viragem reduz significativamente quando comparada à distância entre estas em posição horizontal.

Em um primeiro experimento, Elibol e Brake (2006a) incubaram ovos de matrizes Ross 308® com 55 e 57 semanas de idade em três ângulos de viragem, 35; 40 e 45°. Os ovos foram submetidos a 24 viragens diárias até o dia da transferência. A incidência de embriões mal posicionados aumentou com a viragem feita no ângulo de 35° quando comparada às viragens nos ângulos de 40° e 45°, que foram semelhantes entre si. Entretanto este fato não foi suficiente para alterar a eclodibilidade sobre os ovos férteis, que não foi influenciada pelo ângulo de viragem.

No segundo experimento deste trabalho, os ovos de matrizes com 57 e 61 semanas de idade foram virados em ângulos de 35 e 45°. Duas frequências foram estudadas no ângulo de 35° (24 e 96 vezes diárias) enquanto os ovos foram virados apenas 24 vezes no ângulo de 45°. A incidência de embriões mal posicionados aumentou quando a viragem ocorreu no ângulo de 35° na frequência de 24 vezes por dia quando comparada aos outros dois tratamentos, que foram semelhantes entre si. Porém, em relação à eclodibilidade sobre ovos férteis, esta variável continuou não sofrendo influência do ângulo de viragem.

Com os resultados obtidos nestes dois experimentos os autores concluíram que o ângulo da viragem não influencia a eclodibilidade dos ovos férteis e que a incidência de embriões mal posicionados pode ser amenizada pelo acréscimo concomitante da frequência de viragem.

2.4.2. Umidade relativa do ar (UR)

O nível de UR dentro das incubadoras e nascedouros é um dos principais fatores responsáveis pelo sucesso no processo de produção de pintos de um dia. O ovo é constituído por 75% de água e durante o desenvolvimento embrionário parte desta água atravessa os poros da casca movendo-se sempre do ponto mais úmido, que normalmente é o interior do ovo, para o ponto mais seco, o ambiente. Quanto mais seco for o ar em volta do ovo, maior será sua taxa de evaporação. Por esse motivo a umidade em volta dos ovos férteis deve ser controlada para assegurar desenvolvimento adequado dos embriões (Tullett, 1990; Decuypere, 2001).

Durante a incubação, a difusão de oxigênio para dentro do ovo (que será consumido pelo embrião durante o seu desenvolvimento), e a eliminação para o ambiente de água e dióxido de carbono produzido pelo embrião, são proporcionais e simultâneas. Esta perda de umidade do embrião para o meio externo possibilita o aumento da câmara de ar (North e Bell, 1990; Taylor, 1999). No momento em que o pinto bica ou perfura a câmara de ar necessita encontrá-la de tamanho adequado para efetuar com êxito a transição da respiração corioalantóidea para a pulmonar (Salazar, 2000).

Alguns autores indicam que a UR nas incubadoras deve ser ajustada entre 56 a 60% para que os ovos de matrizes pesadas tenham uma perda de aproximadamente 12% de umidade durante os primeiros 18 dias de incubação, pois ovos que perdem cerca de 11 a 13% de seu peso inicial nesta fase têm melhores índices de eclosão, quando comparados com os ovos que têm menores perdas de peso (Tullett, 1990; Maudin, 1993; Brake, 1996; Christensen, 1997; Rosa et al., 1999). Segundo Marques (1994), a UR durante o nascimento manter-se acima da UR de incubação.

De acordo com Taylor (1999), Salazar (2000) e Decuypere et al. (2003), se a UR na incubadora for muito baixa, haverá perda excessiva de umidade dos embriões, prejudicando a eclosão e resultando em pintos pequenos e desidratados. Por outro lado, se a UR na incubadora for muito alta, os embriões tendem a eclodir precocemente, e com frequência se apresentam molhados, podendo também ocorrer albúmen residual. Em casos extremos, os pintos podem eclodir sem alcançarem o pleno desenvolvimento. Estes autores relataram que as consequências indesejáveis da utilização de níveis inadequados de UR durante o processo de incubação poderiam também estender-se ao período de criação das aves, visto que a qualidade dos pintos é comprometida.

2.4.2.1. Efeitos da umidade relativa do ar sobre o rendimento de incubação e desempenho da progênie

Incubando ovos de mesmo peso produzidos por matrizes pesadas em diferentes níveis de UR (50% e 33%), Tullett e Burton (1982) encontraram maiores pesos dos pintos após a eclosão (48,78g) e menor perda de peso durante a incubação (12,05%) quando os ovos foram incubados com maior nível de UR. Porém, o peso do saco vitelino não foi significativamente afetado pela UR, sendo os pesos médios dos mesmos de 8,85g e 8,63g, quando os ovos foram incubados com 50% e com 33% de UR, respectivamente.

French e Tullett (1991) sugeriram que para a obtenção de melhores rendimentos de incubação, é possível ajustar a UR na incubação baseando-se pela idade da matriz. Vick et al. (1993) realizaram dois experimentos, sendo que no primeiro pesquisaram os efeitos de dois níveis de UR na incubadora (50 e 58%) sobre a eclodibilidade de ovos de matrizes pesadas durante o período de 28 até 64 semanas de idade, e concluíram que os ovos de matrizes mais jovens tiveram melhor taxa de eclosão e menor mortalidade embrionária precoce em UR mais baixa (50%). Os ovos incubados com 58% de UR apresentaram melhores taxas de eclodibilidade e menores índices de mortalidade embrionária tardia em matrizes a partir de 60 semanas de idade. No segundo experimento, os autores avaliaram os mesmos níveis de umidade do experimento anterior, porém utilizaram ovos de matrizes pesadas com 34 e 66 semanas de idade. Neste estudo verificaram que ovos originados de matrizes com 66 semanas tiveram menor eclodibilidade e os ovos de matrizes mais novas, os melhores resultados, quando foi usado o menor nível de UR na incubadora (50%). Os autores explicaram que devido à estrutura dos ovos de matrizes jovens oferecerem certa resistência à difusão de gases e vapor de água, quando são submetidos a uma umidade mais baixa, possuem maior facilidade em realizar as trocas gasosas e de vapor de água necessárias durante a incubação. Entretanto, como os ovos de matrizes mais velhas não apresentam esta mesma resistência, a UR mais baixa na incubação é responsável pela queda na eclodibilidade devido à excessiva perda de peso dos mesmos.

Para avaliar os efeitos da UR nas incubadoras e da idade da matriz sobre a perda de peso dos ovos de um a 18 dias de incubação e sobre a taxa de eclosão, Buhr (1995) trabalhou com ovos de matrizes da linhagem Hy-Line® com idades de 34 e 49 semanas, os quais foram incubados em máquinas com diferentes níveis de UR. Para os ovos de matrizes com 34 semanas de idade, os percentuais de perda de peso foram de 16,6, 12,7 e 9,1%; e para os ovos de matrizes com 49 semanas de idade as perdas foram de 18,2, 13,6 e 9,6%; usando níveis de UR de 40, 55 e 70%, respectivamente. O autor concluiu que independente da idade da matriz a perda de peso do ovo é maior quanto menor for a UR no ambiente de incubação. Em relação à eclodibilidade, o melhor resultado foi obtido com os ovos de matrizes com 34 semanas de idade, incubados a 55% de UR. Por outro lado, a UR nas incubadoras não teve influência significativa sobre a taxa de eclosão dos ovos produzidos pelas matrizes com 49 semanas de idade.

Bruzual et al. (2000a) realizaram um experimento para investigar os efeitos de diferentes níveis de UR (43, 53 e 63%) durante todo o período nas máquinas de incubação e eclosão sobre o rendimento de incubação e peso dos pintos de matrizes pesadas jovens (26, 28 e 30 semanas de idade). Os pesos dos pintos ao nascer foram significativamente maiores com o aumento da UR na incubadora e a idade das matrizes. Foi evidenciado que o peso do pinto foi maior quando os ovos foram incubados com níveis mais elevados de UR, mas que esta alta umidade pode ter efeito prejudicial sobre o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade, uma vez que se observou aumento de mortalidade embrionária tardia nos ovos incubados com níveis de U.R. de 63% e 53% respectivamente.

Em outro estudo de Bruzual et al. (2000b), foram avaliados a eclosão e o desempenho de frangos de corte originados de matrizes pesadas entre 26 e 31 semanas de idade, cujos ovos foram incubados com diferentes UR (43, 53 e 63%) durante o 16° ao 21° dia de incubação. Não foram encontradas diferenças significativas em relação aos tratamentos de UR sobre a eclodibilidade dos ovos férteis. Entretanto, o melhor desempenho com relação ao ganho de peso, conversão alimentar

e taxa de mortalidade, foi alcançado nos tratamentos provenientes da eclosão com 53% de UR no final do período de incubação, independente da idade da matriz. Trabalhando com matrizes pesadas jovens, Peebles et al. (2001) sugeriram que há uma depressão na embriogênese com a redução da UR na incubadora para 43%. Este fato pode acentuar um desempenho insatisfatório após a eclosão, e também resultar em problemas de qualidade e desempenho dos pintos causados por alta ou baixa umidade na incubadora.

Os efeitos da idade da matriz, da UR na incubadora e do peso dos ovos sobre a eclodibilidade, perda de peso dos ovos até a transferência para a câmara de eclosão e mortalidade embrionária, foram estudados por Rosa et al. (2002). Estes autores trabalharam com ovos de matrizes de corte com idades de 34, 39, 53 e 63 semanas, selecionados por categorias de pesos de ovos (médias de 60,0; 65,1; 66,6; 69,0 e 73,2g), e incubados em máquinas cujos teores de UR na incubadora foram de 51, 56 e 61%. Independente do nível de UR na incubadora foi observada uma redução na eclodibilidade à medida que as aves avançaram a idade. A UR de 51% na incubadora propiciou a otimização dos resultados de eclodibilidade e reduziu a mortalidade embrionária, independente da idade da matriz e do peso dos ovos. Porém, a utilização da UR de 61% em ovos oriundos das matrizes com mais de 53 semanas foi associada ao aumento da mortalidade embrionária.

Trabalhando com ovos de matrizes pesadas incubados com diferentes temperaturas no termômetro de bulbo úmido (29,4°C e 27,6°C), Wineland e Christensen (2003) verificaram que a relação peso do coração/peso do pinto ao nascer foi de 0,78% com a menor UR de incubação e de 0,82% quando a UR de incubação foi maior, sendo que estes valores não foram diferentes estatisticamente.

Barbosa et al. (2005a), ao pesquisarem os efeitos da UR na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação e desempenho da progênie, utilizaram três níveis de UR (48%, 56% e 64%) e ovos de matrizes com três idades (26, 41 e 56 semanas). Neste experimento foi possível observar que as melhores taxas de eclosão ocorreram quando os ovos foram submetidos à UR de 56%, independentemente da idade da matriz. Já os ovos das matrizes com 26 e 41 semanas de idade, revelaram os melhores resultados de eclosão independente da UR. Entretanto, em relação ao desempenho da progênie, os autores não observaram diferenças significativas entre os tratamentos (Barbosa et al., 2005b).

Ao acompanharem o rendimento de incubação de ovos de matrizes leves durante o primeiro ciclo de produção e após a muda forçada, Meir e Ar (2008) estabeleceram que para preservar uma incubação dentro dos parâmetros normais de perda de peso e eclodibilidade, a UR da incubadora deveria ser aumentada gradativamente com a idade das aves de 53% para 66% no primeiro ciclo de produção. Após a muda forçada, os ovos deveriam ser incubados com UR de 61%, sendo aumentada ao longo do período de produção para 67%. Independente do ciclo de produção, melhores eclodibilidades foram alcançadas quando os ovos perderam cerca de 12 a 13% nos primeiros 18 dias de incubação.

2.4.3. Temperatura

Existe uma temperatura mínima, denominada “ponto zero fisiológico ou biológico”, conceituada como o limiar de temperatura acima do qual ocorre desenvolvimento embrionário e abaixo do mesmo o desenvolvimento é paralisado. Essa temperatura varia entre 21° e 23°C (Romijn e Lokhorst, 1955). Além deste fator, os embriões de galinha são poiquilotermos, necessitando de uma fonte externa (ave ou incubadora) para prover calor para o desenvolvimento embrionário e para manter suas funções metabólicas normais (Romijn e Lokhorst, 1955; Wilson, 1991).

De modo geral, a temperatura considerada adequada para se incubar ovos de galinhas é entre 37,5°C a 37,8°C e há relatos que pequenas variações desta temperatura ótima podem ter um impacto significativo no sucesso do desenvolvimento embrionário e eclodibilidade (Wilson,

1991). Segundo Decuypere e Michels (1992) não deveria ser permitido uma variação de temperatura maior que $0,3^{\circ}\text{C}$ do valor ótimo, determinando deste modo, os limites mais altos e mais baixos da temperatura de incubação.

Uma das funções da incubadora é manter a evolução da temperatura interna do embrião. Até os 10 primeiros dias de incubação este processo é relativamente simples, pois a incubadora tem que aquecer os ovos até próximo da temperatura adequada e mantê-la. Porém, após este período, a temperatura do embrião aumenta devido ao maior calor metabólico produzido, assim com a temperatura do ar ao redor dos ovos, e a temperatura da máquina permanece constante (Marques, 1986; Wilson, 1991; French, 1997). Na incubadora de estágio único, a temperatura é reduzida de acordo com o calor produzido pelo embrião; mas, de modo geral os incubatórios possuem incubadoras de estágio múltiplo, tornando-se mais complexa a definição da correta temperatura, porque existem pelo menos três idades de embriões em desenvolvimento em uma única máquina (French, 1997).

Taylor (1999) descreveu alguns problemas na incubação de ovos em altas temperaturas, incluindo aumento da incidência de anormalidades: oculares, do cérebro e tubo neural (se o excesso de calor ocorrer nos três primeiros dias de incubação), problemas envolvendo a pituitária e o hipotálamo, influenciando o desenvolvimento da tireóide e subsequente regulação do metabolismo durante o nascimento e após a eclosão (se o excesso de temperatura ocorrer entre o 10° ao 19° dia de incubação). Também foi descrito o aparecimento de botões negros no umbigo e vísceras ectópicas na incubação em altas temperaturas.

As temperaturas elevadas dos ovos também podem causar problemas morfológicos no embrião. Deeming (2002) e Leksrisonpong et al. (2007) relataram que em embriões submetidos a aquecimento excessivo o peso do coração foi reduzido.

Joseph et al. (2006) observaram que altas temperaturas no início da incubação reduziram a eclodibilidade de pintos vendáveis e altas temperaturas no nascedouro aumentaram o percentual de pintos fracos e aleijados.

2.4.3.1. Temperatura da incubadora x temperatura dos embriões

A interpretação dos estudos de temperatura de incubação é questionável, porque a maioria dos autores usa a temperatura de operação da máquina como a temperatura aplicada aos ovos. Porém o melhor método para verificação da temperatura de incubação é através da temperatura interna do embrião, e esta pode não ser a mesma acusada nos sensores da máquina (Meijerhof, 1999).

A temperatura do embrião é dependente de três fatores: da temperatura do ar em volta dos ovos, da troca de calor entre o ovo e o meio ambiente e do calor metabólico produzido pelo embrião (French, 1997). Além disso, as temperaturas embrionárias podem diferir da temperatura da máquina porque há diferenças na condutividade térmica entre os sistemas de incubação e entre a habilidade dos mesmos em controlar a temperatura de forma uniforme (Hill, 2002).

Mauldin e Buhr (1995) mensuraram temperaturas dos ovos em incubadoras de múltiplo estágio e observaram que as temperaturas estavam em média 1°C mais quentes comparadas as temperaturas controle da máquina. Leksrisonpong et al. (2007) também informaram que em incubadoras de estágio único, as temperaturas dos ovos são aproximadamente 1°C a $1,5^{\circ}\text{C}$ maiores que a temperatura da máquina.

Segundo Meijerhof e Van Beek (1993) a temperatura interna do ovo não ultrapassa $0,2$ a $0,3^{\circ}\text{C}$ da temperatura da casca, sendo considerada uma opção desejável para retratar a temperatura interna do ovo. Lourens (2001) relatou que a mensuração da temperatura interna do ovo requer métodos destrutivos que influenciam o desenvolvimento embrionário e a eclodibilidade, e que o uso da temperatura da casca seria uma alternativa para ser utilizada como reflexo da temperatura

embrionária. O autor encontrou uma média de temperatura de casca de 37,8°C em incubadoras de estágio único; entretanto foi observada uma variação de 5°C dependendo do estágio do desenvolvimento embrionário e posição do ovo dentro da máquina.

2.4.3.2. Efeitos da temperatura de incubação sobre o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade

A temperatura no período de incubação controla a taxa de desenvolvimento embrionário e o crescimento sucessivo e proporcional dos diferentes órgãos e estruturas corporais, e também interfere no resultado final do processo de incubação, tanto em quantidade como em qualidade (Meijerhof, 1999).

Dias e Müller (1998) avaliaram o desenvolvimento embrionário em ovos incubados às temperaturas de 34; 37,5 e 40°C durante um período de 48, 72 ou 96 horas. Os dados dos níveis de desenvolvimento das estruturas estudadas demonstraram que a temperatura de 40°C nos períodos de 48 e 96 horas de incubação, promoveram aceleração nos processos de morfogênese embrionária. Taylor (1999) complementou esta observação, informando que a redução da temperatura ótima para a incubação retarda o processo de desenvolvimento dos embriões, aumentando o período de incubação. Já o aumento na temperatura acelera o processo, e conseqüentemente diminui este período, podendo causar efeitos negativos na eclodibilidade de pintos vendáveis.

Wineland et al. (2000) relataram que na incubação de ovos em alta temperatura (38,6°C x 37,5°C) no início ou no final do período de incubação, ocorreu menor utilização do saco vitelino e aumentou a utilização do glicogênio como fonte de energia. Segundo Lourens et al. (2006), quando o embrião requer mais energia do sistema anaeróbico em condições de alta temperatura, a produção de calor e a taxa de desenvolvimento embrionário irão decrescer.

Yalçın et al. (2003) conduziram um experimento para avaliar os efeitos do calor e frio durante a incubação sobre a estabilidade do desenvolvimento de embriões de frango de corte. Os autores submetem os ovos a diversos tratamentos de temperatura, sendo: 37,8°C ao longo de todo o período de incubação (tratamento controle); resfriados diariamente a 36,9°C por seis horas durante os primeiros oito dias de incubação; resfriados diariamente a 36,9°C por seis horas durante o 10° e 18° dias de incubação; aquecidos diariamente a 39,6°C por seis horas durante os primeiros oito dias de incubação e aquecidos diariamente a 39,6°C por seis horas durante o 10° e 18° dias de incubação. As partes do esqueleto como face, asa, canela, tíbia e fêmur foram pesadas no 10°, 18° e 21° dia de incubação. Os resultados deste estudo demonstraram que assimetrias nas partes do esqueleto que ocorrem no início da incubação tendem a decrescer próximo ao nascimento. Entretanto, a eclodibilidade sobre os ovos férteis não sofreu influência do tratamento térmico.

Para verificar os efeitos de manipulação térmica em diferentes períodos da embriogênese sobre a eclodibilidade, peso dos pintos ao nascimento e capacidade de termorregulação das aves no terceiro dia de criação, Yahav et al. (2004) avaliaram temperaturas de 39,5° ou 41°C durante três horas, no período de oito a 10 dias ou 16 a 18 dias de incubação. Aos três dias de idade os pintos sofreram um desafio térmico de 41°C durante seis horas (pintos desafiados) ou continuaram em condições normais (pintos não desafiados). Não foram identificadas diferenças significativas de peso corporal ou níveis plasmáticos de T₃ e T₄ entre os tratamentos. Devido a maior eclodibilidade no tratamento com a manipulação térmica de 39,5°C por três horas durante o final da incubação, conclui-se que este manejo promoveu melhor termo tolerância, pois reduziu o nível de corticosterona de pintos expostos ao desafio térmico no terceiro dia de vida. Estes pesquisadores ressaltaram que manipulações térmicas nos primeiros dias de vida, quando a regulação de temperatura corporal e mecanismo de “feed-back” dos pintos ainda estão imaturos, poderiam causar alterações no limiar de resposta termorreguladora das aves. Entretanto, como neste estudo a capacidade de enfrentar desafios térmicos foi testada somente no terceiro dia de criação, os efeitos deste procedimento em frangos de corte deveriam ser elucidados em diferentes estágios de crescimento para a confirmação desta eficácia em promover termotolerância.

Yildirim e Yetisir (2004) transferiram ovos de matrizes pesadas Ross® para os nascedouros aos 17 dias de incubação e após este período utilizaram diferentes temperaturas nestas máquinas (36,1; 37,2; 38,3 e 39,9°C) até o nascimento. Os ovos de todos os tratamentos até os 17 dias de incubação foram submetidos às mesmas condições de temperatura e UR nas incubadoras, sendo as médias de 37,6°C e 58%, respectivamente. Ovos incubados nas temperaturas de 37,2 e 38,3°C nos nascedouros tiveram melhorias significativas na eclodibilidade quando comparados aos outros tratamentos. Não foi observado diferenças na incidência de embriões mal posicionados entre os grupos, sendo que a mortalidade embrionária tardia foi significativamente maior nas temperaturas de 36,1 e 39,9°C.

Lourens et al. (2005) estudaram o efeito de diferentes temperaturas da casca durante o período de incubação sobre o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade em ovos de matrizes de 28 e 60 semanas de idade. Para manter a temperatura da casca desejada, foram fixados sensores nos ovos que serviram como referência para regular a temperatura da máquina. Os ovos incubados foram submetidos a temperaturas de 36,7°C ou 37,8°C durante a primeira semana, 37,8°C durante a segunda semana e 37,8°C ou 38,9°C durante a terceira semana de incubação. Os autores afirmaram que os ovos que foram incubados na temperatura de casca mais baixa durante a primeira semana tiveram retardo no desenvolvimento embrionário e os pintos tiveram menor temperatura retal ao nascimento. Melhores eclodibilidades e desenvolvimento embrionário foram evidenciados quando a temperatura da casca foi mantida constante em 37,8°C ao longo de toda a incubação, independente da idade da matriz. Foi demonstrado que ovos de matrizes com diferentes idades requerem diferentes ajustes da máquina para manter a mesma temperatura de casca, especialmente na idade mais velha, onde a temperatura da máquina na primeira semana teve que ser menor para manter a temperatura de 37,8°C quando comparado à temperatura da idade de 28 semanas.

Avaliando a influência do tamanho do ovo sobre o desenvolvimento embrionário e a produção de calor do embrião, Lourens et al. (2006) incubaram ovos pequenos (56,1g) e grandes (70g) em duas câmaras respirométricas que mantiveram constante a temperatura de casca em 37,8°C. Para alcançar esta constante, a temperatura da máquina dos ovos grandes teve que ser diminuída a partir do 15º dia de incubação, coincidindo com aumento na produção de calor destes embriões (figuras 10 e 11). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Hulet e Meijerhof (2001), que constataram que o calor metabólico do embrião começa a ser significativo em torno do quarto dia de incubação e ao nono dia já resulta em temperaturas acima da temperatura da máquina. Devido a este fator, embriões frequentemente tornam-se superaquecidos mesmo quando a temperatura da máquina é mantida corretamente; principalmente em ovos maiores, que produzem maior calor metabólico e encontram mais dificuldade de dissipá-lo. Este fato deve ser considerado também em ovos de matrizes com diferentes idades, visto que galinhas velhas produzem ovos maiores sendo frequentemente observado dificuldade em dispor os ovos nas bandejas de incubação à medida que o lote avança a idade.

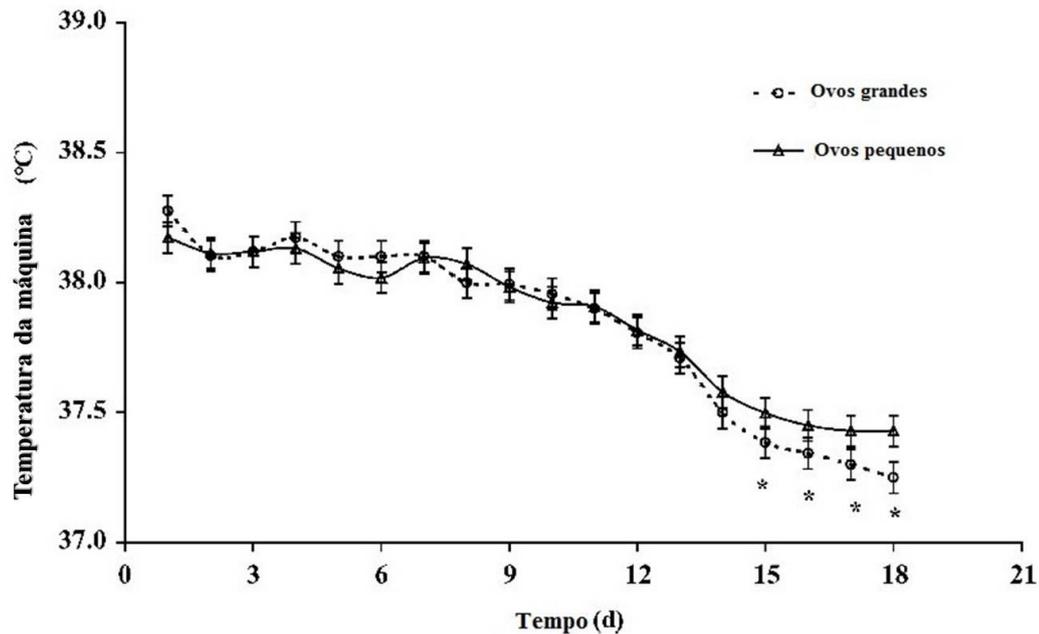


Figura 10. Temperatura da máquina requerida para incubação numa temperatura de casca de 37,8°C em ovos pequenos e grandes. Adaptado de Lourens et al. (2006).

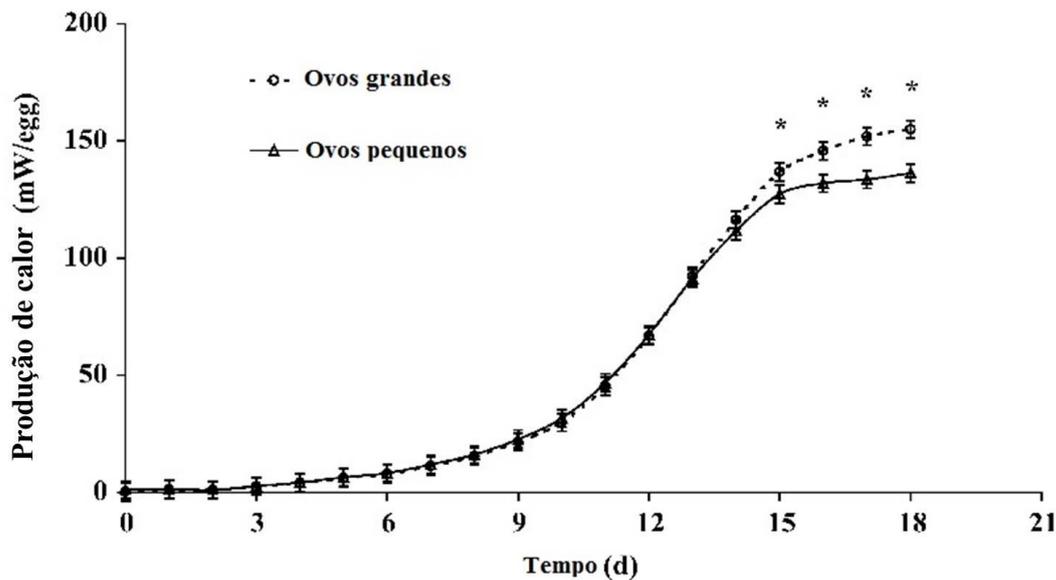


Figura 11. Produção de calor (mW) em ovos grandes e pequenos durante o período de incubação. Adaptado de Lourens et al. (2006).

Lourens et al. (2007) trabalharam com ovos de pesos semelhantes para avaliar diferentes temperaturas de casca (37,8°C e 38,9°C) e diferentes concentrações de oxigênio (17%, 21% e 25%) durante o período de nove a 19 dias de incubação sobre o crescimento e metabolismo embrionário. Foi percebido que inicialmente a maior temperatura aumentou a produção de calor dos embriões independente do nível de O₂. Posteriormente, a produção de calor foi significativamente maior quando o tratamento de alta temperatura e alta concentração de oxigênio foi utilizado (38,9°C e 25%) e menor no tratamento de alta temperatura e baixa concentração de oxigênio (38,9°C e 17%). A temperatura de 38,9°C também diminuiu o tempo de eclosão, peso do pinto e peso relativo do coração. O aumento da concentração de oxigênio, aumentou o peso do pinto sem o seu saco vitelino e diminuiu o peso do saco vitelino residual independente da temperatura. Segundo os autores, se o

desenvolvimento embrionário é refletido pela produção de calor, pode-se concluir que alta temperatura de casca primariamente aumenta o metabolismo até a segunda semana de incubação. Durante a terceira semana, a concentração de oxigênio teve um efeito maior em determinar a taxa de desenvolvimento embrionário.

O mesmo resultado obtido por Lourens et al. (2007) em relação ao peso do coração foi encontrado por Leksrisonpong et al. (2007), que avaliaram altas temperaturas no terço final da incubação. Após os 14 dias, ovos submetidos a 39,5°C tiveram seus pesos relativos do coração diminuídos, indicando que altas temperaturas podem alterar o número de células mitóticas ativas dos miócitos e conseqüentemente podem estar relacionadas a problemas cardiovasculares de desenvolvimento e função, como a síndrome da morte súbita e ascite.

2.4.3.3. Efeito da temperatura de incubação sobre o desempenho da progênie

O impacto total dos desvios de temperatura do ovo na incubação sobre o retorno econômico para a indústria avícola pode exceder os efeitos de eclodibilidade e qualidade do pinto, por afetar também o desempenho pós-eclosão (Lourens e Van Middelkoop, 2000). De acordo com Deeming (2002), pintos de corte que eclodem de ovos superaquecidos, podem ter diferentes taxas de crescimento e conversão alimentar durante o período de crescimento até o abate, quando comparados com frangos nascidos de ovos incubados sob condições ideais. Nicholson (2002) afirmou que pintos de matrizes pesadas que sofreram estresse calórico durante a incubação são mais susceptíveis a problemas imunossupressores e doenças entéricas.

Yalçin et al. (2005) avaliaram o desempenho pintos de matrizes novas e velhas que foram submetidos a diferentes temperaturas durante a incubação (37,8°C de um a 18 dias ou 39,6°C por seis horas diárias no período de 10 a 18 dias). A partir dos 22 dias de criação incluiu-se novos tratamentos, sendo: aves que permaneceram em temperatura padrão e aves que foram expostas diariamente a temperatura de 32 a 35°C por cinco horas. Foram encontrados menores pesos ao abate em aves de matrizes velhas que tiveram alta temperatura durante a incubação, independentemente dos tratamentos no período de criação. A temperatura de incubação não causou efeito significativo nos níveis plasmáticos de T₃, glicose e ácido úrico nos frangos aos 21 dias de idade. A assimetria do esqueleto das aves também não foi influenciada pelos tratamentos. Os dados deste experimento sugeriram que a idade da matriz tem um papel mais importante na habilidade de termorregulação dos frangos, sendo que aves mais jovens tiveram esta capacidade melhorada.

Joseph et al. (2006) conduziram um experimento para determinar o efeito de baixa temperatura de casca (36,6°C) no início de incubação e alta temperatura de casca (39,5°C) no nascedouro sobre o desempenho de frangos. Este estudo demonstrou que mantendo a temperatura do ovo em 37,8°C (tratamento controle) durante todo o período de incubação, especialmente de 0 a 10 dias, parâmetros como ganhos de peso e conversão alimentar foram otimizados.

Os efeitos da temperatura do nascedouro nos ovos de matrizes com diferentes idades (29 e 57 semanas) sobre o desempenho pós-eclosão, também foram pesquisados por Hulet et al. (2007). Estes autores mantiveram três temperaturas de casca (37,5°C; 38,6°C e 39,7°C), consideradas baixa, média e alta temperatura, respectivamente; no período de 16 a 21 dias de incubação. Independente da idade da ave ou da temperatura do nascedouro, não houve diferenças significativas na mortalidade acumulada aos 44 dias de idade dos frangos, assim como também não foi observado efeito sobre a conversão alimentar.

Os efeitos da temperatura durante o início e final dos estágios de formação dos ossos do embrião durante a incubação, sobre a diferenciação da placa de crescimento condrocitária e sua correlação com a incidência de discondroplasia tibial foram estudados por Yalçin et al (2007). Três temperaturas foram utilizadas: 37,8°C; 36,9°C e 39°C, consideradas como controle, baixa e alta temperatura de incubação, respectivamente. Altas e baixas temperaturas foram utilizadas durante seis horas diárias, no período de zero a oito dias e 10 a 18 dias de incubação. Concluiu-se que o

resfriamento ou o aquecimento dos ovos no período de zero a oito dias de incubação foi associado à alta prevalência de discondroplasia tibial. Os autores explicaram que a redução ou elevação da temperatura de incubação nos estágios iniciais de desenvolvimento embrionário causaram aumento de colágeno tipo II na cartilagem articular. A zona proliferativa da placa de crescimento mostrou-se mais larga do que àquelas do tratamento controle, além do número bem maior do número de condrócitos presentes em cada coluna. Estes fatores evidenciaram que as células não passaram por diferenciação, explicando a relação com a prevalência de discondroplasia tibial.

Sengor et al. (2008) investigaram os efeitos de uma manipulação térmica aos 14 e 15 dias de incubação sobre o desempenho dos pintos originados de matrizes pesadas com idades de 32, 45 e 56 semanas. Os ovos das aves das três idades foram submetidos à temperatura constante de 37°C durante a incubação, constituindo o tratamento controle. O outro tratamento foi definido pela exposição durante duas horas à temperatura de 39°C no 14° e 15° dia de incubação. A idade da matriz não influenciou o ganho de peso das aves durante as seis semanas de criação independentemente dos tratamentos de temperatura na incubação. Aos 42 dias, o peso das aves do tratamento controle foi significativamente maior independente da idade da matriz. Em relação à mortalidade, os frangos descendentes de matrizes com 56 semanas de idade revelaram menor índice quando submetidos ao tratamento controle, sendo que no caso dos frangos de matrizes com 32 e 45 semanas a mortalidade foi significativamente menor com a manipulação térmica na incubação, indicando que este manejo foi desfavorável apenas para matrizes velhas.

2.4.4. Ventilação

O estudo da produção de calor pelo embrião e a sua necessidade de remoção da incubadora teve início a partir de 1930, quando Romanoff relatou que o processo de desenvolvimento embrionário implica em gastos de energia, que é fornecida pela combustão dos componentes do ovo com o O₂ derivado da atmosfera ao redor dos mesmos; sendo que a quantidade de O₂ exigida pelo embrião aumenta de acordo com a idade. Paralelo ao consumo de O₂, o embrião produz CO₂ em proporções variáveis como resultado do processo metabólico durante as diferentes etapas de seu desenvolvimento, e este gás é expelido para a atmosfera que circunda o ovo.

As incubadoras e os nascedouros devem fornecer ar fresco para o desenvolvimento embrionário. (Kirk et al.,1980). Uma ventilação adequada é essencial para controlar a taxa de ar fresco introduzido dentro das máquinas, com o objetivo de prover corretos níveis de O₂ e eliminação de CO₂; além de manter apropriada circulação interna de ar, prevenindo temperatura irregular e inadequada concentração de gases tóxicos em torno dos ovos (Tullett e Burton, 1982).

A velocidade do ar ao redor dos ovos é uma constante da incubadora e só é mudada com a troca das hélices ou do número de rotações das mesmas. Em incubadoras mal projetadas, a velocidade do ar inadequada de um ponto pode ocasionar nascimentos com resultados bem desiguais: uma baixa velocidade de circulação de ar durante o período de incubação faz com que o embrião não consiga dissipar o excesso de calor e sua temperatura sobe (Marques, 1986). Nas incubadoras com baixa velocidade de ventilação (60m/s) observa-se que a partir dos 10 dias de incubação a temperatura do embrião aumenta. Por outro lado, utilizando alta velocidade do ar (180m/s), após os 10 dias de desenvolvimento embrionário, a temperatura do embrião permanece praticamente inalterada (French, 1997).

Um bom sistema de ventilação ajuda também a controlar a proliferação de microorganismos que constantemente são liberados dentro das incubadoras. Se o ar contaminado não é extraído através de um bom sistema de aeração, as bactérias se disseminarão por toda a planta do incubatório contaminando ovos e pintos recém-nascidos (Taylor, 1997).

Outro fato que intensifica a necessidade de ventilação apropriada é que os embriões das linhagens atuais têm mais massa muscular que os embriões do passado, e conseqüentemente

produzem mais calor. É essencial que este calor seja removido para manter as condições ótimas de incubação para os embriões (French, 1997).

A atmosfera é composta pelos seguintes gases: oxigênio (21%), nitrogênio (78%) e outros gases, incluindo hidrogênio, hélio e gás carbônico. Consequentemente, pelo menos 21% de O₂ seria necessário para o desenvolvimento embrionário; por outro lado, a concentração de CO₂ de no máximo 0,5% é considerada como estimulante para o embrião durante a fase inicial de desenvolvimento; contudo, após o 18º dia de incubação, quando os ovos já se encontram nos nascedouros, a concentração de CO₂ aumenta devido ao aumento gradativo dos nascimentos, tornando-se às vezes, prejudicial ao rendimento de incubação. Uma concentração de CO₂ de 0,1% a 0,45% é aceitável para uma incubadora de carga múltipla, sendo que este valor é elevado para 0,5% a 0,8% nos nascedouros. Uma ventilação ineficiente permite concentrações de CO₂ acima destes padrões, comprometendo a viabilidade do embrião (Brian, 2000).

Julian (2000) descreveu que no nascedouro, pelo fato do embrião modificar a respiração corioalantóidea para pulmonar, o aporte de O₂ deve ser aumentado, pois o contrário causa um quadro de hipóxia que pode desencadear hipertensão pulmonar, levando a ave à ascite na fase de crescimento. Collins (2002) afirmou que os ventiladores devem alcançar uma taxa de troca de ar de um metro cúbico por hora, para que isto permita o máximo movimento aéreo requerido na incubação. Durante o período que estes ovos são transferidos para o nascedouro e estão em estágio mais avançado de desenvolvimento, a renovação de ar deve ser superior.

2.4.4.1. Efeitos da ventilação sobre o rendimento de incubação e desempenho da progênie

Investigando os efeitos da presença ou ausência de ventilação durante os primeiros dez dias de incubação em ovos de matrizes pesadas da linhagem Cobb®, Tona et al. (2006) avaliaram o período de incubação, a eclodibilidade e o nível de corticosterona dos pintos aos 7 dias de idade. Os resultados indicaram que a falta de ventilação no período estudado diminuiu o período de incubação por estimular aumento do nível de CO₂ no ambiente e interferindo na quantidade de O₂ disponível ao embrião. Todavia este acontecimento não determinou diferenças significativas no peso dos embriões ao bicarem a membrana interna da casca e na eclodibilidade entre os tratamentos. O nível de corticosterona dos pintos aos sete dias de idade submetidos à incubação sem ventilação foi menor e segundo os autores, este parâmetro fisiológico pode ser indicativo de melhor desempenho dos pintos durante a criação.

De Smit et al. (2006) conduziram um experimento com os mesmos tratamentos do estudo anterior, incubando ovos de matrizes com idades de 45 e 60 semanas. Neste caso avaliou-se a pressão de CO₂ da câmara de ar no momento anterior à bicagem dos embriões na membrana interna da casca, o período de incubação, a eclodibilidade, o peso dos pintos ao nascimento e aos 42 dias de idade. Os embriões submetidos à falta de ventilação durante os primeiros dez dias de incubação tiveram maior pressão de CO₂ da câmara de ar e adiantaram o nascimento quando comparados ao tratamento com ventilação, independentemente da idade da matriz. Entretanto, o peso das aves ao nascimento e aos 42 dias de idade foi semelhante em todos os tratamentos. Os autores inferiram que o estímulo de CO₂ nos primeiros dias de incubação pode diminuir o período de incubação sem afetar o desenvolvimento pós-eclosão, sendo que mais pesquisas nesta área são necessárias para identificar os mecanismos pelos quais a concentração CO₂ altera o desenvolvimento embrionário e para definir o acréscimo mais adequado de CO₂ ao longo do período de incubação.

Everaert et al. (2007) expuseram ovos de matrizes pesadas a um ambiente da incubadora com 4% de CO₂ durante o período de 10 até 18 dias de incubação e compararam com ovos de um tratamento controle com aproximadamente 0,5% de CO₂. No ambiente com maior CO₂ a concentração de O₂ diminuiu ao longo dos dias avaliados, contudo não foram menores que 19,7%. Não ocorreram mudanças no período de incubação, assim como na mortalidade embrionária, eclodibilidade e peso dos pintos aos sete dias de idade, demonstrando uma tolerância dos embriões a maiores níveis de CO₂ na incubação.

De acordo com Kroetz Neto et al. (2008), a necessidade de exposição de embriões a uma atmosfera com maior concentração de CO_2 no início do processo de incubação para estimular o crescimento embrionário é questionável. Estes pesquisadores avaliaram o possível efeito benéfico ou depressor deste manejo sobre a qualidade de incubação e o desempenho pós-eclosão de pintos de corte. Ovos de matrizes pesadas com idades de 26 a 41 semanas foram incubados em máquinas de estágio único, das quais em uma delas foi acrescido 4000ppm de CO_2 em seu ambiente durante os quatro primeiros dias de incubação. Como os resultados de eclosão, peso dos pintos e variáveis de desempenho não demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos, os autores concluíram que apesar do acréscimo de CO_2 não ter sido letal para os embriões, também não houve influencia positiva deste manejo no rendimento de incubação e desempenho das aves após a eclosão.

Prado-Rebolledo et al. (2009) trabalharam com duas concentrações de O_2 nas incubadoras (17,5 e 21%) mantendo as temperaturas e UR semelhantes entre os tratamentos. Foi encontrada melhor eclodibilidade sobre os ovos férteis e peso dos pintos à eclosão e menor nível sérico de glicose nos pintos com incubação mantida no nível de 21% de O_2 . Foi considerado que este nível de O_2 nas máquinas incubadoras pode aumentar o rendimento de incubação, devido a possível atuação na redução de hipóxia e na estabilidade dos movimentos respiratórios dos embriões, mantendo maior equilíbrio fisiológico durante a incubação.

3. METODOLOGIA

3.1. EXPERIMENTO I

Foi realizado um estudo sobre os efeitos de duas idades de matrizes pesadas (33 e 63 semanas) e três momentos de transferência da incubadora para o nascedouro (15, 17 e 19 dias) sobre a qualidade dos ovos incubáveis, parâmetros fisiológicos de embriões e pintos e rendimento de incubação.

3.1.1. Local

O experimento foi realizado no período de 29 de agosto a 23 de setembro de 2010. A coleta dos ovos e a incubação foram conduzidas na granja da empresa PIF PAF, localizada no município de São José da Varginha – MG. As avaliações de qualidade dos ovos e as análises laboratoriais foram processadas na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.1.2. Ovos (coleta, armazenamento e seleção)

Os ovos foram obtidos de dois lotes de matrizes pesadas da linhagem Cobb® com idades de 33 e 63 semanas. De cada lote foram utilizados 5.600 ovos produzidos no mesmo dia e provenientes da segunda e terceira coletas. Para garantir a homogeneidade da amostra, à medida que as coletas foram sendo efetuadas em cada galpão, as bandejas com os ovos foram identificadas e distribuídas igualmente em três partes, correspondentes aos tratamentos que seriam utilizados na incubação.

Separadamente, porém usando este mesmo critério, para cada idade de matriz foi retirada e identificada uma amostra de 50 ovos para as avaliações de peso específico, percentagem de casca, gema e albúmen; uma amostra de 50 ovos para as avaliações de resistência, espessura e porosidade da casca e uma amostra de 20 ovos para as avaliações ultraestruturais da casca.

Imediatamente após as coletas, ainda na granja, os ovos destinados à incubação foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de 10g/m³ e a seguir foram transportados para o incubatório.

Após um dia de armazenamento realizou-se a seleção dos ovos, eliminando aqueles considerados não incubáveis (sujos, trincados, quebrados, pequenos, com duas gemas e deformados). Em seguida, mantendo-se as identificações dos tratamentos realizadas na granja, os ovos foram colocados em bandejas próprias para incubação, com capacidade para 96 ovos cada. Foram utilizadas 18 bandejas de incubação totalizando 1.728 ovos para cada tratamento. Nestas condições os ovos permaneceram por mais dois dias na sala de armazenamento com médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR) de 19,1°C e 84,3% respectivamente, até o dia da incubação.

3.1.3. Primeira fase experimental

Nesta fase foram realizadas avaliações da qualidade dos ovos incubáveis de matrizes pesadas com diferentes idades.

3.1.3.1. Tratamentos

Os tratamentos foram definidos pela idade da matriz, sendo:

MN: ovos incubáveis de matrizes novas (33 semanas)

MV: ovos incubáveis de matrizes velhas (63 semanas)

3.1.3.2. Variáveis analisadas

3.1.3.2.1. Peso específico dos ovos

As avaliações de peso específico foram realizadas um dia após a postura, no setor de Avicultura do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da Escola de Veterinária da UFMG. As amostras utilizadas foram constituídas por 50 ovos de cada idade de matriz e o método para a análise foi baseado no princípio de Arquimedes, onde os valores de peso específico, expressos em (g/mL H₂O) foram obtidos pela seguinte fórmula:

$$\frac{\text{(Peso do ovo no ar)}}{\text{(Peso do ovo no ar - Peso do ovo em água)}}$$

O equipamento utilizado para esta avaliação foi montado com uma balança de precisão de 0,5g, e suporte de ferro utilizado para sustentar um recipiente contendo água destilada, que possuía espaço adequado para a pesagem do ovo no ar. Lateralmente, foi colocada outra estrutura de ferro, da qual descia uma haste com aro apropriado para a pesagem do ovo dentro da água (figura 12). O equipamento foi colocado sobre a balança que em seguida foi zerada. Iniciou-se então, a pesagem dos ovos, sempre com a balança zerada antes da próxima pesagem. Os pesos dos ovos dentro e fora da água foram anotados para o cálculo posterior do peso específico.



Figura 12. Equipamento utilizado para a análise do peso específico dos ovos. Arquivo pessoal.

3.1.3.2.2. Percentual de casca, gema e albúmen em relação ao peso do ovo

Para as avaliações das proporções de casca, gema e albúmen foram utilizados 50 ovos por tratamento. Os mesmos ovos utilizados para as avaliações do peso específico foram pesados em balança com precisão de 0,01g e posteriormente quebrados, sendo seus componentes separados em copos plásticos e identificados. A separação da gema foi realizada manualmente e o resíduo do albúmen aderido à gema foi removido com o auxílio de papel absorvente. Após estes procedimentos as

gemas foram pesadas individualmente. As cascas, depois de lavadas em água corrente para retirada de resíduos do albúmen, secaram em temperatura ambiente durante 24 horas, e também foram pesadas individualmente. O peso do albúmen foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso do albúmen} = \text{Peso do ovo inteiro} - (\text{Peso da gema} + \text{Peso da casca})$$

Os percentuais de casca, gema e albúmen foram calculados dividindo-se os valores obtidos pelo peso do ovo e multiplicando-se por 100.

3.1.3.2.3. Resistência da casca

Nas avaliações de resistência da casca utilizou-se uma nova amostra de 50 ovos para cada idade de matriz. A força necessária para quebrar a casca, em gramas, foi determinada através do aparelho TA.X T2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey, England) pertencente ao Setor de Análise de Alimentos, da Faculdade de Farmácia da UFMG. Foi utilizada uma sonda P4 DIA Cylinder de aço inoxidável de 4 mm de diâmetro, com distância de 6 mm e velocidade pré, durante e pós teste de 3,0; 0,5; e 5,0; mm/s respectivamente. A força de gatilho da sonda foi 3,0g. O teste seguiu o método de fratura por compressão, onde o ovo inteiro é colocado longitudinalmente (segundo Rodriguez-Navarro, 2002) sobre suporte de metal em forma de anel com 5cm de diâmetro dentro de um cadinho de porcelana. A casca é pressionada até que ocorra a fratura e a força necessária usada é a indicadora da resistência da casca. A foto do equipamento utilizado para esta determinação é apresentada na figura 13.

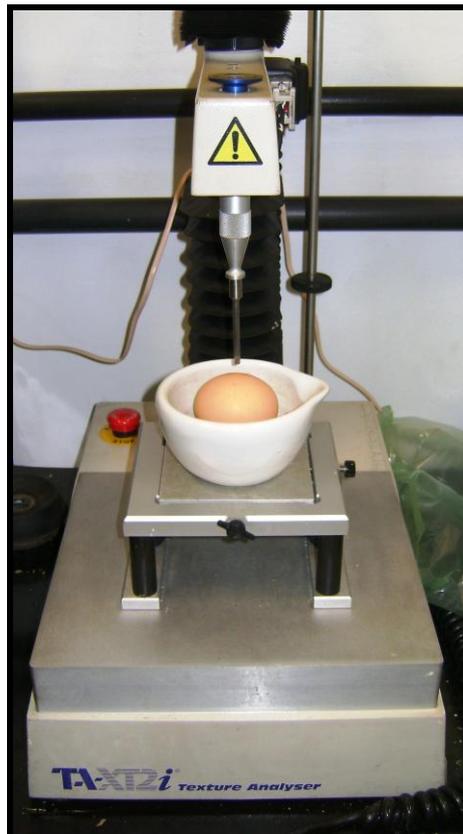


Figura 13. Aparelho utilizado para a análise de resistência da casca do ovo. Arquivo pessoal.

3.1.3.2.4. Espessura da casca

A medida da espessura da casca foi realizada com um micrômetro digital (Mitutoyo, resolução 0,001mm). O aparelho foi cedido pelo Departamento de Mecânica da Faculdade

de Engenharia (UFMG). A mensuração foi efetuada nos 50 ovos de cada idade de matriz utilizados para a análise de resistência. Estas cascas foram separadas com auxílio de uma tesoura em três partes, correspondentes às regiões apical (extremidade afilada), equatorial e basal (extremidade alargada que contém a câmara de ar). Foi medida a espessura de cada região e a espessura média da casca do ovo foi calculada através da média das três regiões.

3.1.3.2.5. Porosidade da casca

Os ovos utilizados para as medições de resistência e espessura da casca também foram usados para a determinação do número de poros, utilizando-se o método de Rahn et al. (1981). Cada uma das regiões apical, equatorial e basal foram colocadas separadamente em béquer e fervidas por 10 minutos em solução aquosa de NaOH 5% para remoção da cutícula e membranas da casca. Em seguida, foram mergulhadas rapidamente em um recipiente contendo água e secas à temperatura ambiente durante 2 horas. Após a secagem, as amostras foram coradas através de conta-gotas com solução aquosa de azul de metileno (1%) por dois minutos; lavadas rapidamente em água corrente e secas à temperatura ambiente por mais uma hora. Em cada fragmento foi demarcada com um molde, uma área de 1cm^2 dividida em quatro áreas de 25mm^2 . O número de poros foi contado sob estereomicroscópio, sendo a soma das quatro áreas de 25mm^2 considerado o número de poros por cm^2 para cada uma das regiões apical, equatorial e basal (figura 14). A quantidade de poros por cm^2 em cada ovo foi calculada através da média das três regiões.

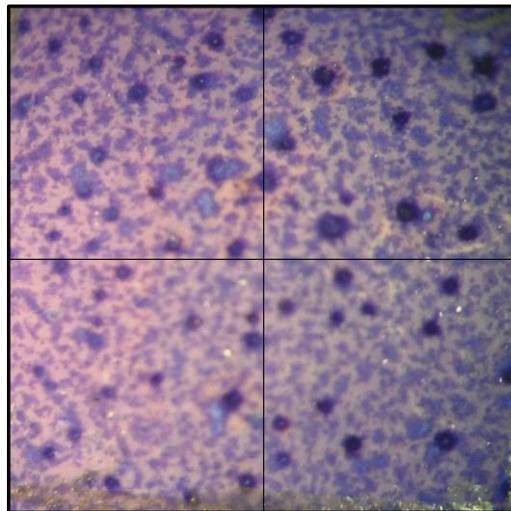


Figura 14. Imagem ampliada da região correspondente a 1cm^2 da casca do ovo para a contagem de poros. Aumento 250x. Coloração de azul de metileno (1%). Arquivo pessoal.

3.1.3.2.6. Avaliação ultraestrutural das camadas da casca do ovo

Para as avaliações ultraestruturais das camadas da casca do ovo foram selecionados 10 ovos os quais tinham os pesos próximos ao peso médio obtido para cada idade de matriz. Estes ovos foram levemente quebrados e as cascas foram segmentadas, com auxílio de uma tesoura, em três partes, correspondentes às regiões apical, equatorial e basal. O albúmen residual foi removido mergulhando rapidamente os segmentos em béquer contendo água e posteriormente as cascas foram secas em temperatura ambiente. Em seguida, fragmentos de aproximadamente $0,5\text{cm}^2$ foram retirados de cada uma das regiões do ovo, armazenados em tubos *ependorff* e mantidos em geladeira por sete dias. Após este período, as amostras foram montadas horizontalmente em *stubs* de alumínio usando cola adesiva, sendo a região da cutícula posicionada para a região superior do *stub*. Estas amostras receberam então uma metalização de ouro de 35nm por três minutos, através do aparelho Ion Sputter Coater® (Edwards, UK) e posteriormente foram examinadas no microscópio eletrônico de varredura Zeiss® DSM 950 (West Germany) com uma voltagem de aceleração de 20kW. A metalização foi realizada no Departamento de Microscopia e Microanálise do Instituto de Física da

UFMG e a montagem dos stubs assim como as avaliações de microscopia eletrônica foram realizadas no CEMEL (Centro de Microscopia Eletrônica da UFMG – Instituto de Ciências Biológicas). As camadas da casca do ovo (mamilar, paliçada e membranas) foram identificadas num aumento de 200x, a camada de cristal vertical num aumento de 2000x e a cutícula num aumento de 5000x. Somente foram considerados os ovos que, no momento da análise, mantinham os fragmentos íntegros da região apical, equatorial e basal e que possibilitavam a visualização de todas as camadas. Para cada região do ovo, o comprimento de cada camada foi mensurado em três pontos e a média dos valores foi registrada. O valor médio da espessura das camadas e sua proporção em relação à espessura total da casca foram calculados pela média das regiões apical, equatorial e basal de cada ovo.

3.1.3.3. Delineamento experimental

Para as análises de peso específico, componentes dos ovos, resistência, espessura e porosidade da casca foi utilizado o delineamento experimental inteiramente ao acaso, constituído por dois tratamentos (idade das matrizes) e 50 repetições por tratamento, sendo cada ovo considerado a repetição.

Para as avaliações da espessura e porosidade da casca do ovo nas diferentes regiões foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x3, sendo duas idades de matrizes e três regiões da casca, com 50 repetições por tratamento.

Foram realizadas correlações de Pearson entre peso específico e percentagem de casca em relação ao peso do ovo e também entre peso do ovo, resistência e espessura da casca. Foi avaliada a correlação de Spearman entre peso do ovo, resistência, espessura e porosidade da casca.

Nas avaliações ultraestruturais das camadas da casca do ovo o delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, constituído por dois tratamentos (idade das matrizes) e seis repetições por tratamento, sendo o ovo considerado a repetição.

A normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificadas pelo teste de Lilliefors e Bartlett. Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste F (Sampaio, 2002). As medianas das respostas não normais e não homogêneas foram comparadas pelos testes Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, utilizando o programa SAEG versão 9.1 (Sistema..., 2005).

3.1.4. Segunda fase experimental

Nesta fase foram realizadas avaliações relacionadas ao rendimento da incubação dos ovos de matrizes pesadas de diferentes idades submetidas a três momentos de transferência para o nascedouro.

3.1.4.1. Tratamentos

Os tratamentos foram definidos pela idade da matriz e pelos momentos de transferência da câmara de incubação para os nascedouros, da seguinte maneira:

- A: ovos de matrizes novas (33 semanas), transferidos para o nascedouro aos 15 dias de incubação;
- B: ovos de matrizes velhas (63 semanas), transferidos para o nascedouro aos 15 dias de incubação;
- C: ovos de matrizes novas (33 semanas), transferidos para o nascedouro aos 17 dias de incubação;
- D: ovos de matrizes velhas (63 semanas), transferidos para o nascedouro aos 17 dias de incubação;
- E: ovos de matrizes novas (33 semanas), transferidos para o nascedouro aos 19 dias de incubação;
- F: ovos de matrizes velhas (63 semanas), transferidos para o nascedouro aos 19 dias de incubação.

3.1.4.2. Pré-incubação e incubação dos ovos

Foi utilizada uma incubadora modelo Casp CMg 125E, de estágio múltiplo, com capacidade para 124.416 ovos. A máquina de incubação teve seu termostato regulado para manter constante a temperatura do bulbo seco em 37,4°C (99,3°F) e a temperatura do bulbo úmido em 28,9°C (84°F), correspondendo ao teor de UR de 62%.

Com o objetivo de realizar um pré-aquecimento dos ovos, 10 horas antes do início da incubação os carrinhos com os ovos foram transferidos para a sala de incubação. Nesta sala a temperatura foi mantida em média a 28,2°C e a UR em 75,5%. Após este período e imediatamente antes da entrada dos ovos nas incubadoras, todas as bandejas com os ovos do experimento foram pesadas individualmente. As bandejas foram dispostas ao acaso na máquina de incubação. Após estes procedimentos, a incubação dos ovos seguiu a rotina normal do incubatório da Empresa até o momento da transferência para o nascedouro.

3.1.4.3. Transferência da incubadora para os nascedouros

Com 15, 17 e 19 dias de incubação (de acordo com os tratamentos), os ovos foram retirados da máquina de incubação e transferidos para a sala de eclosão. Nesta ocasião todas as bandejas foram novamente pesadas individualmente. Após a pesagem, os ovos foram transferidos para bandejas de eclosão, que continuaram sendo devidamente identificadas de acordo com os tratamentos, obedecendo às identificações usadas nas bandejas de incubação. De acordo com os períodos de transferência, as bandejas com os ovos dos tratamentos foram colocadas em três nascedouros modelo Casp G21 E, com capacidade para 20736 ovos. As três máquinas de eclosão estavam posicionadas em sequência em uma mesma sala, onde a temperatura média manteve-se em 25,2°C e a UR em 67,4%. Nestas máquinas os termostatos de todos os nascedouros foram programados para manter a temperatura do bulbo seco em 36,6°C (98°F) e a temperatura do bulbo úmido em 28,9°C (84°F), correspondendo ao teor de UR de 65%.

Os carrinhos com as bandejas foram posicionados na parte da frente dos nascedouros e as bandejas foram colocadas de forma intercalada, de acordo com os tratamentos (figura 15). Os demais espaços das máquinas foram preenchidos com ovos dos mesmos lotes de matrizes e com a mesma idade de incubação, os quais não fizeram parte desta pesquisa.

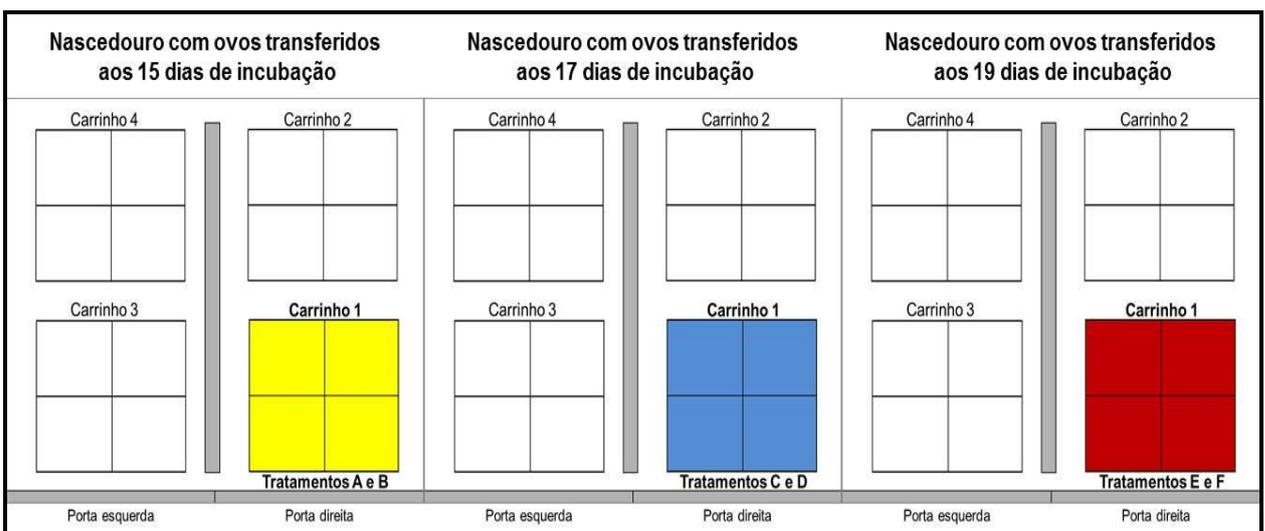


Figura 15. Desenho esquemático da posição dos tratamentos nos nascedouros.

3.1.4.4. Nascimento dos pintos

A retirada dos pintos dos nascedouros ocorreu com 504 horas (21 dias) de incubação. Os carrinhos com as bandejas foram retirados dos nascedouros e encaminhados para a sala

de pintos, onde as médias de temperatura e UR foram de 24,8°C e 64,7%, respectivamente. Nesse local foram retirados os pintos nascidos, sendo colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos e repetições. O número de ovos não eclodidos de cada bandeja foi registrado, sendo os mesmos examinados para se determinar o percentual de ovos inférteis, ovos bicados (pintos que não conseguiram eclodir) e a fase em que ocorreu a mortalidade embrionária, incluindo a observação sobre mau-posicionamento e anormalidades morfológicas e conformacionais.

3.1.4.5. Variáveis analisadas

3.1.4.5.1. Temperatura da casca do ovo (°C) durante o período de incubação

Durante o 12º, 15º, 17º e 19º dia de incubação, 75 ovos por idade de matriz tiveram suas temperaturas de casca mensuradas através do aparelho Thermoscan® Braun modelo IRT 4520. As mensurações foram feitas no mesmo horário, localizando o termômetro numa região equatorial previamente demarcada na casca do ovo (figura 16). Cinco ovos de 15 bandejas de incubação por idade de matriz foram identificados e avaliados durante os períodos (figura 17). Posteriormente a média dos cinco ovos de cada bandeja foi calculada. Após o nascimento, na avaliação dos ovos não eclodidos, aqueles que estavam tendo sua temperatura mensurada, mas que não eclodiram, foram retirados do cálculo da média de temperatura. A localização dos ovos que tiveram suas temperaturas mensuradas encontra-se no esquema abaixo:



Figura 16. Aparelho utilizado na análise de temperatura dos ovos. Arquivo pessoal.

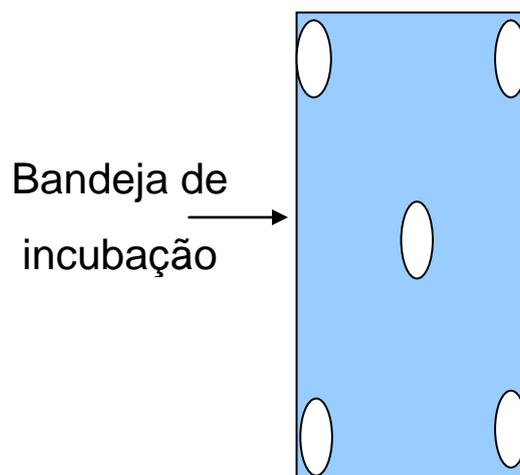


Figura 17. Desenho esquemático da posição dos ovos nas bandejas onde as temperaturas foram mensuradas.

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

No 12º dia de incubação, todas as bandejas do experimento foram colocadas uma a uma em um ovoscópio posicionado no corredor da máquina 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.

3.1.4.5.3. Perda de peso dos ovos durante o período de 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; quando foram calculados os pesos médios dos ovos. O percentual de perda de peso dos ovos foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{(\text{Peso dos ovos na incubação} - \text{Peso dos ovos na transferência}) \times 100}{\text{Peso dos ovos na incubação}}$$

3.1.4.5.4. Percentual de pintos nascidos, 20 e 10 horas antes da retirada de pintos do nascedouro

A retirada dos pintos do nascedouro ocorreu com 21 dias completos de incubação. Em dois momentos (20 e 10 horas antes da retirada dos carrinhos nos nascedouros), os pintos que já haviam eclodido em cada bandeja foram contados. Esta análise foi realizada com o objetivo de verificar se alguma diferença ocorrida na eclosão poderia ser devida à antecipação ou atraso no nascimento de acordo com os tratamentos. Para o cálculo desta variável, os valores dos pintos nascidos obtidos nestes momentos foram divididos pelo total de pintos eclodidos na retirada aos 21 dias e multiplicados por 100.

3.1.4.5.5. 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. No momento da contagem dos pintos, quando verificado a existência de defeitos físicos tais como: bico torto, duplicação de membros, pescoço ou pernas tortas foi feito o registro destas observações na ficha dos pintos nascidos. A quantidade destes pintos encontrada foi inexpressiva e semelhante entre os tratamentos, por isso adotou-se o critério de incluí-los no total de pintos nascidos para a realização dos cálculos que continham esta variável.

3.1.4.5.6. Taxa de eclosão em relação ao número total de ovos férteis

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

3.1.4.5.7. 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;
- ovos com embriões que morreram entre 15 a 18 dias de incubação;

- ovos com embriões que morreram entre 19 a 21 dias de incubação;
- ovos bicados com embriões vivos e mortos;
- ovos contaminados (dos quais os embriões morreram devido à contaminação bacteriana ou fúngica);
- ovos desidratados (devido a trincas da casca ocorridas durante o processo).

Após esta análise os dados de mortalidade inicial e ovos inférteis obtidos aos 12 dias na ovoscopia foram somados, sendo então calculados o percentual de mortalidade embrionária em relação aos ovos férteis incubados e o percentual de fertilidade em relação ao total de ovos incubados. As alterações observadas nos embriões mortos, como exemplo: mal posicionamento, caixa craniana aberta, duplicação de membros posteriores e inferiores também foram registradas.

3.1.4.5.8. 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 balança com precisão de 0,5g. Para se determinar o peso médio dos mesmos, foi dividido o peso da caixa (menos a tara) pelo número de pintos da mesma.

3.1.4.5.9. Relação peso do pinto / peso do ovo

A relação percentual do peso do pinto/peso do ovo foi obtida tomando-se o peso médio de todos os pintos nascidos, dividido pelo peso médio dos ovos antes da incubação e multiplicando-se por 100.

3.1.4.5.10. Peso do coração e saco vitelino e a relação percentual destes com peso dos pintos

Após a sexagem, foi realizada ao acaso a coleta de dois pintos de cada uma das 18 repetições de cada tratamento, totalizando uma amostra de 36 pintos por tratamento. Estes pintos foram sacrificados por deslocamento cervical para a colheita do coração e saco vitelino de acordo com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais. Estes órgãos foram pesados em balança com precisão de 0,01g. Além dos dados de peso absoluto, foram registrados também os dados referentes à relação percentual destes órgãos com o peso dos pintos.

3.1.4.6. Delineamento experimental

Para a análise de temperatura da casca do ovo durante a incubação foi utilizado delineamento em parcelas subdivididas, sendo a parcela a idade da matriz e as subparcelas os dias de incubação com 15 repetições por tratamento. A média da temperatura de cinco ovos de cada bandeja foi considerada uma repetição. Realizou-se análise de variância e o modelo de regressão quadrático foi ajustado à resposta.

Para as análises de rendimento de incubação, perda de peso dos ovos, peso dos pintos e relação peso do pinto/peso do ovo o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em parcelas subdivididas, sendo o fator da parcela os três momentos das transferências e as subparcelas as duas idades das matrizes, com 18 repetições por tratamento, sendo a bandeja com 96 ovos considerada a repetição. Para a avaliação do peso absoluto e relativo do coração e saco vitelino foi utilizado o mesmo delineamento, porém com 36 repetições por tratamento, sendo cada pinto considerado a repetição. As variáveis: peso do coração e peso do saco vitelino foram transformadas pela equação: $\sqrt{(\text{variável})}$.

A normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificadas pelo teste de Lilliefors e Bartlett. Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste F, Duncan e Tukey (Sampaio, 2002). As medianas das respostas não

normais e não homogêneas foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis, utilizando o programa SAEG versão 9.1 (Sistema..., 2005).

3.1.5. Terceira fase experimental

Nesta fase foram realizadas avaliações dos parâmetros fisiológicos dos embriões durante a incubação e dos pintos após a eclosão, de acordo com as duas idades das matrizes pesadas e com os três momentos de transferência para o nascedouro.

3.1.5.1. Tratamentos

Os tratamentos foram considerados os mesmos utilizados na segunda fase experimental.

3.1.5.2. Variáveis analisadas

3.1.5.2.1. pH sanguíneo, pressão arterial de dióxido de carbono (PaCO_2), pressão arterial de oxigênio (PaO_2), concentração sanguínea de bicarbonato (HCO_3^-), glicose, cálcio ionizado (iCa), hemoglobina(Hb) e hematócrito (Hct) dos embriões e pintos.

As análises que permitiram avaliar os níveis sanguíneos de pH sanguíneo, PaCO_2 , PaO_2 , HCO_3^- , glicose, iCa, Hct e Hb dos embriões e pintos, foram realizadas através do aparelho analisador clínico portátil i-STAT® e cartuchos modelo Cartridge CG8+ (Abott Laboratories-USA). O aparelho foi cedido pelo Departamento de Clínica e Cirurgia da Escola de Veterinária da UFMG.

Os momentos para as coletas das amostras são descritos a seguir:

- 1) Nos embriões dos tratamentos *A e B* as coletas foram realizadas no momento anterior à transferência para o nascedouro com 15 dias de incubação. Nesta idade os embriões ainda não haviam bicado a membrana interna da casca.
- 2) Nos embriões dos tratamentos *C e D* as coletas foram realizadas no momento anterior à transferência para o nascedouro com 17 dias de incubação. Nesta idade os embriões ainda não haviam bicado a membrana interna da casca.
- 3) Nos embriões dos tratamentos *E e F* as coletas foram realizadas no momento anterior à transferência para o nascedouro com 19 dias de incubação. Nesta idade os embriões ainda não haviam bicado a membrana interna da casca.
- 4) Nos embriões de todos os tratamentos foi feita uma segunda coleta aos 20 dias de incubação. Sendo que nesta idade os embriões já haviam rompido a membrana corioalantóide e a membrana interna da casca. O momento escolhido para as coletas foi quando já havia indícios do início do processo de bicagem da casca, porém sem rompimento da membrana externa da casca.
- 5) Em pintos de todos os tratamentos foi realizada uma terceira coleta aos 21 dias de incubação, ou seja, logo após a eclosão.

Para as coletas das amostras de sangue dos embriões com 15 e 17 dias de idade, previamente os ovos foram examinados individualmente em um ovoscópio para a delimitação da região da câmara de ar. Em seguida, com o auxílio de uma tesoura, um pedaço de aproximadamente 1cm^2 de casca foi retirado desta região. Tendo então, acesso a membrana interna, uma gota de glicerina foi espalhada nesta camada para a visualização dos vasos sanguíneos da membrana corioalantóide. Rapidamente cerca de $250\mu\text{L}$ de sangue arterial foram retirados com tubos capilares após pequena inserção na artéria com agulha 27G $\frac{1}{2}$ ". Estas análises foram adaptadas ao método descrito por Pippet et al. (1980).

No caso da coleta das amostras de sangue dos embriões com 19 dias de idade, os ovos também foram individualmente examinados em um ovoscópio para a delimitação da região da

câmara de ar. Em seguida, com o auxílio de uma tesoura, um pedaço de aproximadamente 1cm^2 foi retirado na região oposta à câmara de ar, para acesso à artéria umbilical. Logo em seguida, cerca de $0,5\text{mL}$ de sangue arterial foram retirados com seringa de 1mL e agulha $27\text{G } \frac{1}{2}$.

Nos embriões com 20 dias de incubação e nos pintos recém-eclodidos, as coletas foram realizadas através de punção cardíaca pelo lado esquerdo do coração, onde aproximadamente $0,5\text{mL}$ de sangue arterial foram retirados com seringa de 3mL e agulha 30G .

Em cada momento de coleta, foram utilizadas amostras de seis embriões ou pintos por tratamento, retirados ao acaso das bandejas. Imediatamente após cada coleta individual, cerca de $100\mu\text{L}$ de sangue foram inseridos nos cartuchos (figura 18), que automaticamente fizeram a leitura dos parâmetros mencionados.



Figura 18. Aparelho e cartuchos utilizados nas análises dos parâmetros fisiológicos. Arquivo pessoal.

3.1.5.2.2. Níveis plasmáticos de lactato e triglicerídeos

As amostras de sangue que permitiram avaliar os níveis plasmáticos de lactato e triglicerídeos foram coletas em três momentos, os quais estão descritos a seguir:

1) Dos embriões de todos os tratamentos as coletas foram realizadas aos 19 dias de incubação. Neste caso, os ovos dos tratamentos A, B, C e D já haviam sido transferidos para o nascedouro e todos os ovos para a análise foram retirados do nascedouro exceto aqueles correspondentes as coletas dos tratamentos E e F que foram realizadas no momento anterior à transferência.

2) Dos embriões de todos os tratamentos uma segunda coleta foi realizada aos 20 dias de incubação.

3) Dos pintos de todos os tratamentos uma terceira coleta foi realizada aos 21 dias de incubação (logo após o nascimento).

As amostras de sangue dos embriões dos tratamentos A, B, C e D aos 19 dias de incubação foram coletadas da mesma forma que àquelas feitas aos 19 dias na análise anterior. O restante das amostras também seguiu a mesma metodologia da análise anterior para as coletas.

Foram utilizadas seis amostras (repetições) para cada tratamento, sendo que cada amostra constituiu-se de um “pool” de sangue retirado em três embriões. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram colocadas em tubos *ependorff* contendo anticoagulante EDTA (1%). Em seguida, foram centrifugados durante 3 minutos à velocidade de 5000rpm. As alíquotas com 0,5mL de plasma foram transferidas através de micropipetas para novos tubos *ependorff* devidamente identificados de acordo com os tratamentos e foram conservadas resfriadas entre 2 a 8°C até serem transportadas em caixa isopor contendo gelo químico para o laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária (UFMG), quando se iniciou o processamento das amostras.

As determinações de lactato¹ e triglicerídeos² foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático da marca TP Analyser, utilizando-se kits comerciais em comprimento de onda apropriados.

¹Lactato K084. Bioclin. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: UV enzimático.

²Triglicerídeos IR140. Synermed. Westfield, IN, USA. Metodologia: IR enzimático.

3.1.5.3. Delineamento experimental

Para as análises dos parâmetros fisiológicos dos embriões e pintos o delineamento experimental foi em parcelas subdivididas, sendo o fator da parcela os três momentos de transferências (15, 17 e 19 dias de incubação) e a subparcela as duas idades das matrizes. Foram utilizadas seis repetições para cada tratamento, e o embrião considerado uma repetição. No caso das análises de lactato e triglicerídeos, a repetição foi composta pelo “pool” sanguíneo de três embriões.

A normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificadas pelo teste de Lilliefors e Bartlett. Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste F, Tukey e SNK segundo Sampaio (2002), utilizando o programa SAEG versão 9.1 (Sistema...,2005).

3.2. EXPERIMENTO II

O objetivo deste experimento foi verificar os efeitos da idade da matriz pesada e do momento de transferência dos ovos da câmara de incubação para o nascedouro sobre o desempenho da progênie.

3.2.1. Local

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental “Prof. Hélio Barbosa” da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada no município de Igarapé – MG, no período de 23 de setembro a 05 de novembro de 2010.

3.2.2. Instalações e equipamentos

As aves foram alojadas em um galpão experimental convencional, dividido em 54 boxes de 3m² cada. Os boxes foram forrados com cepilho de madeira. Durante as duas primeiras semanas de idade as aves foram aquecidas com uma lâmpada infravermelho de 250 watts. Na primeira semana foi utilizado em cada box um bebedouro tipo copo pressão com capacidade de três litros e um comedouro tipo tubular com capacidade de cinco quilogramas. Posteriormente, os bebedouros foram substituídos pelos bebedouros do tipo pendular automático, e os comedouros pequenos substituídos por comedouros com capacidade para 15 quilogramas, sendo estes equipamentos utilizados até o final do experimento.

3.2.3. Aves e manejo

Foram utilizados 900 pintos (machos) provenientes da eclosão dos ovos do primeiro experimento. Após a sexagem e vacinação preventiva para doença de Marek no incubatório, foi tomada ao acaso uma amostra de nove pintos em cada uma das 18 bandejas, que representavam as repetições dos tratamentos utilizados na incubação do primeiro experimento, totalizando 162 aves por tratamento. No momento do alojamento 150 pintos por tratamento foram retirados ao acaso das caixas de transporte para serem utilizados no experimento. Os pintos foram alojados 24 horas após o nascimento, divididos em seis boxes por tratamento com 25 aves cada. A água e a ração foram fornecidas à vontade. Aos 14 dias, todos os pintos foram vacinados via água de bebida, contra Gumboro e Newcastle. O período experimental foi de um a 42 dias de idade das aves.

3.2.4. Alimentação

A ração utilizada foi a mesma para as aves de todos os tratamentos, sendo a ração inicial fornecida até os 21 dias de criação e a ração de crescimento fornecida dos 21 aos 42 dias. Para a formulação da ração, foram considerados os valores nutricionais dos ingredientes estabelecidos nas Tabelas Brasileiras sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2000). O cálculo dos níveis nutricionais foi baseado nos níveis utilizados por Lara et al. (2008). As composições das rações com seus respectivos valores nutricionais se encontram nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Composição percentual da ração inicial e seus respectivos níveis nutricionais calculados.

Ingredientes	(%)
Milho Grão	60,8
Farelo de soja (45% PB)	32,0
Farinha de carne e ossos (40% PB)	5,60
Calcário	0,14
Sal comum	0,36
L-lisina HCL	0,24
DL-metionina	0,28
L-treonina	0,08
Suplemento Vitamínico Mineral	0,50
TOTAL	100
Níveis Nutricionais calculados	
Energia (kcal/kg)	2980
Proteína bruta (%)	22,22
Cálcio (%)	0,94
Fósforo total (%)	0,71
Fósforo disponível (%)	0,50
Sódio (%)	0,19
Lisina dig. (%)	1,22
Met + Cis dig. (%)	0,86
Metionina dig. (%)	0,58
Treonina did. (%)	0,79
Triptofano dig. (%)	0,23
Valina dig. (%)	0,90

**Produto comercial: Suplemento Vitamínico Mineral com agente anticoccidiano e promotor. Cada 1,0 kg contém: Vit. A 3.500.000 UI, Vit. D3 625.000 UI, Vit. E 6.250mg, Vit. K3 750 mg, Vit. B1 500 mg, Vit. B2 1.250 mg, Vit. B6 1.000 mg, Vit. B12 6.250 mcg, Biotina 25 mg, Niacina 8.750 mg, Ácido Fólico 250 mg, Ácido Pantotênico 3.000 mg, Selênio 45 mg, Iodo 175 mg, Ferro 12.525 mg, Cobre 2.500 mg, Manganês 19.500, Zinco 13.750 mg, Bacitracina de Zinco 18.750 mg, Antioxidante 500 mg; Fitase-75ftu; BHT 25.000mg.*

Tabela 2. Composição percentual da ração de crescimento e seus respectivos níveis nutricionais calculados.

Ingredientes	(%)
Milho Grão	65,0
Farelo de soja (45% PB)	25,8
Farinha de carne e ossos (40% PB)	5,00
Óleo de soja	2,40
Calcário	0,39
Sal comum	0,36
L-lisina HCL	0,29
DL-metionina	0,27
L-treonina	0,09
Suplemento Vitamínico Mineral	0,40
TOTAL	100
Níveis Nutricionais calculados	
Energia (kcal/kg)	3100
Proteína bruta (%)	19,56
Cálcio (%)	0,94
Fósforo disponível (%)	0,45
Sódio (%)	0,18
Lisina dig. (%)	1,10
Met + Cis dig. (%)	0,79
Metionina dig. (%)	0,54
Treonina did. (%)	0,71
Triptofano dig. (%)	0,19
Valina dig. (%)	0,79

**Produto comercial: Suplemento Vitamínico Mineral com agente anticoccidiano e promotor. Cada 1,0 kg contém: Vit. A 3.500.000 UI, Vit. D3 625.000 UI, Vit. E 6.250mg, Vit. K3 750 mg, Vit. B1 500 mg, Vit. B2 1.250 mg, Vit. B6 1.000 mg, Vit. B12 6.250 mcg, Biotina 25 mg, Niacina 8.750 mg, Ácido Fólico 250 mg, Ácido Pantotênico 3.000 mg, Selênio 45 mg, Iodo 175 mg, Ferro 12.525 mg, Cobre 2.500 mg, Manganês 19.500, Zinco 13.750 mg, Bacitracina de Zinco 18.750 mg, Antioxidante 500 mg; Fitase-75ftu; BHT 25.000mg.*

3.2.5. Tratamentos

Os tratamentos foram considerados os mesmos utilizados na segunda e terceira fase do experimento I, conforme descritos a seguir:

- A: pintos descendentes de matrizes novas (33 semanas), cujos ovos foram transferidos para o nascedouro aos 15 dias de incubação;
- B: pintos descendentes de matrizes velhas (63 semanas), cujos ovos transferidos para o nascedouro aos 15 dias de incubação;
- C: pintos descendentes de matrizes novas (33 semanas), cujos ovos transferidos para o nascedouro aos 17 dias de incubação;
- D: pintos descendentes de matrizes velhas (63 semanas), cujos ovos transferidos para o nascedouro aos 17 dias de incubação;
- E: pintos descendentes de matrizes novas (33 semanas), cujos ovos transferidos para o nascedouro aos 19 dias de incubação;
- F: pintos descendentes de matrizes velhas (63 semanas), cujos ovos transferidos para o nascedouro aos 19 dias de incubação.

3.2.6. Variáveis analisadas

3.2.6.1. Peso dos pintos no momento do alojamento

Imediatamente antes do alojamento, todos os pintos foram pesados em balança com precisão de 0,5g. As pesagens foram feitas em grupos de 25 aves, correspondendo a cada repetição, e o peso médio foi calculado.

3.2.6.2. Peso corporal e ganho de peso

Todas as aves foram pesadas aos sete, 21 e 42 dias de idade. As pesagens foram feitas em grupo, correspondendo a cada repetição. O ganho de peso foi calculado descontando-se o peso inicial dos pintos ao alojamento.

3.2.6.3. Consumo de ração

Os dados de consumo de ração foram obtidos subtraindo a sobra de ração semanal da quantidade oferecida na mesma semana, dividida pelo número de aves existentes. A mortalidade das aves foi considerada para o cálculo do consumo de ração semanal e acumulado, descontando-se o número de aves mortas do número de aves da repetição no dia e após a morte da ave. Os dados de consumo de ração acumulado foram obtidos pela soma do consumo de ração em cada período.

3.2.6.4. Conversão alimentar

O cálculo da conversão alimentar foi feito considerando o consumo de ração acumulado e ganho de peso acumulado das aves (de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias).

3.2.6.5. Viabilidade

O número de aves mortas foi registrado diariamente e a partir da taxa de mortalidade, foi calculado o percentual de viabilidade no final do período de criação.

3.2.7. Delineamento experimental

Para a avaliação do desempenho dos pintos, o delineamento foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2 x 3 (duas idades x três momentos de transferências na incubação), com seis repetições cada, sendo o boxe com 25 aves considerado a repetição.

A normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificadas pelo teste de Lilliefors e Barlett. Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste F segundo Sampaio (2002), utilizando o programa SAEG versão 9.1 (Sistema..., 2005).

3.3. Comitê de Ética em Experimentação Animal

A metodologia utilizada neste experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais – CETEA, sob protocolo nº 247/10.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I

4.1.1 Primeira fase experimental – Efeitos da idade da matriz pesada sobre a qualidade dos ovos incubáveis

Os dados referentes à qualidade dos ovos estão apresentados nas tabelas 3 a 11. Para efeito de discussão os dados das tabelas 5, 8 e 9 foram apresentados pelas médias, sendo que as medianas constam nos anexos de 1 a 3.

Tabela 3. Peso específico, percentagem de casca, gema e albúmen em relação ao peso do ovo, de acordo com a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Peso específico	Casca (%)	Gema (%)	Albúmen (%)
33	1,083 a	9,5 a	26,9 b	63,5 a
63	1,080 b	8,6 b	30,1 a	61,3 b
C.V (%)	0,5	4,6	4,7	3,0

Médias seguidas de letras distintas na coluna são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,005$).

Os ovos das matrizes com idade de 63 semanas revelaram menor peso específico ($p \leq 0,005$) quando comparados aos ovos das matrizes de 33 semanas. Como a análise de peso específico é um indicador de qualidade do ovo, estes resultados demonstram uma melhor qualidade de casca nos ovos de matrizes mais novas, concordando com os resultados obtidos em trabalhos anteriores (McDaniel et al., 1979; Roque e Soares, 1994; Rosa e Ávila, 2000; Barbosa, 2005), com exceção de Luquetti et al. (2004), que não encontraram diferenças de peso específico nos ovos provenientes de matrizes pesadas de 30, 45 e 60 semanas de idade.

Em relação aos percentuais dos componentes do ovo, as matrizes mais velhas apresentaram menores percentuais de casca e albúmen e maior percentual de gema em relação ao peso do ovo ($p \leq 0,005$) do que as matrizes mais novas. Estes resultados estão de acordo com Ferreira et al. (2005), Rocha (2007) e Tanure et al. (2008). Segundo Hamilton (1978), à medida que a ave envelhece o peso da casca não aumenta na mesma proporção que o peso dos ovos e Brake (1996) explicou que este fato é devido a menor deposição de carbonato de cálcio por unidade de área, sendo que independente da progressão da idade, a quantidade de cálcio mobilizada para a formação da casca é a mesma. Diversos autores citaram que o aumento da idade da ave provoca aumento na proporção de gema, principalmente por uma demora na maturação dos folículos pré-ovulatórios e ovulação quando estes adquirem maior tamanho; porém a secreção de albúmen apesar de aumentar em consequência do maior tamanho de gema, não acompanha as mesmas proporções.

Tabela 4. Correlação de Pearson (r) entre peso específico e percentagem de casca em relação ao peso do ovo

	Peso específico (g/mL H ₂ O)
Casca (%)	0,32

Valor de r apresentado na tabela é significativo a $p \leq 0,001$.

O peso específico foi positivamente correlacionado ao percentual de casca em relação ao peso do ovo, porém com valor baixo ($r=0,32$). Como a análise de peso específico é um dos métodos utilizados para avaliar a qualidade o ovo, estes dados sugerem a necessidade de aliar esta técnica a outros parâmetros para possíveis conclusões sobre a qualidade da casca.

Tabela 5. Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca de acordo com a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Peso do ¹ ovo (g)	Espessura da ¹ casca (mm)	Resistência da ¹ casca (g)	Poros da casca ² por cm ² (n ^o)
33	62,0 B	0,457 A	3193 A	103 B
63	72,4 A	0,435 B	2994 B	126 A
CV(%)	4,9	7,9	17,0	-

Médias seguidas de letras distintas na coluna são diferentes pelo teste F¹ e Mann-Whitney², respectivamente (p≤0,001).

De acordo com os dados da tabela 5, menor peso de ovo e número de poros foi encontrado nos ovos de aves mais jovens (p≤0,001). Nos ovos destas aves, a espessura e a resistência das cascas foram maiores (p≤0,001) comparadas às aves mais velhas. Observando o conjunto de resultados desta tabela, verifica-se que à medida que a ave aumenta de idade, as características físicas dos ovos revelam mudanças estruturais que tornam a qualidade da casca inferior.

A influência da idade da matriz sobre o peso do ovo foi igualmente relatada por diversos autores (North, 1984; French e Tullet, 1991; Suarez et al., 1997; Vieira e Moran Jr., 1998; Peebles et al., 2000; Ferreira et al., 2005; Rocha, 2007; Tanure et al., 2008). Segundo McLoughlin e Gous (2000), ovos produzidos por matrizes mais velhas são maiores e conseqüentemente sua casca é mais fina. Também foi observado que ovos de matrizes com idade mais avançada têm maior número de poros, concordando com os resultados demonstrados na tabela 5. Diversos pesquisadores deram ênfase na informação que um maior número de poros pode causar maior perda de calor ou desidratação do embrião, e o inverso pode dificultar a troca de gases entre o embrião e o meio externo. Segundo estes autores, todas estas características estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento e mortalidade embrionária (Tyler, 1953; Tullett e Burton, 1982; Tullett e Deeming, 1982; Burton e Tullett, 1983; Peebles e Brake, 1985; Burton e Tullett, 1985; Deeming, 1995). Já Emara (2008), que na sua pesquisa obteve dados semelhantes ao deste experimento, revelou que matrizes velhas têm cascas de menor resistência quando comparadas com reprodutoras mais novas e que este é um fator importante a ser considerado no manuseio dos ovos férteis para evitar quedas na produtividade.

Tabela 6. Correlação de Pearson (r) entre peso do ovo, espessura e resistência da casca

	Peso do ovo	Espessura da casca
Peso do ovo		
Espessura da casca	-0,19	
Resistência da casca	NS	0,46

Valores de r apresentados na tabela são significativos. NS = não significativo.

A tabela 6 indica que a correlação entre o peso do ovo e a resistência da casca não foi significativa (p≤0,05) e que houve uma pequena correlação negativa entre o peso do ovo e a espessura da casca. Já a espessura da casca foi correlacionada positivamente e de forma moderada, com sua resistência. Estes dados discordam de Orband e Roland Sr. (1990), os quais relataram que todos estes fatores estão altamente correlacionados entre si.

Tabela 7. Correlação de Spearman (r) entre peso do ovo, espessura, resistência e poros da casca

	Número de poros da casca
Peso do ovo	0,60
Espessura da casca	NS
Resistência da casca	-0,35

Valores de r apresentados na tabela são significativos. NS = não significativo.

Na tabela 7, verifica-se uma correlação moderada e positiva entre o número de poros da casca e o peso do ovo, reafirmando os dados encontrados por McLoughlin e Gous (2000), onde ovos de matrizes com idade mais avançada tiveram maior peso de ovo e maior número de poros na casca. Nesta tabela também se observa uma correlação moderada e negativa entre o número de poros da casca e sua resistência, indicando a possibilidade de que cascas mais porosas sejam mais susceptíveis a trincas e quebras. A correlação entre os poros da casca e sua espessura não foi significativa ($p>0,05$).

Tabela 8. Espessura da casca (mm) em função da região do ovo e da idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Regiões da casca do ovo		
	Apical	Equatorial	Basal
33	0,462 Aa	0,448 Aa	0,462 Aa
63	0,440 Aa	0,429 Aa	0,437 Ba

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p\leq 0,05$).

Houve interação entre a idade da matriz e as regiões da casca do ovo para esta variável. A tabela 8 mostra que a espessura da casca na região da câmara de ar (região basal) revelou ser menor ($p\leq 0,05$) nas matrizes velhas quando comparada às matrizes novas. Nas demais regiões da casca, não houve diferença ($p>0,05$) na espessura entre as idades das matrizes. As regiões da casca do ovo não influenciaram ($p>0,05$) esta variável tanto em matrizes novas como em matrizes velhas. Como foi observado na tabela 6, a espessura da casca está correlacionada com sua resistência. Devido a este fator, é possível que a região basal do ovo seja mais susceptível à quebras em matrizes velhas do que nas matrizes novas.

Tabela 9. Porosidade da casca em função da região do ovo e da idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Porosidade da casca do ovo (n° de poros/cm ²)			Média
	Apical	Equatorial	Basal	
33	91	104	114	103 B
63	103	130	148	126 A
Média	97 b	117 a	131 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p\leq 0,05$).

Independente da idade da matriz foi encontrada menor ($p\leq 0,05$) porosidade na região apical (ponta mais fina do ovo) quando comparadas às regiões equatorial e basal, que foram semelhantes entre si (tabela 9). Estes dados estão de acordo com aqueles relatados por Baxter-Jones (1991) e Marques (1994); porém discordam de Romanoff e Romanoff (1949), Hunton (1995) e La Scala Jr. (2003), que afirmaram que o maior número de poros se encontra na região basal quando comparado às outras regiões da casca. Pesquisadores como Ar et al. (1974), Tullet e Deeming (1982) e Tazawa e Whittow (2000) descreveram que durante a incubação, o ar do meio externo vai provocando aumento da câmara de ar através dos poros da casca ao mesmo tempo em que ocorre perda de umidade do ovo para o ambiente. Porém, Stanishevskaya (2006) verificou que durante o 13° e 19° dia de incubação, ocorre maior atividade de penetração de O₂ na região equatorial do ovo. Os dados da tabela 9 levam à hipótese de que distribuição dos poros encontrada pode ocorrer em razão da necessidade funcional relatada nas pesquisas destes autores. Matrizes mais velhas tiveram maior ($p\leq 0,05$) número de poros na casca do que os ovos de matrizes novas, independente da região do ovo, conforme discutido na tabela 5.

A avaliação ultraestrutural das camadas da casca do ovo pode ser visualizada na figura 19, e os dados de espessura estão demonstrados nas tabelas 10 e 11.

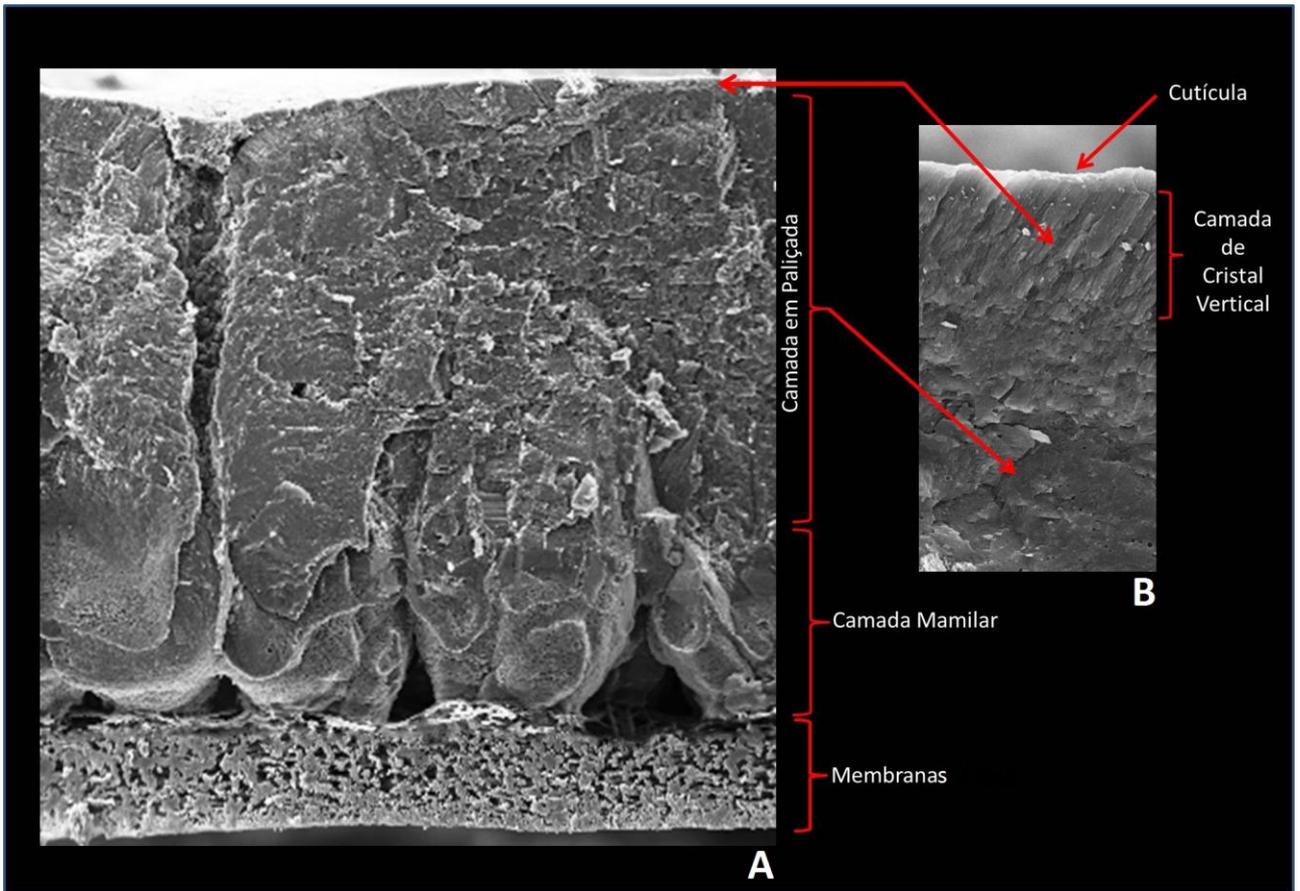


Figura 19. Análise da espessura das camadas da casca do ovo realizada através de microscopia eletrônica. Camada mamilar, paliçada e membranas da casca em aumento de 200x (A). Camada de cristal vertical e cutícula em aumento de 2000x (B). Arquivo pessoal.

Tabela 10. Avaliação ultraestrutural da espessura (μm) da casca do ovo de acordo com as regiões e com a idade da matriz

Idade (semanas)	Cutícula	Camada vertical	Camada paliçada	Camada mamilar	Região calcificada	Membrana	Total casca
33	3,13 a	12,85 b	264,61 a	121,14 a	398,60 a	80,72 a	479,3 a
63	2,78 b	18,16 a	243,97 b	111,09 b	373,22 b	52,32 b	425,5 b
CV(%)	6,7	5,5	2,4	6,7	1,2	10,0	-

Médias seguidas de letras distintas na coluna são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,01$).

Os dados de espessura total da casca e a região calcificada (compreendida pela camada vertical, paliçada e mamilar) em matrizes de 33 semanas foram maiores ($p \leq 0,01$) quando comparadas às matrizes de 63 semanas, concordando com os resultados obtidos por esta técnica nos estudos de Ruiz e Lunam (2000) e Rodriguez-Navarro et al. (2002). Esta análise através de microscopia eletrônica confirmou a diferença significativa encontrada para esta variável através da medição pelo micrômetro de forma manual (tabela 5). Em relação às camadas da casca, a camada de cristal vertical foi a única porção da casca onde as matrizes novas revelaram maior espessura ($p \leq 0,01$) que as matrizes velhas, porém esta diferença não foi suficiente para alterar os resultados descritos anteriormente.

Tabela 11. Percentual das camadas da casca do ovo, em relação à espessura total da casca, de acordo com a idade da matriz

Idade (semanas)	Cutícula	Camada vertical	Camada paliçada	Camada Mamilar	Membranas
33	0,65 a	2,66 b	54,85 b	25,12 a	16,72 a
63	0,65 a	4,24 a	56,97 a	25,93 a	12,21 b
CV(%)	5,4	6,1	2,5	6,7	9,0

Médias seguidas de letras distintas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$).

A proporção das membranas da casca em relação à sua espessura total foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) em matrizes novas. Este resultado está de acordo com os estudos de Britton (1977) e Kemps et al. (2006), que obtiveram um declínio da espessura destas membranas com o avanço da idade da matriz. Pesquisas realizadas por Örberg (1990), Solomon (1991) e Kemps et al. (2006) demonstraram que as membranas da casca exercem influência sobre sua resistência, por servir como reforço à porção calcificada, o que parece ter sido evidenciado neste experimento, pois os dados de resistência (tabela 5) foram maiores em matrizes novas ($p \leq 0,001$), mesmo que as proporções da camada vertical e paliçada tenham sido menores ($p \leq 0,05$) nestas idades. Estes dados sugerem um papel relevante das membranas da casca sobre a resistência, comparada às proporções das camadas calcificadas.

A espessura da camada mamilar foi proporcionalmente semelhante ($p > 0,05$) entre os ovos das duas idades de matrizes, o que demonstra que a proporção desta camada se mantém independente da espessura da casca ou da idade da matriz. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Ruiz e Lunam (2000), porém estes autores também encontraram proporção semelhante para a camada em paliçada, o que não foi constatado neste experimento.

Em relação à cutícula, ovos de matrizes com diferentes idades tiveram a mesma capacidade de depositar esta camada, pois proporcionalmente os resultados entre as idades foram semelhantes ($p > 0,05$), sendo estes resultados também semelhantes aos encontrados por Ruiz e Lunam (2000).

4.1.2 Segunda fase experimental – Efeitos da idade da matriz pesada e do momento de transferência para o nascedouro sobre o rendimento de incubação

A temperatura da casca dos ovos entre o 12° e 19° dia de incubação estão apresentados na tabela 12 e na figura 20.

Tabela 12. Temperatura da casca dos ovos (°C) em função dos dias de incubação e da idade da matriz

Dias de incubação	Idade da matriz (semanas)		Média
	33	63	
12	37,8	37,8	37,78
15	38,2	38,2	38,19
17	38,3	38,3	38,27
19	38,3	38,3	38,29
Média	38,1 a	38,1 a	Q

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na linha, são semelhantes pelo teste F ($p > 0,05$).

^QEfeito quadrático de dias de incubação pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV = 0,9%.

A temperatura da casca dos ovos não foi influenciada pela idade da matriz ($p > 0,05$), independente do dia de incubação. Estes resultados discordam daqueles obtidos por Lourens et al. (2005), que encontraram maior temperatura nos ovos de matrizes mais velhas neste período.

Lourens et al. (2006) mostraram aumento das temperaturas das cascas dos ovos a partir do nono dia de incubação sendo verificado maior produção de calor pelos embriões de ovos grandes a partir do 15º dia, comparando-os à ovos pequenos. Segundo estes autores, a temperatura também deve ser considerada na incubação de matrizes com diferentes idades, visto que o tamanho do ovo aumenta com a idade da matriz. No caso deste experimento foi observado um efeito quadrático dos dias de incubação, revelando aumento da temperatura dos ovos com o decorrer da incubação. Os dados foram mensurados através da casca, o que segundo autores como Meijerhof e Van Beek (1993) e Lourens (2001) representam uma alternativa para ser utilizada como base de avaliação da temperatura embrionária.

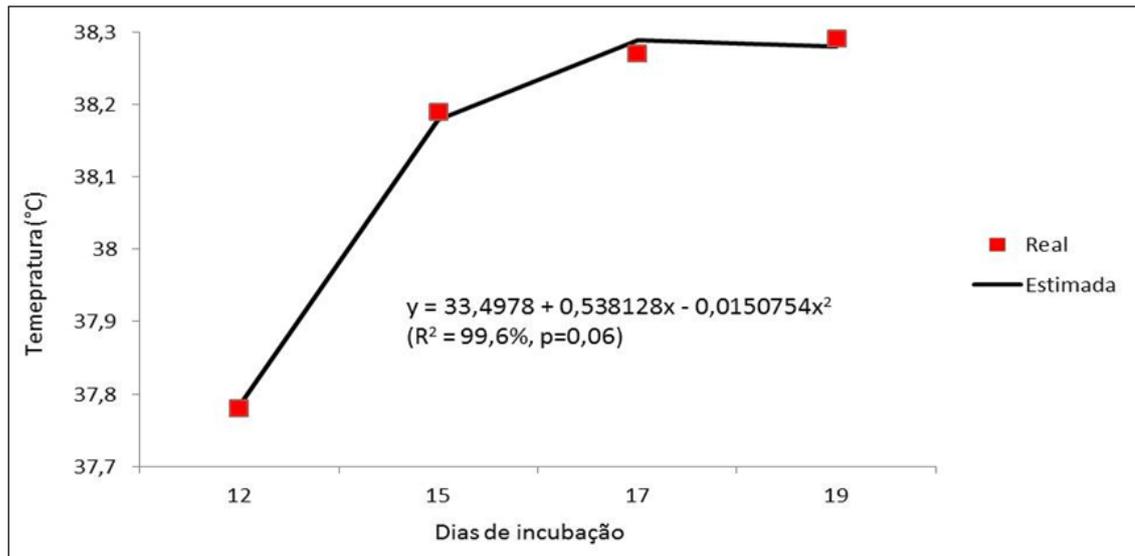


Figura 20. Temperatura dos ovos em função dos dias de incubação.

Os resultados relativos ao peso dos ovos antes da incubação encontram-se na tabela 13. Para efeito de discussão os dados desta tabela foram apresentados pelas médias, sendo que as medianas constam no anexo 4.

Tabela 13. Peso médio dos ovos, em gramas, antes da incubação

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	61,6	61,4	61,4	61,7 B
63	72,0	72,1	72,4	72,2 A
Média	66,8 a	66,8 a	66,9 a	

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,01$).

O peso dos ovos foi maior na idade da matriz mais velha ($p \leq 0,01$), o que era esperado, pois o peso do ovo aumenta com a idade da matriz, conforme discutido anteriormente na tabela 5. Como nesta fase os ovos ainda não haviam sido incubados, a apresentação destes resultados serve para mostrar que, em uma mesma idade das galinhas, os ovos que foram incubados para serem transferidos da incubadora para o nascedouro em diferentes momentos da incubação, apresentavam pesos semelhantes, evidenciando a uniformidade da amostra.

Os dados de perda de peso dos ovos durante a incubação estão apresentados na tabela 14.

Tabela 14. Percentagens de perda de peso dos ovos durante a incubação, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	9,1	9,9	10,8	9,9 B
63	10,0	11,2	12,2	11,1 A
Média	9,6 c	10,6 b	11,5 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=11,6%.

Em relação à idade da matriz, independente do momento da incubação (dia da transferência), ovos das reprodutoras com 63 semanas perderam mais peso ($p \leq 0,05$) do que os ovos das reprodutoras com 33 semanas. Estes dados estão de acordo com Tullet (1990), Buhr (1995) e Santos et al. (2005), que verificaram elevação da perda de umidade dos ovos concomitante com o aumento da idade das matrizes. Os autores relacionaram este acontecimento com o aumento da condutância da casca, que está diretamente relacionada com o número de poros, espessura e resistência da casca e suas membranas. Estas observações foram confirmadas neste experimento, visto que os ovos de matrizes velhas tiveram maior porosidade, menor espessura e resistência de casca, e menor espessura das membranas da casca, sendo que os mesmos consequentemente perderam mais peso durante o período avaliado.

A taxa de perda de peso dos ovos foi maior à medida que avançou o desenvolvimento embrionário ($p \leq 0,05$), demonstrando que com o decorrer da incubação, o conteúdo de água do ovo vai sendo perdido para o meio externo, independe da idade da matriz, conforme descrito na literatura (Ar et al., 1974; Tullet e Deeming, 1982; Tazawa e Whittow, 2000).

Nas tabelas 15 a 31 estão apresentados os resultados referentes ao rendimento de incubação. Para efeito de discussão, os dados das tabelas 16, 19 e 21 a 25 foram apresentados pelas médias, sendo que as medianas constam nos anexos 5 a 11.

Tabela 15. Percentual de pintos nascidos, 20 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	19,6	42,4	38,2	33,4 B
63	27,0	48,8	45,2	40,3 A
Média	23,3 b	45,6 a	41,7 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Duncan e F, respectivamente ($p \leq 0,05$). CV=62,5%.

Faltando 20 horas para completar 21 dias de incubação, (que foi o momento programado para ocorrer a retirada de todos os pintos eclodidos dos nascedouros), verificou-se que independente da idade da matriz, pintos cujos ovos foram transferidos da incubadora para a máquina de eclosão com 15 dias de incubação, haviam iniciado o nascimento mais tarde ($p \leq 0,05$) do que aqueles que foram transferidos com 17 e 19 dias, os quais tinham percentual de nascimento semelhantes entre si ($p > 0,05$). Independente do momento de transferência, pintos descendentes de matrizes novas tinham menor percentual de nascimento ($p \leq 0,05$) quando comparados aos pintos eclodidos de matrizes velhas. Como ovos de matrizes velhas demonstraram ter características estruturais que permitem maior troca de gases entre o embrião e o meio externo durante a incubação, esta característica pode ter sido responsável por um metabolismo mais acelerado que provocou início de nascimento em menor tempo nestes pintos.

Tabela 16. Percentual de pintos nascidos, 10 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)		
	15	17	19
33	80,0 Ab	91,0 Aab	95,1 Aa
63	84,8 Ab	96,0 Aa	97,4 Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Houve interação entre a idade da matriz e os momentos da transferência para esta variável. Não houve diferença ($p > 0,05$) no percentual de pintos nascidos dez horas antes da retirada dos nascedouros entre as idades das galinhas nos diferentes momentos de transferência. Em matrizes novas, o percentual de pintos que já haviam nascido em ovos transferidos aos 19 dias de incubação foi maior ($p \leq 0,05$) do que os transferidos com 15 dias. Ovos de matrizes novas transferidos com 17 dias apresentaram percentual de pintos nascidos intermediário e semelhante ($p > 0,05$) aos demais momentos de transferência. Em matrizes velhas, o percentual de pintos nascidos 10 horas antes da retirada do nascedouro foi menor ($p \leq 0,05$) quando os ovos foram transferidos com 15 dias do que com 17 ou 19 dias. Estes resultados demonstraram que 10 horas antes da retirada dos nascedouros a influência da idade ou do momento de transferência dos ovos para o nascedouro estava menos acentuada quando comparado à avaliação anterior, realizada 20 horas antes da retirada dos pintos.

Tabela 17. Percentual de eclosão em relação ao número total de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	87,0	87,1	87,3	87,1 A
63	82,0	81,8	83,5	82,4 B
Média	84,5 a	84,5 a	85,4 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,0001$). CV=4,4%.

Completados os 21 dias de incubação, a eclodibilidade em relação ao número total de ovos incubados não sofreu influência do momento de transferência dos ovos para o nascedouro ($p > 0,05$), independente da idade da matriz. A eclodibilidade relativa ao total de ovos incubados de matrizes com 33 semanas foi significativamente maior ($p \leq 0,0001$) quando comparada às matrizes com 63 semanas, independente do momento que ocorreu a transferência na incubação.

Tabela 18. Percentual de eclosão em relação ao número de ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	88,1	88,4	89,0	88,5
63	88,3	88,3	88,6	88,4
Média	88,2	88,3	88,8	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p > 0,05$). CV=3,9%.

Os dados da tabela 18 revelam que aos 21 dias de incubação, o percentual de eclosão em relação ao número de ovos férteis incubados não sofreu influência da idade da matriz ($p > 0,05$), independente do momento da transferência; assim como esta variável não foi influenciada pelo momento de transferência ($p > 0,05$), independente da idade da matriz. Desta forma, os diferentes fatores físicos (temperatura, umidade relativa do ar, ventilação e viragem), cujos tratamentos foram submetidos não determinaram diferenças na eclodibilidade.

A diferença de eclosão em relação às idades das matrizes observadas na tabela anterior também não foi atribuída aos momentos de transferência, visto que tiveram eclodibilidade semelhantes quando esta variável foi calculada sobre ovos férteis. Estes resultados discordam daqueles apresentados por Tona et al. (2001), onde melhor eclodibilidade foi observada em ovos que foram transferidos para bandejas de eclosão aos 18 dias quando comparados aos tratamentos transferidos aos 15, 16 ou 17 dias, nos quais as eclodibilidades foram semelhantes. Entretanto, no experimento destes autores apenas ocorreu mudança das bandejas de incubação para as bandejas de eclosão nos períodos citados, sendo cessada a viragem, porém os ovos de todos os tratamentos permaneceram nas máquinas de incubação sob as mesmas condições de temperatura, ventilação e umidade relativa do ar.

Tabela 19. Percentual de fertilidade em relação ao número de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	98,8	98,6	98,1	98,5 A
63	92,9	92,6	94,2	93,2 B
Média	95,8 a	95,6 a	96,1 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Ovos de matrizes com 33 semanas tiveram melhor fertilidade ($p \leq 0,05$) quando comparados aos ovos de matrizes com 66 semanas. Este resultado é compreensível pois a infertilidade aumenta à medida que as aves envelhecem. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na fertilidade em relação aos momentos da transferência, o que era esperado em vista da uniformidade dos tratamentos. Estes resultados confirmam os dados apresentados nas tabelas 17 e 18, pois demonstram que a menor eclodibilidade ocorrida nas matrizes com 66 semanas, independente do momento da transferência, justifica-se pela maior infertilidade nessa idade. Quando a eclodibilidade foi calculada sobre ovos férteis (tabela 18), esta diferença passou a não existir.

Tabela 20. Mortalidade embrionária, em percentual, de zero a sete dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	4,8	5,4	5,7	5,3
63	4,7	4,5	4,0	4,4
Média	4,7	5,0	4,8	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p > 0,05$). CV=48,4%

Não ocorreu efeito da idade da matriz ($p > 0,05$) sobre a mortalidade inicial de zero a sete dias, independente do momento de transferência. Também não houve influência dos momentos de transferência ($p > 0,05$) sobre esta variável, independente da idade da matriz. Como neste período todos os ovos estavam submetidos as mesmas condições de temperatura, umidade relativa do ar e viragem não eram esperadas diferenças em relação aos tratamentos referentes ao manejo de transferência, visto que a mesma ainda não havia sido realizada.

Tabela 21. Mortalidade embrionária, em percentual, de oito a 14 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Médias
	15	17	19	
33	0,3	0,4	0,4	0,4
63	0,3	0,3	0,6	0,4
Médias	0,3	0,3	0,5	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

A mortalidade no período de oito a 14 dias não foi influenciada pelos tratamentos ($p>0,05$). Normalmente esta fase de mortalidade embrionária não apresenta valores altos, e da mesma forma que no período analisado na tabela anterior, a transferência ainda não havia sido realizada.

Tabela 22. Mortalidade embrionária, em percentual, de 15 a 18 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Médias
	15	17	19	
33	0,9	0,8	0,9	0,9
63	1,4	1,1	1,0	1,2
Médias	1,2	1,0	1,0	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

Os resultados da tabela 22 demonstram que a transferência realizada aos 15, 17 ou 19 dias da incubadora para o nascedouro não influenciou a mortalidade embrionária no período de 15 a 18 dias ($p>0,05$). A variação na data da transferência e a consequente mudança nos fatores físicos da incubação a que os ovos dos tratamentos foram impostos não causaram mortalidade nesta fase, independente da idade da matriz. A idade da matriz também não influenciou a mortalidade embrionária neste período, independente dos momentos das transferências ($p>0,05$).

Tabela 23. Mortalidade embrionária e pintos bicados, em percentual, de 19 a 21 dias, calculados sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Médias
	15	17	19	
33	5,7	4,1	3,7	4,5
63	4,4	4,5	4,8	4,5
Médias	5,1	4,3	4,3	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

Da mesma forma que o período anterior, a taxa de mortalidade na fase final de incubação e o percentual de pintos que bicaram a casca do ovo e não eclodiram não foram influenciados pelos tratamentos ($p>0,05$); reafirmando o fato de que os diferentes momentos de transferência estudados não causaram efeitos sobre a mortalidade embrionária, independente da idade da matriz. Em relação à idade da matriz, os tratamentos também foram semelhantes ($p>0,05$) independentemente dos momentos de transferência.

Tabela 24. Taxa dos ovos contaminados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Médias
	15	17	19	
33	0,2	0,8	0,4	0,5
63	0,8	1,3	1,0	1,1
Médias	0,5	1,1	0,7	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

O percentual de ovos contaminados foi semelhante ($p>0,05$) nas matrizes novas e velhas, independente dos momentos da transferência. Os momentos da transferência também demonstraram percentual de contaminação semelhante entre os tratamentos ($p>0,05$), independente da idade da matriz. Estes dados discordam daqueles encontrados por McLoughlin e Gous (2000), que afirmaram que ovos de matrizes velhas têm maior índice de ovos contaminados do que ovos de matrizes novas.

Apesar da maior susceptibilidade das matrizes velhas à contaminação constatada neste experimento (menor espessura de casca, cutícula, membrana, resistência e maior número de poros), não foi observado efeito dos tratamentos sobre o número de ovos contaminados, sobre a mortalidade embrionária e eclodibilidade.

Tabela 25. Taxa dos ovos desidratados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Médias
	15	17	19	
33	0,0	0,1	0,0	0,0
63	0,1	0,0	0,0	0,0
Médias	0,0	0,0	0,0	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

Os mesmos resultados em relação aos parâmetros de mortalidade embrionária das análises anteriores foram verificados em relação ao percentual de ovos desidratados. Esta variável pode ocorrer devido à excessiva perda de peso dos embriões ou trincas na casca do ovo ocorridas antes ou durante o período de incubação. Neste experimento não houve influência do momento da transferência sobre o percentual de ovos desidratados ($p>0,05$), independente da idade da matriz, o que demonstra que nenhum dos tratamentos foi submetido a ambiente que causou excessiva perda de umidade. A idade da matriz também não influenciou esta variável ($p>0,05$) independente do momento de transferência dos ovos para os nascedouros. Emara (2008) afirmou que ovos de matrizes mais velhas são menos resistentes à quebra, e que a manipulação inadequada destes ovos no incubatório pode causar perdas na produtividade. Os dados deste experimento também demonstraram que ovos de matrizes mais velhas têm menor resistência de casca, porém não ocorreram perdas significativas relacionadas a ovos desidratados.

Tabela 26. Peso dos pintos no momento da eclosão, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	42,0	42,3	42,1	42,1 B
63	48,3	47,4	46,8	47,5 A
Média	45,2 a	44,9 a	44,4 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p\leq 0,0001$). CV=6,0%.

O peso dos pintos provenientes de matrizes novas foi inferior ($p \leq 0,0001$) quando comparado aos pintos provenientes de matrizes velhas independente dos momentos da transferência, o que é normal, visto que o peso do pinto é proporcional ao peso do ovo, e nestes tratamentos foi observada diferença significativa no peso dos ovos incubáveis entre as duas idades (tabela 5). Não foi observada influência dos momentos da transferência sobre o peso dos pintos ($p > 0,05$), independente da idade da matriz. A uniformidade dos tratamentos a serem transferidos em diferentes momentos foi demonstrada na tabela 13, onde não ocorreram variações no peso destes ovos. Consequentemente, o mesmo fato ocorreu em relação ao peso dos pintos.

Tabela 27. Relação percentual entre o peso do pinto/peso do ovo, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	70,8	69,3	70,0	70,0 A
63	68,8	66,9	67,6	67,8 B
Média	69,8 a	68,1 b	68,8 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,0001$). CV=2,5%.

A tabela 27 demonstra que pintos provenientes de matrizes velhas tiveram menor relação peso do pinto/peso do ovo ($p \leq 0,0001$) quando comparada com esta relação em pintos de matrizes novas, independente do momento de transferência. Pintos de matrizes novas obtiveram maior ($p \leq 0,0001$) relação entre peso do pinto/peso do ovo, e consequentemente maior absorção do saco vitelino. Já a relação percentual entre o peso do pinto/peso do ovo ($p \leq 0,0001$) foi maior para os tratamentos cujos ovos foram transferidos aos 15 dias para o nascedouro, independente da idade da matriz, quando comparados aos tratamentos transferidos com 17 e 19 dias, que foram semelhantes entre si. Este resultado pode estar relacionado ao fato de que os tratamentos que foram transferidos aos 15 dias poderiam estar sendo favorecidos pelas condições ambientais do nascedouro.

Tabela 28. Peso absoluto do coração dos pintos, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	0,36	0,36	0,35	0,36 B
63	0,41	0,40	0,39	0,40 A
Média	0,39 a	0,38 a	0,37 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,0001$). CV=7,0%.

O peso absoluto do coração foi menor ($p \leq 0,0001$) em pintos de matrizes novas do que o peso do coração de pintos de matrizes mais velhas, independente dos momentos de transferência. Estes dados estão de acordo com os encontrados por Luquetti et al. (2004), que verificaram acréscimo no peso absoluto do coração à medida que aumentou a idade da matriz. Porém, no experimento de Morita et al. (2009), esta variável foi semelhante entre idades de matrizes de 29 e 60 semanas. Os momentos da transferência não influenciaram o peso absoluto do coração ($p > 0,05$) independente da idade da matriz.

Tabela 29. Relação percentual entre o peso do coração/peso do pinto de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	0,85	0,86	0,83	0,85
63	0,85	0,85	0,84	0,85
Média	0,85	0,86	0,83	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=13,1%.

A relação peso do coração/peso do pinto não sofreu influência dos tratamentos ($p>0,05$), sendo que independente da idade da matriz ou do momento de transferência, esta variável teve valores semelhantes. Estes dados discordam daqueles encontrados por Barbosa et al. (2008), que encontraram maior relação peso do coração/peso do pinto em matrizes com idade de 56 semanas de idade quando comparados as matrizes de 26 e 41 semanas, que foram estatisticamente semelhantes; entretanto estes autores trabalharam com matrizes leves. Comparando pintos de matrizes pesadas, Morita et al. (2009) observaram os mesmos resultados mostrados na tabela 29. Estes autores não observaram diferenças significativas entre a relação peso do coração/peso do pinto em reprodutoras com idades de 29 e 60 semanas.

Tabela 30. Peso absoluto do saco vitelino dos pintos, em gramas, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	4,99	5,43	5,43	5,28 B
63	6,58	6,46	6,37	6,47 A
Média	5,78 a	5,95 a	5,90 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p\leq 0,0001$). CV=10,5%.

Os resultados relativos ao peso absoluto do saco vitelino não revelaram influência dos momentos da transferência ($p>0,05$) independente da idade da matriz. O peso absoluto do saco vitelino dos pintos descendentes de matrizes com 63 semanas foi maior ($p\leq 0,0001$) do que àqueles de matrizes novas, independente dos momentos de transferência, concordando com os dados obtidos por Sklan et al. (2003). Estes autores observaram aumento do saco vitelino de pintos recém-eclodidos à medida que aumentou a idade da matriz, e justificaram o resultado devido ao maior peso dos pintos de matrizes mais velhas e conseqüentemente ao maior tamanho de gema.

Tabela 31. Relação percentual entre o peso do saco vitelino/peso do pinto de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	11,9	12,8	12,8	12,5 B
63	13,6	13,5	13,6	13,5 A
Média	12,7 a	13,1 a	13,2 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p\leq 0,0001$). CV=17,8%.

A relação percentual entre peso do saco vitelino/peso do pinto não foi influenciada ($p>0,05$) pelos momentos de transferência, independente da idade da matriz. Esta variável foi influenciada pela idade da matriz, independente dos momentos de transferência. Matrizes de 33 semanas de idade obtiveram menor relação peso do saco vitelino/peso do pinto ($p\leq 0,0001$) quando comparada com matrizes de 63 semanas. Estes dados concordam com a pesquisa de Burnham et al.

(2001), que justificaram que pintos descendentes de matrizes novas têm maior absorção de saco vitelino do que aqueles originados de matrizes mais velhas, provavelmente para compensar possíveis deficiências de nutrientes na gema ou uma ineficiência na transferência de lipídios ou utilização destes nutrientes pelo embrião. Outra hipótese seria o fato de que o tamanho das gemas estaria influenciando este resultado, pois ovos de matrizes mais novas têm menores tamanhos de gema.

4.1.3 Terceira fase experimental – Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre os parâmetros fisiológicos dos embriões durante a incubação e dos pintos após a eclosão

Os resultados referentes ao pH sanguíneo dos embriões e pintos estão apresentados nas tabelas 32 a 34 e foram ilustrados conjuntamente na figura 21.

Tabela 32. Valores médios de pH sanguíneo dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	7,52	7,54	7,54	7,53
63	7,57	7,58	7,60	7,58
Média	7,55	7,56	7,57	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=1,3%.

O pH sanguíneo dos embriões no momento de suas transferências, aos 15, 17 e 19 dias estavam semelhantes ($p>0,05$), independente da idade da matriz. Esta variável também não sofreu influência da idade da matriz, independente do momento em que os ovos foram transferidos ($p>0,05$). Estes resultados demonstram que não houve alteração de pH sanguíneo dos embriões de matrizes novas e velhas durante o período anterior à bicagem interna, independente dos mesmos estarem com 15, 17 ou 19 dias de incubação.

Tabela 33. Valores médios de pH sanguíneo dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	7,48	7,35	7,36	7,39 A
63	7,40	7,30	7,31	7,34 B
Média	7,44 a	7,33 b	7,34 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). CV=1,1%.

Aos 20 dias de incubação, após a bicagem interna e no momento anterior à bicagem externa da casca, independente da idade da matriz, embriões que tiveram ovos transferidos aos 15 dias apresentaram pH sanguíneo mais elevado ($p\leq 0,05$) quando comparados aos embriões cujos ovos foram transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si. O pH sanguíneo de embriões descendentes de matrizes com 33 semanas foi maior ($p\leq 0,05$) do que o pH sanguíneo dos embriões das reprodutoras com 63 semanas, independente do momento de transferência.

Tabela 34. Valores médios de pH sanguíneo dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	7,55	7,55	7,54	7,55
63	7,54	7,52	7,53	7,53
Média	7,54	7,54	7,53	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=0,9%.

O pH sanguíneo dos pintos após a eclosão não foram influenciados pelas idades das matrizes e pelos diferentes momentos de transferência para o nascedouro ($p>0,05$).

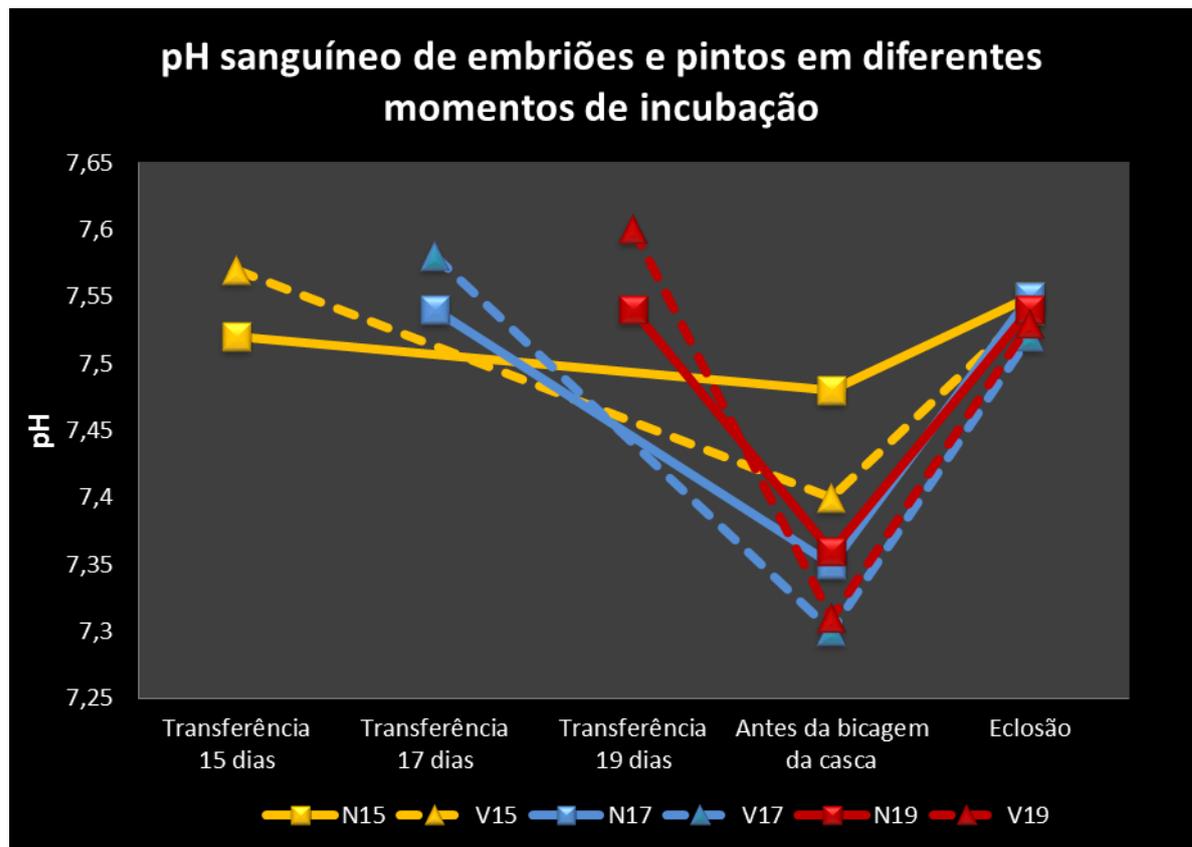


Figura 21. pH sanguíneo de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

Conforme demonstrado na figura 21, é possível observar que na fase perinatal dos embriões (momento compreendido entre a bicagem interna e a bicagem externa da casca) ocorreu uma queda de pH sanguíneo em todos os tratamentos. Neste estágio, os embriões que foram transferidos aos 15 dias de incubação, tinham valores de pH sanguíneo significativamente maiores do que os embriões que foram transferidos aos 17 ou 19 dias para o nascedouro; ou seja, estes embriões tiveram uma queda menos acentuada de pH sanguíneo, independente da idade da matriz. Os embriões descendentes de matrizes novas, também neste momento, tinham valores significativamente mais elevados quando comparados aos embriões de matrizes velhas, demonstrando uma queda de pH sanguíneo menor, independente dos períodos de transferência para o nascedouro. Após a eclosão, pintos de todos os tratamentos elevaram seu pH sanguíneo, e nesta ocasião, as diferenças ocorridas antes da bicagem externa da casca deixaram de existir, resultando em pH sanguíneos semelhantes nos pintos de todos os tratamentos. Rowlett e Kimkiss (1989) afirmaram que as primeiras medições de

hemogasometria em embriões de aves demonstraram uma acidose respiratória progressiva até o final do desenvolvimento. Os valores da PaCO₂ e PaO₂ apresentados nas tabelas a seguir, demonstram que o aumento da PaCO₂ e a queda de PaO₂ que ocorreram progressivamente durante o desenvolvimento embrionário até momentos anteriores à eclosão justificam os resultados de pH sanguíneo. A partir da eclosão, quando estes níveis foram estabilizados, o pH sanguíneo se elevou, voltando aos valores próximos dos iniciais.

Em relação à idade da matriz, os resultados deste experimento concordam com os obtidos por Yalçın et al. (2008), que avaliaram embriões de matrizes pesadas com 32, 42 e 65 semanas no momento da bicagem interna e à eclosão. Nestes dois momentos, o valor de pH sanguíneo dos embriões descendentes de matrizes com 65 semanas foi significativamente menor quando comparado às idades mais novas, que tiveram resultados semelhantes entre si. Os autores também observaram que após a eclosão ocorreu aumento da PaO₂ e queda da PaCO₂.

Nas tabelas 35 a 37 estão apresentados os resultados da PaCO₂ (mmHg) de embriões e pintos e estes estão ilustrados conjuntamente na figura 22.

Tabela 35. Valores médios da PaCO₂ (mmHg) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	25,4	35,5	37,9	32,9 A
63	29,8	36,9	39,9	35,5 A
Média	27,6 b	36,2 a	38,9 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,05$). CV=23,8%.

A PaCO₂ dos embriões quando estes estavam com 15 dias de incubação foi menor ($p \leq 0,05$) que a PaCO₂ de embriões quando estes estavam com 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Embriões de matrizes novas e velhas apresentaram PaCO₂ semelhante, independente do momento da transferência ($p > 0,05$).

Tabela 36. Valores médios da PaCO₂ (mmHg) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	40,4	45,4	49,1	45,0 A
63	41,2	47,5	47,8	45,5 A
Média	40,8 b	46,5 a	48,5 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,05$). CV=15,4%.

A PaCO₂ dos embriões transferidos aos 15 dias foi menor ($p \leq 0,05$) que a PaCO₂ dos embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz, quando a incubação estava no 20º dia. Nesta fase, embriões de matrizes novas e velhas apresentaram PaCO₂ semelhante ($p > 0,05$), independente do momento da transferência.

Tabela 37. Valores médios da PaCO₂ (mmHg) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)		
	15	17	19
33	21,7 Ba	26,4 Aa	24,0 Aa
63	26,2 Aa	24,7 Aa	23,7 Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=11,4%.

Houve interação entre a idade da matriz e os momentos da transferência para esta variável. Quando a transferência foi realizada aos 15 dias de incubação, pintos originados de ovos de matrizes novas apresentaram menor ($p \leq 0,05$) PaCO₂ do que os de matrizes velhas. Nos demais momentos de transferência, não houve diferença ($p > 0,05$) na PaCO₂ entre as idades das matrizes. Os momentos de transferência não influenciaram ($p > 0,05$) esta variável tanto em matrizes novas como em matrizes velhas.

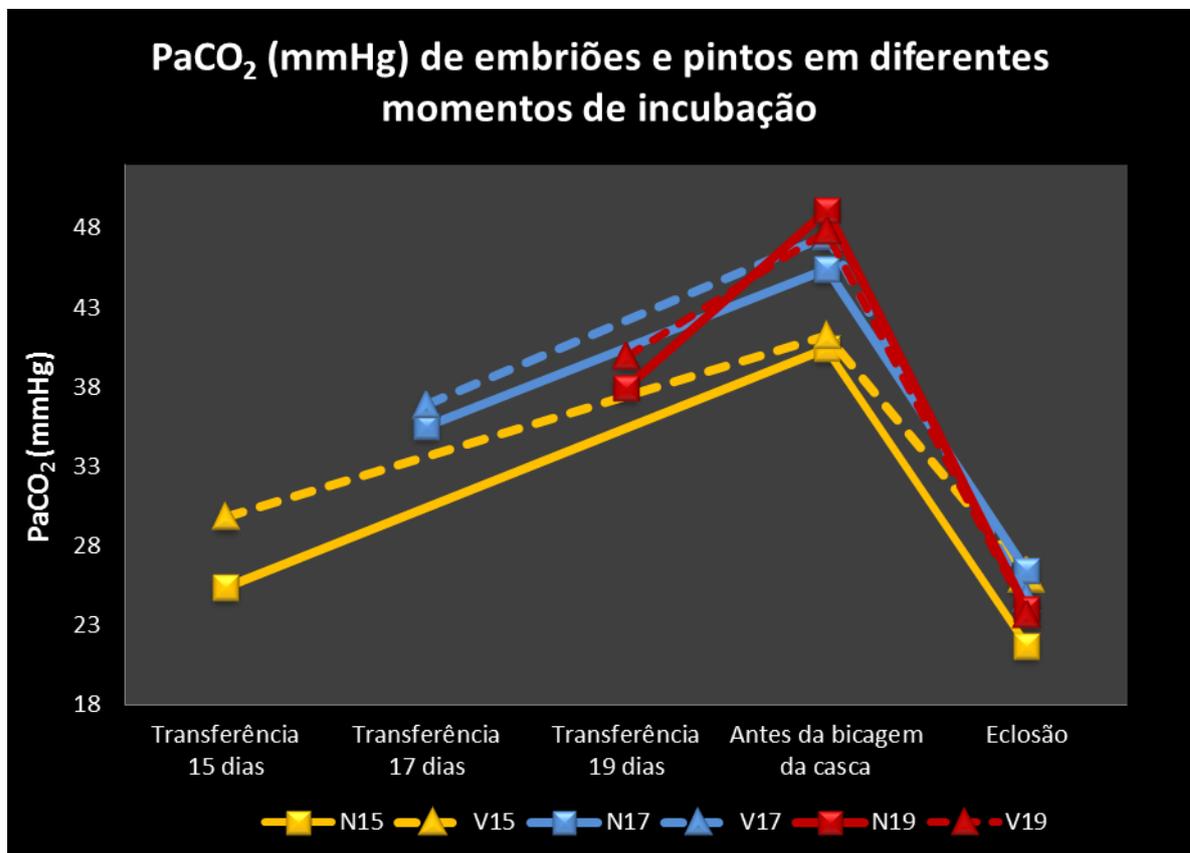


Figura 22. PaCO₂ (mmHg) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 22 demonstra que embriões tiveram um aumento em sua PaCO₂ até momentos antes da bicagem da casca. Após a eclósão, estes níveis diminuíram. Os resultados condizem com as afirmações de Hamidu et al. (2007). Segundo estes autores, durante o desenvolvimento embrionário ocorre aumento significativo na produção de CO₂ mesmo após a bicagem interna da casca, onde esta produção revela seus maiores níveis, evidenciando maior exigência metabólica do processo de nascimento. Anteriormente, Tona et al. (2003) e De Smit et al.

(2006) avaliando a câmara de ar momentos antes e após a bicagem interna, obtiveram aumento significativo da pressão de CO₂ nesta região entre estes dois momentos.

As informações dos pesquisadores citados aliadas aos resultados obtidos neste experimento mostram que, até a completa transição da respiração corioalantóidea para a respiração pulmonar, ocorre uma hipercapnia nestes embriões que pode estar associada ao estímulo para a eclosão. Foi observado que embriões cujos ovos foram transferidos aos 15 dias tiveram menor PaCO₂ até o momento da bicagem externa da casca quando comparados aos outros tratamentos. Estes embriões permaneceram maior tempo nos nascedouros, sob condições de maior ventilação e conseqüentemente maior suprimento de O₂ e menor concentração de CO₂ nos ambientes da máquina, que também podem justificar o fato destes embriões terem iniciado o nascimento mais tardiamente.

Os resultados da PaO₂ (mmHg) de embriões e pintos estão demonstrados nas tabelas 38 a 40 e foram ilustrados conjuntamente na figura 23.

Tabela 38. Valores médios da PaO₂ (mmHg) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	55,6	44,2	32,5	44,4 A
63	54,9	42,6	30,8	42,8 A
Média	55,8 a	43,4 b	31,7 c	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,05$). CV=33,6%.

Independente da idade da matriz, a PaO₂ dos embriões diminuiu à medida que ocorreram os momentos de transferência ($p \leq 0,05$), ou seja, à medida que os embriões foram aumentando de idade, evidenciando um progressivo “déficit” de oxigênio, que pode ser justificado pelo aumento do consumo com o seu crescimento. Independente do momento da transferência, embriões de reprodutoras das duas idades tiveram PaO₂ semelhantes ($p > 0,05$).

Tabela 39. Valores médios da PaO₂ (mmHg) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	26,3	21,7	22,1	23,4 A
63	23,6	19,8	19,3	20,9 B
Média	25,0 a	20,8 b	20,7 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=13,7%.

Aos 20 dias de incubação, a PaO₂ dos embriões transferidos aos 15 dias foi maior ($p \leq 0,05$) quando comparada aos embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Embriões de matrizes novas apresentaram maior nível de PaO₂ ($p \leq 0,05$) quando comparados aos embriões de matrizes mais velhas, independente do momento da transferência. Como o ovo e os pintos de matrizes velhas foram mais pesados, provavelmente estes embriões maiores tiveram maior produção de calor, maior consumo de oxigênio, revelando conseqüentemente maior hipóxia neste momento. Este fato também pode justificar o início mais rápido de nascimento destes embriões demonstrados na tabela 15.

Avaliando conjuntamente as respostas de pH sanguíneo e PaO₂ dos tratamentos neste período perinatal, é possível verificar que embriões de matrizes mais novas, cujas PaO₂ foram maiores, também tiveram pH sanguíneo significativamente maiores quando comparados às matrizes velhas, independente do momento da transferência. A mesma situação ocorreu nos tratamentos transferidos aos 15 dias, independente da idade da matriz. Os embriões dos tratamentos em questão também demonstraram indícios de um estado de acidose respiratória antes da bicagem externa, porém em menor nível do que os embriões de outros tratamentos.

Tabela 40. Valores médios da PaO₂ (mmHg) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	58,2	56,4	56,8	57,1
63	56,4	57,6	56,8	57,6
Média	57,3	57,0	57,8	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=4,4%.

A idade da matriz e os momentos de transferência dos ovos não influenciaram ($p>0,05$) esta variável nos pintos após a eclosão.

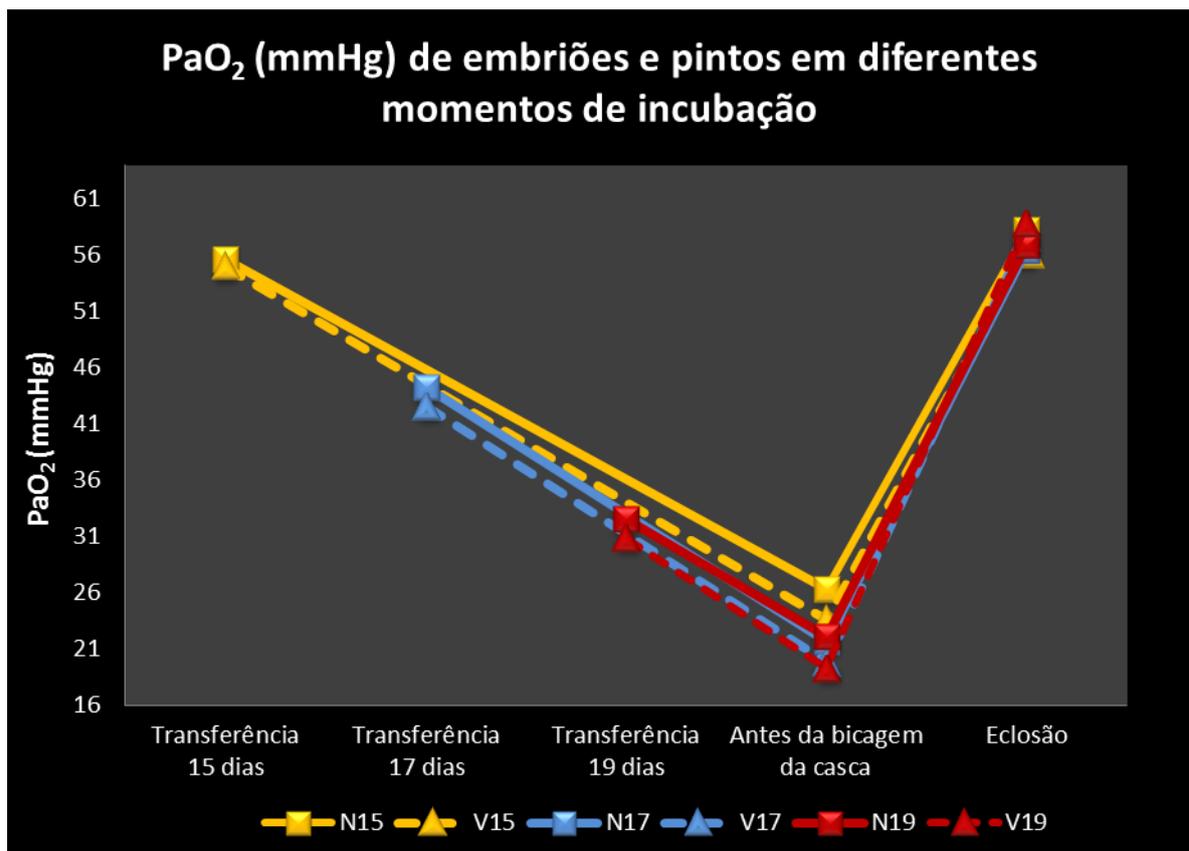


Figura 23. PaO₂ (mmHg) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 23 demonstra a diminuição progressiva da PaO₂ com o decorrer do desenvolvimento embrionário até momentos antes da bicagem da casca. Após os pintos eclodirem, a

PaO₂ se elevou em todos os tratamentos e atingiram níveis semelhantes, coincidindo com a transição para a respiração pulmonar. Estes dados concordam com Christensen (1995), Rondón e Murakami (1998) e Onagbesan et al. (2007) os quais observaram que aproximadamente no 19º dia de incubação ocorre aumento da necessidade de oxigênio pelos embriões e a respiração por difusão através da membrana corioalantóide não pode suprir esta deficiência, sendo a hipóxia ocorrida nesta fase um estímulo para a bicagem interna e para a eclosão.

As concentrações sanguíneas de HCO₃⁻ (mmol/L) de embriões e pintos encontram-se nas tabelas 41 a 43 e foram ilustradas conjuntamente na figura 24.

Tabela 41. Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO₃⁻ (mmol/L) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	27,8	30,3	30,6	29,6 A
63	25,9	29,0	29,8	28,3 A
Média	26,9 b	29,7 a	30,2 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey (p≤0,05). CV=8,3%.

A concentração sanguínea de HCO₃⁻ dos embriões transferidos aos 15 dias foi menor (p≤0,05) que a dos embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Este resultado mostra que a função tamponante do bicarbonato frente à um distúrbio ácido-básico pode ter sido menos necessária nos embriões transferidos aos 15 dias, visto que os mesmos nesta fase obtiveram menor PaCO₂ quando comparados aos outros tratamentos, em relação aos momentos de transferência (tabela 35). Embriões de matrizes novas apresentaram HCO₃⁻ semelhante (p>0,05) aos embriões de matrizes velhas, independente do momento da transferência, o que também ocorreu para a variável PaCO₂.

Tabela 42. Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO₃⁻ (mmol/L) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	31,9	36,7	35,7	34,8 A
63	29,7	34,5	34,1	32,8 A
Média	30,8 b	35,6 a	34,9 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey (p≤0,05). CV=10,1%.

Aos 20 dias de incubação, a concentração sanguínea de HCO₃⁻ dos embriões transferidos aos 15 dias foi menor (p≤0,05) do que os embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Embriões de matrizes com diferentes idades apresentaram concentração de HCO₃⁻ semelhante (p>0,05), independente do momento da transferência. Este resultado também mostrou que a função tamponante do bicarbonato obteve ação similar e nos mesmos tratamentos da análise anterior (tabela 36), referente à PaCO₂.

Tabela 43. Valores médios das concentrações sanguíneas de HCO_3^- (mmol/L) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)		
	15	17	19
33	22,6 Aa	23,1 Aa	21,0 Ab
63	19,0 Bb	20,5 Ba	20,6 Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=4,5%.

Houve interação entre a idade da matriz e os momentos da transferência para esta variável. Nas transferências realizadas aos 15 e 17 dias de incubação, pintos originados de ovos de matrizes novas apresentaram maior ($p \leq 0,05$) valor de HCO_3^- do que os de matrizes velhas. Este efeito da idade não foi observado na transferência realizada aos 19 dias de incubação. Em matrizes novas, pintos provenientes de ovos transferidos com 15 e 17 dias apresentaram maior ($p \leq 0,05$) HCO_3^- do que os de ovos transferidos com 19 dias de incubação. Em matrizes velhas, pintos originados de ovos transferidos com 15 dias apresentaram menor ($p \leq 0,05$) HCO_3^- do que os transferidos com 17 e 19 dias.

Na tabela 43 pôde-se observar que, após a eclosão, PaCO_2 e a concentração sanguínea de HCO_3^- dos embriões descendentes das matrizes novas transferidas aos 15 dias de incubação foi significativamente menor quando comparada aos embriões de matrizes velhas transferidos no mesmo período. Nos outros tratamentos a função tamponante do bicarbonato mostrou-se diferenciada para manter o equilíbrio ácido-básico evidenciado nos pintos após o nascimento, através da associação dos parâmetros de pH sanguíneo, PaCO_2 e PaO_2 .

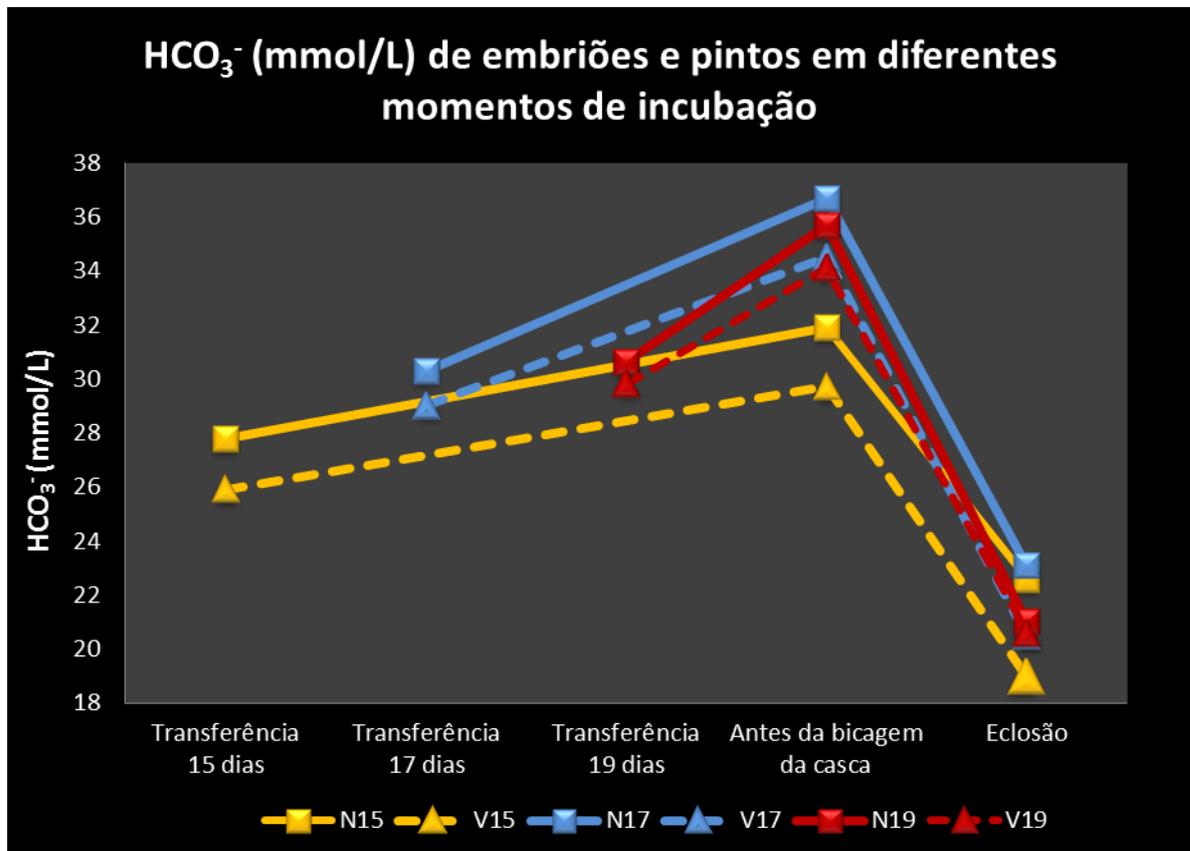


Figura 24. HCO_3^- (mmol/L) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

Observando a tendência nas retas da figura 24, foi possível verificar que as concentrações sanguíneas de HCO_3^- durante a incubação acompanharam as tendências das PaCO_2 , ilustradas na figura 20. Estas observações concordam com as obtidas por Rowlett e Kimkiss (1989), Bruggeman et al. (2007) e Yalçin et al. (2008), que ao avaliarem o equilíbrio ácido-básico do embrião em desenvolvimento informaram sobre a ação tamponante de HCO_3^- como tentativa de reduzir o pH frente à situações de hipóxia e/ou hipercapnia.

As avaliações relativas ao hematócrito (%) de embriões e pintos encontram-se nas tabelas 44 a 46 e foram ilustradas conjuntamente na figura 25.

Tabela 44. Valores médios do hematócrito (%) de embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	21,1	21,8	23,8	22,2 A
63	20,0	21,6	23,8	21,8 A
Média	20,6 c	21,7 b	23,8 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=11,4%. CONFERIR LETRAS TRABALHO ZOOTEC.

Independente da idade da matriz, o hematócrito dos embriões aumentou ($p \leq 0,05$) à medida que avançou o desenvolvimento embrionário, sendo a idade do embrião correspondente ao momento de transferência. A idade das matrizes não influenciou ($p > 0,05$) os valores do hematócrito dos embriões, independente do momento da transferência. De acordo com Wangenstein e Weibel (1982), Tazawa e Whittow (2000) e Wagner-Amos et al. (2003), o fluxo de sangue através da corioalantóide aumenta significativamente entre o 10º e o 18º dia de incubação, ocorrendo menor tempo de contato das hemácias com o oxigênio devido a esta redução do tempo de circulação. Nesta fase, ocorre elevação do hematócrito permitindo aumento da oxigenação do sangue no leito dos capilares. Porém, no final do desenvolvimento pré-natal, os níveis de oxigênio se tornam cada vez menores. Estes acontecimentos explicam os resultados obtidos neste experimento, onde foi evidenciado maior hematócrito próximo à bicagem interna.

Tabela 45. Valores médios do hematócrito (%) de embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	19,8	22,4	21,2	21,1 B
63	20,4	25,2	23,8	23,1 A
Média	20,1 b	23,8 a	22,5 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=12,3%.

Os valores do hematócrito dos embriões cujos ovos foram transferidos aos 15 dias foi menor ($p \leq 0,05$) quando comparadas aos embriões de ovos transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Nos embriões de matrizes com 33 semanas o hematócrito foi menor ($p \leq 0,05$) do que aquele encontrado nos embriões das matrizes velhas, independente do momento da transferência. Nesta fase, os embriões transferidos aos 15 dias, independente da idade da matriz, também apresentaram maior pH sanguíneo e maior PaO_2 quando comparados com aqueles transferidos aos 17 e 19 dias, cujos resultados também foram semelhantes entre si. Da mesma forma, embriões de matrizes novas apresentaram menor hematócrito, maior pH sanguíneo e maior PaO_2 quando comparados as matrizes velhas, independente dos momentos de transferência. Uma das causas da elevação do hematócrito é o aumento da demanda

de oxigênio o que neste caso, ocorreu de forma menos acentuada em embriões transferidos aos 15 dias de incubação e naqueles provenientes de matrizes novas.

Tabela 46. Valores médios do hematócrito (%) de pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	17,6	16,5	16,6	16,9 A
63	18,7	16,1	17,0	17,3 A
Média	18,2 a	16,3 b	16,8 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=9,3%.

No momento após a eclosão, o hematócrito dos pintos transferidos aos 15 dias foi maior ($p \leq 0,05$) do que os embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Pintos descendentes de matrizes novas e velhas apresentaram hematócritos semelhantes ($p > 0,05$), independente do momento da transferência. Após o nascimento, os pintos já haviam estabelecido respiração pulmonar, e como os embriões transferidos para o nascedouro aos 15 dias demonstraram menores oscilações no equilíbrio ácido-básico durante o período do experimento, a resposta do hematócrito frente ao maior suprimento de oxigênio para o embrião pode ter ocorrido de forma menos acentuada. Em relação à idade da matriz, a diferença ocorrida na análise aos 20 dias deixou de existir nos pintos recém-eclodidos. Esta semelhança entre os tratamentos estão de acordo com os experimentos realizados por Luquetti et al. (2004) e Morita et al. (2009), que não encontraram diferenças nesta variável ao compararem pintos recém-eclodidos de matrizes com diferentes idades.

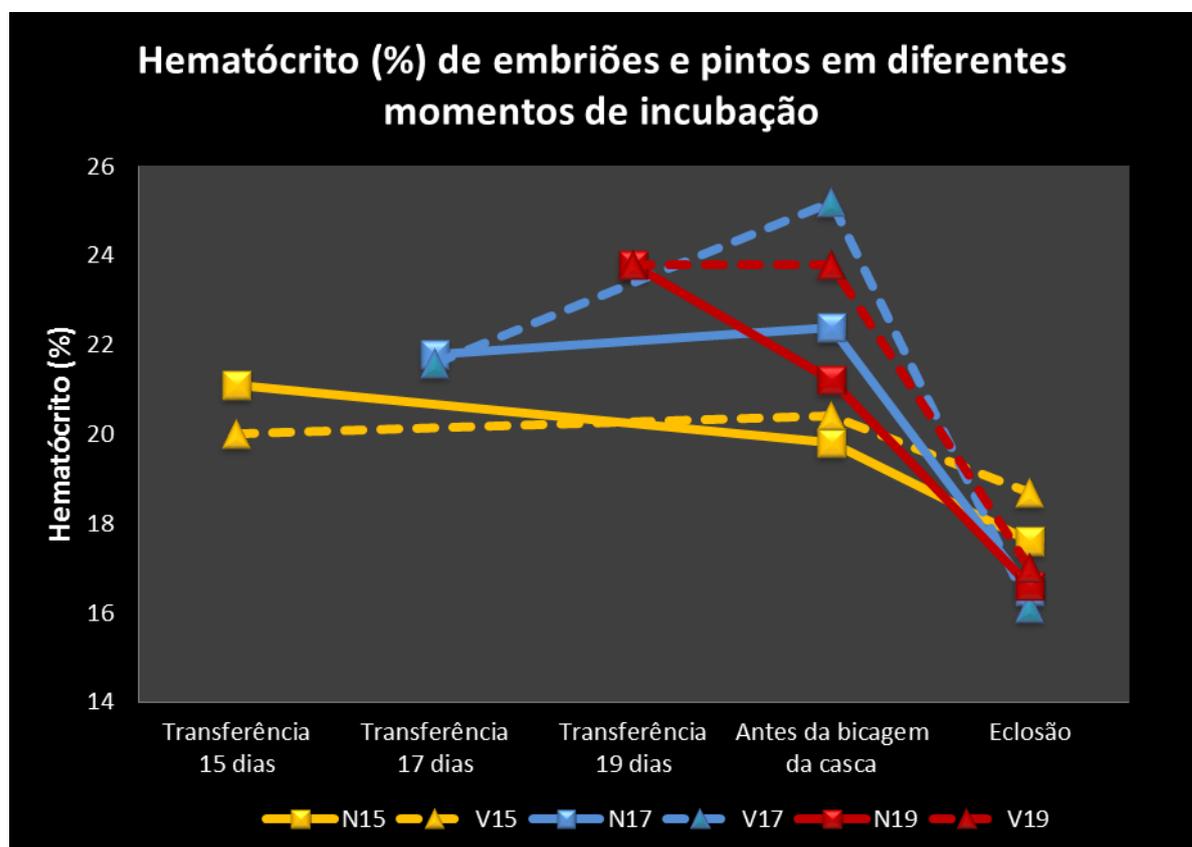


Figura 25. Hematócrito (%) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes

velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

Segundo Rowlett e Kimkiss (1989), o aumento contínuo da demanda metabólica de oxigênio pelo embrião em desenvolvimento é seguido por aumento do fluxo sanguíneo através do sistema respiratório da corioalantóide, elevação do hematócrito e concentração de hemoglobina e mudanças na afinidade do oxigênio pela hemoglobina. Apesar destas adaptações a pO_2 no sangue do embrião cai durante todo o período final de incubação e só é revertida quando a respiração pulmonar é estabilizada. A figura 25 demonstra acontecimentos semelhantes aos descritos por estes autores, sendo que estes acontecimentos pareceram não ser tão evidentes nos embriões transferidos aos 15 dias, pois os valores do hematócrito foram menos variáveis em relação aos outros tratamentos.

Nas tabelas 47 a 49 estão apresentados os valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) de embriões e pintos e estes dados foram ilustrados conjuntamente na figura 26.

Tabela 47. Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	7,16	7,37	8,08	7,54 A
63	6,75	7,34	8,09	7,39 A
Média	6,95 c	7,36 b	8,09 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=9,7%.

Independente da idade da matriz, a concentração de hemoglobina dos embriões aumentou a medida que os momentos de transferência se estenderam ($p \leq 0,05$). Estes dados condizem com o aumento da demanda de oxigenação de acordo com o desenvolvimento embrionário descrito pela literatura. Independente do momento da transferência, os embriões das galinhas das duas idades tiveram concentrações de hemoglobina semelhantes ($p > 0,05$).

Tabela 48. Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)		
	15	17	19
33	6,73 Aa	7,62 Ba	7,23 Ba
63	6,94 Ab	8,58 Aa	8,07 Aa

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=10,4%.

Houve interação entre a idade da matriz e os momentos da transferência para a concentração de hemoglobina dos embriões aos 20 dias de incubação. Embriões originados de ovos de matrizes novas apresentaram menor ($p \leq 0,05$) concentração de hemoglobina do que os de matrizes velhas nas transferências realizadas aos 17 e 19 dias de incubação. Este efeito da idade sobre a concentração de hemoglobina não foi observado na transferência realizada aos 15 dias de incubação. Em matrizes novas, os momentos de transferência não influenciaram a concentração de hemoglobina. Em matrizes velhas, embriões originados de ovos transferidos com 15 dias apresentaram menor ($p \leq 0,05$) concentração de hemoglobina do que os transferidos com 17 e 19 dias.

Tabela 49. Valores médios da concentração de hemoglobina (g/dL) dos pintos recém-eclodidos de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	6,00	5,60	5,63	5,74 A
63	6,36	5,60	5,77	5,91 A
Média	6,18 a	5,60 b	5,70 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=6,7%.

Após a eclosão, a concentração de hemoglobina foi maior ($p \leq 0,05$) nos embriões transferidos aos 15 dias do que os embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Embriões de matrizes novas e velhas apresentaram concentração de hemoglobina semelhante ($p > 0,05$), independente do momento da transferência. Estes resultados seguem o mesmo raciocínio desenvolvido no hematócrito obtido nos pintos, em vista da associação entre estes parâmetros. O estabelecimento da respiração pulmonar pode ter determinado resposta da hemoglobina frente ao maior suprimento de oxigênio para o embrião de forma menos acentuada nos pintos transferidos para o nascedouro aos 15 dias, cujos embriões demonstraram menores oscilações no equilíbrio ácido-básico durante o período do experimento. Em relação à idade da matriz, as diferenças ocorridas na análise antes da bicagem externa deixaram de existir nos pintos recém-eclodidos. Esta semelhança entre os tratamentos estão de acordo com os experimentos realizados por Luquetti et al. (2004) e Morita et al. (2009), que não encontraram diferenças na concentração de hemoglobina ao pesquisar pintos recém-eclodidos de matrizes com diferentes idades.

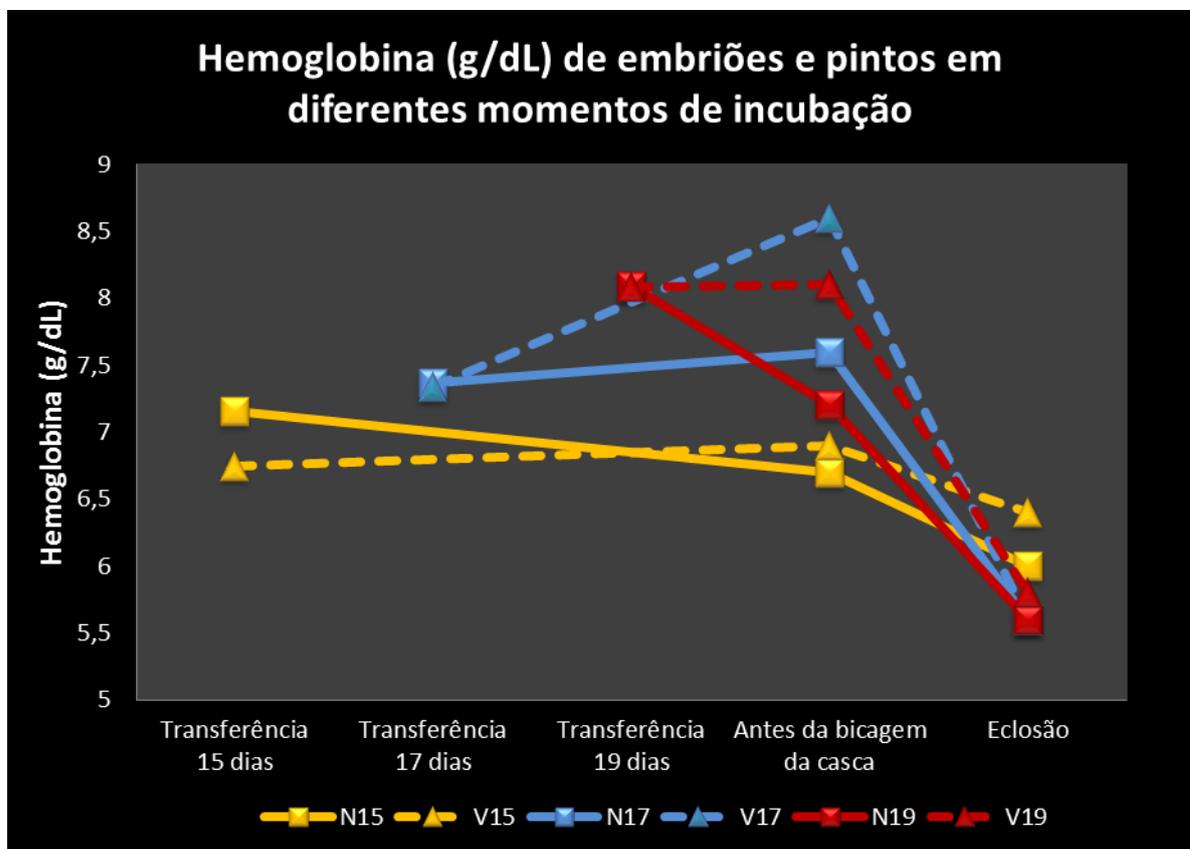


Figura 26. Hemoglobina (g/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes

velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 26 apresenta as mesmas tendências discutidas na figura 24, relativas às respostas do hematócrito visto que estas duas variáveis estão correlacionadas.

Nas tabelas 50 a 52 estão demonstrados os resultados das concentrações sanguíneas de Cálcio ionizado (mmol/L) em embriões e pintos e os dados foram ilustrados conjuntamente na figura 27.

Tabela 50. Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,67	1,68	1,65	1,67
63	1,69	1,64	1,64	1,66
Média	1,68	1,66	1,64	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=3,5%.

As idades embrionárias de 15, 17 ou 19 dias, independente da idade da matriz; e estas idades, independente dos momentos em que ocorreram as transferências (embriões com 15, 17 e 19 dias) não influenciaram ($p>0,05$) as concentrações sanguíneas de cálcio ionizado nos embriões. A dissolução dos botões mamilares adjacentes à corioalantóide representa a fonte dominante de cálcio no sangue do embrião (Tuan e Ono, 1986; Dieckert et al., 1989; Tazawa e Whittow, 2000). Segundo a pesquisa de Abdel-Salam et al. (2006), a camada mamilar perdeu cerca de 50% de sua espessura original, estando relacionada diretamente à captação de cálcio pelo embrião durante seu desenvolvimento. Os resultados encontrados na tabela 50 podem estar associados à captação de cálcio da casca pelo embrião, visto que nesta análise ainda não havia ocorrido a bicagem interna e rompimento da corioalantóide.

Tabela 51. Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,54	1,47	1,45	1,48 A
63	1,55	1,51	1,44	1,50 A
Média	1,54 a	1,49 b	1,45 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$). CV=4,6%.

No momento anterior à bicagem externa da casca (20 dias), esta variável nos embriões transferidos aos 15 dias foi maior ($p\leq 0,05$) quando comparada aos embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Como durante o desenvolvimento embrionário ocorreram menores oscilações no status fisiológico dos embriões transferidos aos 15 dias é possível que nestes tratamentos o acúmulo de grânulos calcificados ocorridos nos limites do saco vitelino tenham sido mais eficientes, permitindo que estes embriões estejam mais preparados para manter a mineralização e o desenvolvimento esquelético no período de rompimento da corioalantóide e transição da fonte de cálcio da casca para a gema descritos por Tazawa e Whittow (2000). Embriões de matrizes novas e velhas apresentaram iCa semelhante ($p>0,05$), independente do momento da transferência.

Tabela 52. Valores médios das concentrações sanguíneas de iCa (mmol/L) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,25	1,37	1,34	1,32 A
63	1,31	1,35	1,33	1,33 A
Média	1,28 b	1,36 a	1,33 ab	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=5,3%.

Independente da idade da matriz, os níveis sanguíneos de iCa nos pintos cujos ovos foram transferidos aos 15 dias foi menor ($p \leq 0,05$) do que as concentrações séricas de iCa nos pintos de ovos transferidos aos 17 dias. Esta variável nos pintos dos ovos transferidos aos 19 dias foi semelhantes ($p > 0,05$) aos outros dois tratamentos. Neste momento, os pintos estão utilizando as reservas de cálcio da gema e podem estar ocorrendo variações relacionadas à habilidade de transferência ou absorção deste mineral, sendo esta uma condição favorecida nos pintos cujos ovos foram transferidos aos 15 dias em relação aos pintos cujos ovos foram transferidos aos 17 dias, e havendo resposta intermediária para os pintos dos tratamentos transferidos aos 19 dias de incubação. Independente do momento da transferência, embriões de matrizes com 33 e 63 semanas demonstraram valores semelhantes ($p > 0,05$).

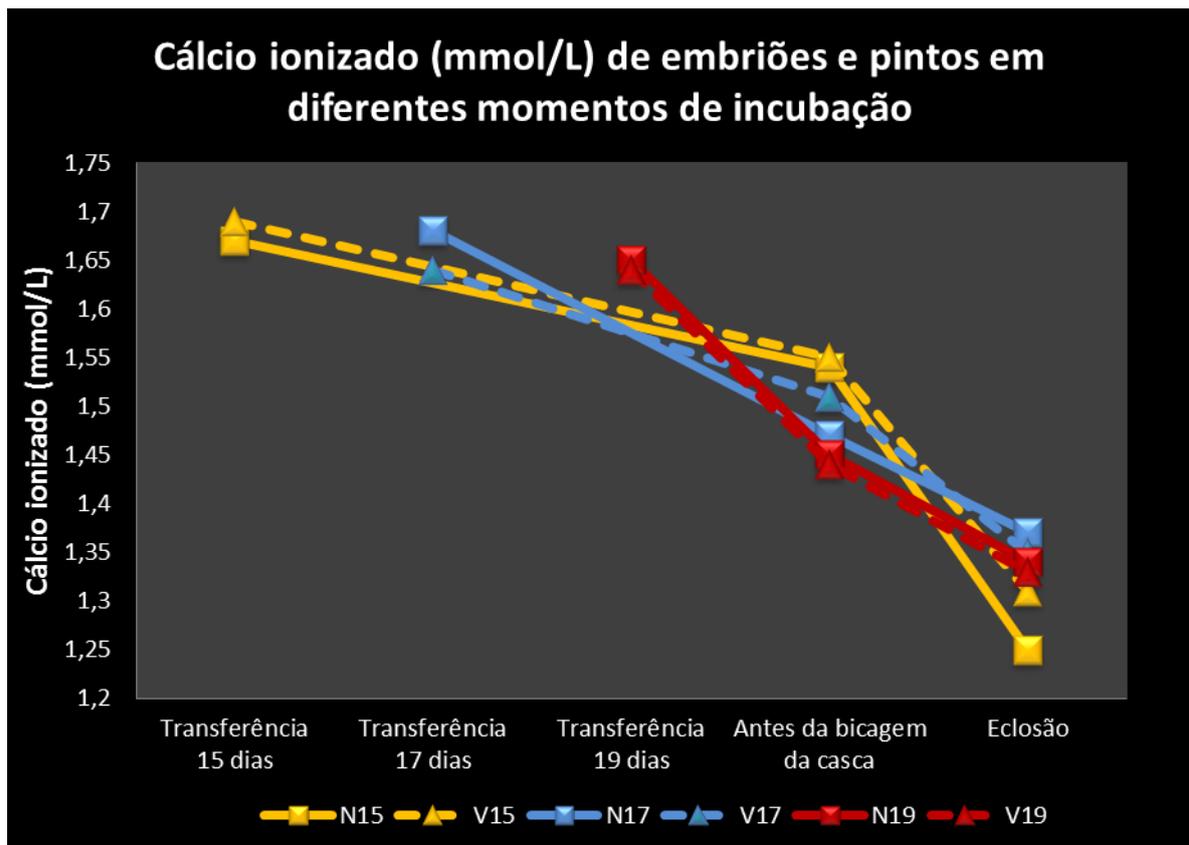


Figura 27. Cálcio ionizado (mmol/L) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 27 representa uma queda dos níveis sanguíneos de cálcio ionizado nos momentos anteriores à bicagem da casca e após a eclusão, sendo que estes momentos coincidem com

a diminuição da funcionalidade da membrana corioalantóide e a absorção das reservas de cálcio da gema, respectivamente.

Os dados da Glicemia (mg/dL) de embriões e pintos estão apresentados nas tabelas 53 a 55 e foram ilustrados conjuntamente na figura 28.

Tabela 53. Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos embriões de matrizes novas e velhas, no momento da transferência para o nascedouro (antes da bicagem interna)

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	156	178	209	181 A
63	157	169	206	177 A
Média	156 c	173 b	207 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,05$). CV=17,6%.

A glicemia dos embriões aumentou ($p \leq 0,05$), independente da idade da matriz, à medida que ocorreram os momentos de transferência, sendo que estes momentos eram correspondentes às idades embrionárias. Embriões de matrizes novas e velhas tiveram concentrações sanguíneas de glicose semelhantes ($p > 0,05$) independente do momento da transferência. Estes resultados são coerentes com as afirmações descritas na literatura de que a demanda de utilização de energia aumenta com o desenvolvimento embrionário (Freeman, 1969; Cirotto e Arangi; 1989; Noble e Cocchi, 1990; Speak et al., 1998a e Moran Jr., 2007).

Tabela 54. Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	188	192	196	192 A
63	184	189	197	190 A
Média	186 b	191 ab	197 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=4,4%.

Independente da idade da matriz, quando a incubação estava no 20º dia, os níveis sanguíneos de glicose nos embriões transferidos aos 15 dias foi menor ($p \leq 0,05$) do que a glicemia dos embriões transferidos aos 19 dias. Esta variável nos embriões transferidos aos 17 dias foi semelhante ($p > 0,05$) aos outros dois tratamentos. Um dos fatores que causa aumento da glicemia é o estresse fisiológico. Neste momento, relativo à transição da respiração corioalantóide para a pulmonar, embriões que permaneceram mais tempo no nascedouro, podem ter sofrido menor estresse fisiológico devido ao ambiente com maior suprimento de oxigênio, maior renovação de ar e menor temperatura. Ao mesmo tempo, embriões cujos ovos são transferidos aos 19 dias podem ter sido mais afetados nesse sentido, sendo que os embriões transferidos aos 17 dias tiveram resposta intermediária entre os outros momentos de transferência. Independente do momento da transferência, embriões de matrizes novas e velhas apresentaram níveis glicêmicos semelhantes ($p > 0,05$).

Tabela 55. Valores médios das concentrações sanguíneas de glicose (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	228	225	223	225
63	225	222	219	222
Média	227	224	221	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=3,5%.

A idade da matriz e os momentos de transferência dos ovos não influenciaram ($p>0,05$) a glicemia dos pintos após a eclosão.

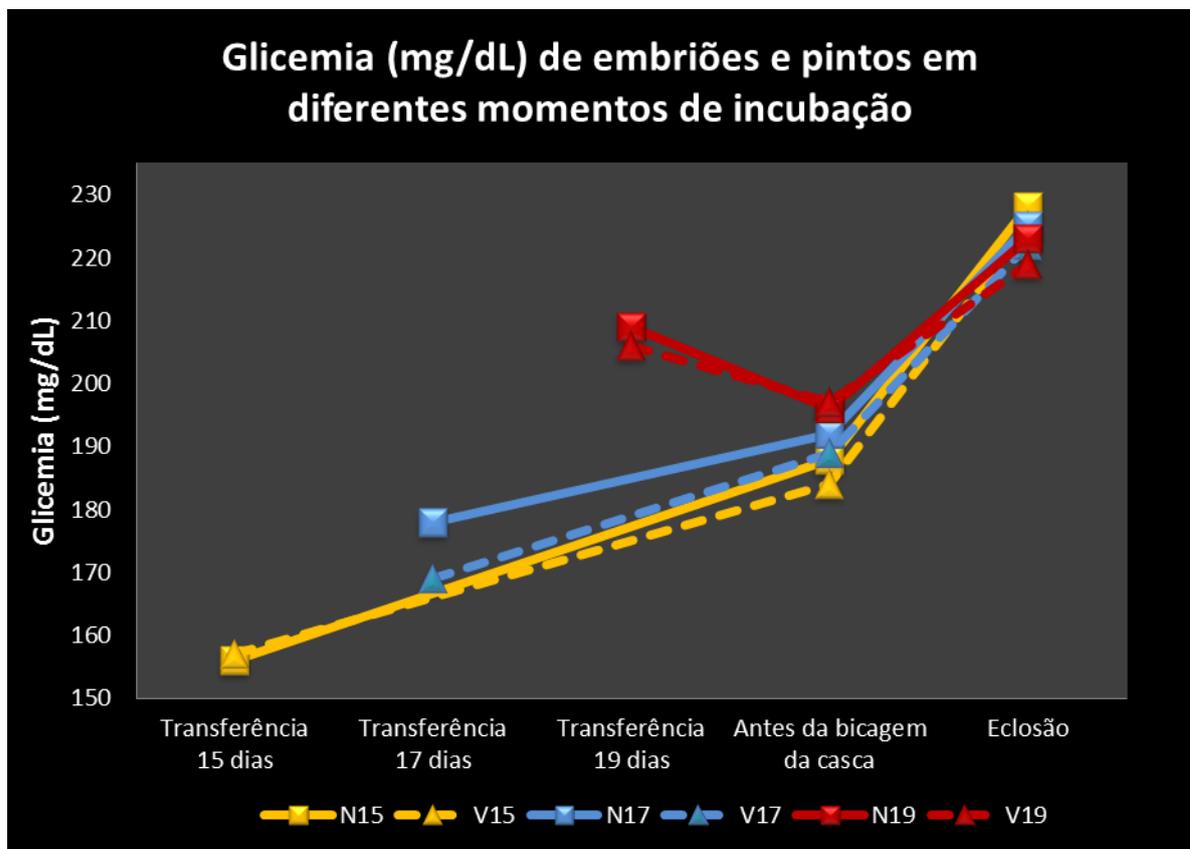


Figura 28. Glicemia (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 28 ilustra os níveis glicêmicos elevados principalmente entre o momento anterior à bicagem e após a eclosão.

As avaliações relativas aos teores de Lactato plasmático (mg/dL) em embriões e pintos encontram-se nas tabelas 56 a 58 e foram ilustradas conjuntamente na figura 29.

Tabela 56. Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos embriões aos 19 dias de incubação e antes da bicagem interna, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	14,83	16,75	19,92	17,17 A
63	16,48	13,93	18,50	16,31 A
Média	15,66 b	15,34 b	19,21 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,01$). CV=17,8%.

No 19º dia de incubação, (quando os embriões de todos os tratamentos ainda não haviam realizado a bicagem interna), independente da idade da matriz, o lactato plasmático de embriões dos quais os ovos tiveram transferência ocorrida aos 15 e 17 dias, apresentaram valores semelhantes ($p > 0,05$); porém esta variável apresentou valor maior ($p \leq 0,05$) nos embriões cujos ovos foram transferidos aos 19 dias. Como estes embriões permaneceram menor tempo no nascedouro quando comparado aos outros tratamentos, existe a hipótese que os embriões possam ter iniciado os mecanismos anaeróbicos mais rapidamente. Independente do momento da transferência dos ovos, a idade da matriz não influenciou ($p > 0,05$) esta resposta.

Tabela 57. Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	28,41	23,37	25,78	25,85 A
63	29,45	25,20	22,65	25,77 A
Média	28,93 a	24,28 b	24,22 b	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p \leq 0,01$). CV=15,8%.

No 20º dia de incubação, o lactato plasmático foi maior ($p \leq 0,05$) nos embriões transferidos aos 15 dias do que os embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Neste caso, devido a PaO_2 significativamente maior nesta fase e neste tratamento quando comparada às transferências com 17 e 19 dias, a formação de lactato pela via anaeróbia é discutível, sendo então levantada a hipótese de que devido a uma condição mais equilibrada fisiologicamente, os embriões destes tratamentos possam estar realizando metabolismo de lactato por mecanismos aeróbios para armazenamento hepático. Embriões de matrizes novas e velhas apresentaram concentração de lactato semelhante ($p > 0,05$), independente do momento da transferência.

Tabela 58. Valores médios de lactato plasmático (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	12,47	13,87	12,40	12,91
63	14,17	12,52	11,33	12,67
Média	13,32	13,19	11,86	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p > 0,05$). CV=18,3%.

O lactato plasmático dos pintos recém-eclodidos não sofreram influência ($p > 0,05$) da idade da matriz e do momento de transferência. Estes resultados demonstram que após a eclosão houve uma semelhança das vias de obtenção de energia que podem estar relacionadas ao equilíbrio da respiração pulmonar.

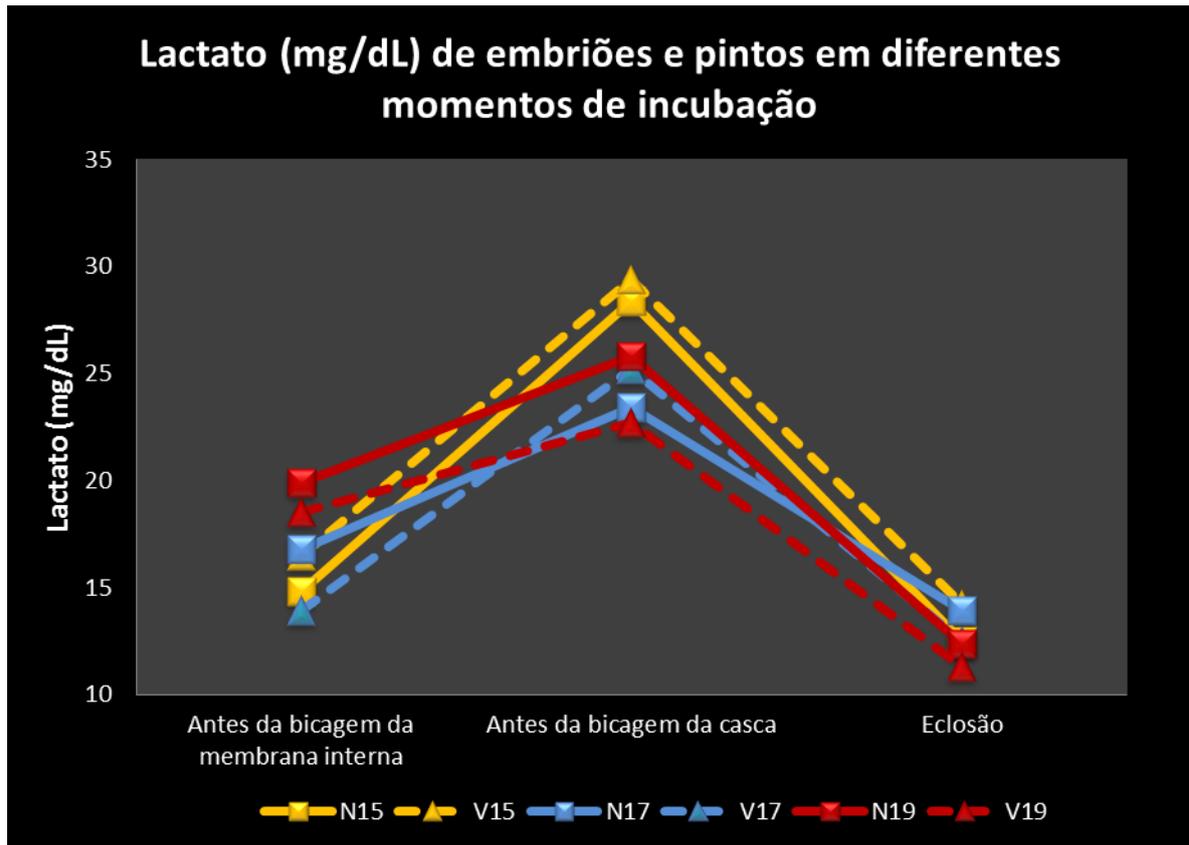


Figura 29. Lactato (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 29 demonstra um aumento dos níveis de lactato no período perinatal e uma diminuição após a bicagem da casca do ovo. Estes resultados estão de acordo com Freeman (1969), Holby et al. (1987) e Menna e Mortola (2002). Estes autores afirmaram que depois do uso de lipídios, que é a fonte primária de energia do embrião, a estratégia metabólica muda no momento da bicagem interna. A partir deste momento a demanda de oxigênio do embrião excede o suprimento disponível pela difusão através da corioalantóide e então começa o metabolismo de carboidratos através de mecanismos anaeróbicos até o momento da bicagem externa. Este aumento transitório de lactato desaparece quando a função pulmonar provê concentração de oxigênio adequada para o catabolismo de ácidos graxos continuarem como fonte de energia.

Os resultados referentes aos níveis plasmáticos de Triglicérides (mg/dL) em embriões e pintos encontram-se nas tabelas 59 a 61 e foram ilustrados conjuntamente na figura 30.

Tabela 59. Valores médios de triglicérides (mg/dL) dos embriões aos 19 dias de incubação e antes bicagem interna, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	128,8	127,0	131,6	129,2 B
63	150,0	147,8	149,9	149,2 A
Média	139,4 a	137,4 a	140,7 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,01$). CV=12,5%.

Aos 19 dias de incubação, os resultados de triglicerídeos não foram influenciados ($p>0,05$) pelos momentos das transferências, independente das idades das matrizes. Os valores desta resposta nos embriões de galinhas novas foram menores ($p\leq 0,05$) quando comparados aos embriões das galinhas mais velhas, independente do momento da transferência. Noble e Cochi (1990), Speak et al. (1998a) e Sato et al. (2006) informaram que os triglicerídeos são os principais componentes empregados na produção de energia, correspondendo a 67% dos lipídios da gema. Como embriões de matrizes novas são menores e tiveram menores pesos absolutos de saco vitelino, proporcionalmente os triglicerídeos também poderiam diferir. Uma outra hipótese, visto que pintos descendentes de matrizes novas tiveram maior absorção de saco vitelino do que aqueles originados de matrizes mais velhas, e pelos dados da tabela 59 apresentaram menores concentrações plasmáticas de triglicerídeos, é que este dado ocorreu devido a uma ineficiência na transferência de lipídios ou utilização destes nutrientes por esses embriões, concordando com Burnham et al. (2001).

Tabela 60. Valores médios de triglicerídeos (mg/dL) dos embriões aos 20 dias de incubação e antes da bicagem externa da casca, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	121,6	142,7	141,8	135,4 B
63	152,7	173,2	177,5	167,8 A
Média	137,2 b	158,0 a	160,0 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste SNK ($p\leq 0,01$). CV=14,7%.

Aos 20 dias de incubação, a concentração plasmática de triglicerídeos dos embriões transferidos aos 15 dias teve menor valor ($p\leq 0,05$) do que os embriões transferidos aos 17 e 19 dias, sendo estes tratamentos semelhantes entre si, independente da idade da matriz. Pode-se observar na tabela 57, que os embriões cujos ovos foram transferidos aos 15 dias tiveram níveis mais elevados de lactato que os embriões que foram transferidos aos 17 ou 19 dias. Embriões de matrizes com 33 semanas apresentaram menores concentrações plasmáticas de triglicerídeos ($p\leq 0,05$) quando comparadas as matrizes com 63 semanas de idade, independente do momento da transferência, mantendo as diferenças obtidas nas análises realizadas aos 19 dias de incubação.

Tabela 61. Valores médios de triglicerídeos (mg/dL) dos pintos recém-eclodidos, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	105,3	108,7	116,6	110,2
63	117,7	107,4	102,4	109,2
Média	111,5	108,5	109,5	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste SNK ($p>0,05$). CV=17,2%.

A idade da matriz e os momentos de transferência dos ovos não influenciaram ($p>0,05$) esta resposta nos pintos após a eclosão.

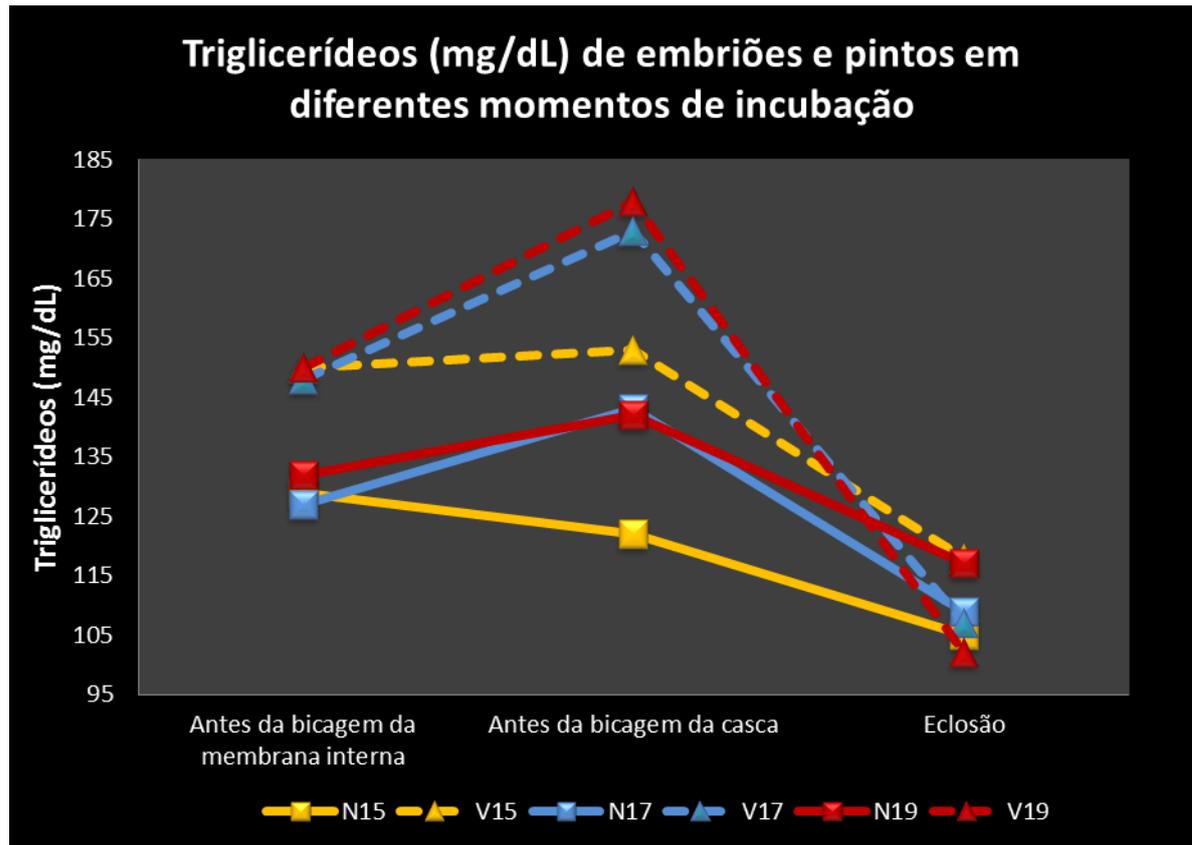


Figura 30. Triglicerídeos (mg/dL) de embriões e pintos em diferentes momentos de incubação. Tratamentos: N15= ovos de matrizes novas transferidos aos 15 dias de incubação; N17= ovos de matrizes novas transferidos aos 17 dias de incubação; N19= ovos de matrizes novas transferidos aos 19 dias de incubação; V15= ovos de matrizes velhas transferidos aos 15 dias de incubação; V17= ovos de matrizes velhas transferidos aos 17 dias de incubação; V19= ovos de matrizes velhas transferidos aos 19 dias de incubação.

A figura 30 mostra que no período compreendido entre a bicagem interna e a bicagem externa ocorreu maior concentração plasmática de triglicerídeos em embriões de matrizes mais velhas, assim como no período antes da bicagem externa, ocorreu menor concentração plasmática nos embriões transferidos aos 15 dias, sendo que estas diferenças deixaram de existir após a eclosão.

4.2. EXPERIMENTO II

Os dados referentes ao peso dos pintos e frangos estão demonstrados nas tabelas 62 a 65.

Tabela 62. Peso dos pintos, em gramas, no momento do alojamento, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	40,8	39,6	39,6	40,0 B
63	44,4	44,7	44,9	44,7 A
Média	42,6 a	42,1 a	42,2 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,83%.

Tabela 63. Peso dos pintos, em gramas, aos sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	182,3	182,3	179,4	181,4 B
63	203,0	204,0	203,7	203,6 A
Média	192,7 a	193,2 a	191,6 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,87%.

Tabela 64. Peso dos pintos, em gramas, aos 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	954,2	970,7	965,5	963,5 B
63	1016,2	1021,4	1016,0	1017,9 A
Média	985,2 a	996,1 a	990,7 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,81%.

Tabela 65. Peso dos frangos, em gramas, aos 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	3013,8	3072,7	3056,4	3047,6 B
63	3136,6	3147,2	3110,6	3131,4 A
Média	3075,2 a	3109,9 a	3083,5 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,73%.

Os dados de peso do pinto ao alojamento e peso das aves aos sete, 21 e 42 dias de idade apresentaram os mesmos resultados estatísticos. Estas análises não foram influenciadas pelo momento da transferência na incubação ($p > 0,05$). As aves descendentes de matrizes com 63 semanas de idade apresentaram maiores pesos ($p \leq 0,05$) quando comparadas as aves descendentes de matrizes com 33 semanas, independente do momento da transferência no incubatório. Foi observado que os ovos das matrizes velhas tiveram médias de peso dos ovos maiores, e conseqüentemente maiores pesos médios dos pintos. Ao longo do período de criação esta diferença se manteve.

Nas tabelas 66 a 68 estão apresentados os resultados de ganho de peso das aves.

Tabela 66. Ganho de peso dos pintos, em gramas, de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	141,5	142,8	139,8	141,4 B
63	158,6	159,3	158,8	158,9 A
Média	150,1 a	151,0 a	149,3 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=2,15%.

Tabela 67. Ganho de peso dos pintos, em gramas, de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	913,4	931,2	925,8	923,5 B
63	971,8	976,7	971,1	973,2 A
Média	942,6 a	953,9 a	948,5 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,87%.

Tabela 68. Ganho de peso dos frangos, em gramas, de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	2972,9	3033,1	3016,8	3007,6 B
63	3092,2	3102,5	3065,7	3086,8 A
Média	3032,6 a	3067,8 a	3041,2 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=1,75%.

Os resultados de ganho de peso acumulado das aves aos sete, 21 e 42 dias de idade também apresentaram os mesmos resultados estatísticos, seguindo a tendência da variável peso das aves. O ganho de peso dos pintos e frangos não foram influenciados pelo momento da transferência na incubação ($p > 0,05$). As aves descendentes de matrizes com 63 semanas de idade apresentaram maiores pesos ($p \leq 0,05$) quando comparadas as aves descendentes de matrizes com 33 semanas, independente do momento da transferência no incubatório. Pintos e frangos descendentes das matrizes novas tiveram médias de peso corporais menores ao longo de todo o período de criação, e da mesma forma, tiveram menor ganho de peso acumulado em todo o período.

Os resultados relativos ao consumo de ração dos pintos e frangos encontram-se nas tabelas 69 a 71.

Tabela 69. Consumo de ração, em gramas, dos pintos de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	201,2	182,2	191,3	191,6 B
63	207,3	201,6	204,2	204,4 A
Média	204,3 a	191,9 b	197,8 ab	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=5,92%.

O consumo de ração na primeira semana (tabela 69) demonstrou que independente da idade da matriz, pintos cujos ovos foram transferidos aos 15 dias de incubação para o nascedouro, tiveram maior consumo de ração ($p \leq 0,05$) do que os pintos provenientes dos tratamentos transferidos aos 17 dias; sendo que os pintos dos tratamentos transferidos aos 19 dias tiveram consumo intermediário em relação aos outros períodos de transferência. Este resultado não se manteve durante o decorrer da criação, e ao final dos 21 e 42 dias de vida das aves, os momentos de transferência não mais influenciaram esta variável ($p > 0,05$), conforme tabelas 70 e 71 a seguir.

Em relação à influência da idade da matriz, o consumo de ração na primeira semana foi maior ($p \leq 0,05$) nos pintos de galinhas com 63 semanas, quando comparado aos pintos provenientes das galinhas com 33 semanas, independente do momento da transferência no incubatório. Este resultado condiz com os dados das análises anteriores, que demonstraram que matrizes mais velhas originaram pintos mais pesados, com maior ganho de peso ao longo da criação e conseqüentemente que consumiram mais ração, independente dos tratamentos de transferência ocorridos no incubatório. Este resultado se manteve nos períodos posteriores (21 e 42 dias de criação), conforme demonstrado nas tabelas 70 e 71 a seguir.

Tabela 70. Consumo de ração, em gramas, dos pintos de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1423,1	1401,3	1414,4	1412,9 B
63	1486,5	1479,5	1469,1	1478,4 A
Média	1454,8 a	1440,4 a	1441,8 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=4,44%.

Tabela 71. Consumo de ração, em gramas, dos frangos de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	4840,0	4867,7	4874,8	4860,8 B
63	5092,2	4987,9	4950,8	4989,3 A
Média	4934,6 a	4927,8 a	4912,8 a	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=3,10%.

Nas tabelas 72 a 74 estão demonstrados os dados relativos a conversão alimentar.

Tabela 72. Conversão alimentar (kg/kg) dos pintos de um a sete dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,42	1,28	1,37	1,35 A
63	1,31	1,26	1,31	1,29 A
Média	1,37 b	1,27 a	1,34 ab	

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna são diferentes pelo teste F ($p \leq 0,05$). CV=6,56%.

A conversão alimentar na primeira semana demonstrou que independente da idade da matriz, pintos cujos ovos foram transferidos aos 15 dias de incubação para o nascedouro, tiveram pior conversão alimentar ($p \leq 0,05$) do que os pintos provenientes dos tratamentos transferidos aos 17 dias; sendo que os pintos dos tratamentos transferidos aos 19 dias tiveram conversão alimentar intermediária em relação aos outros períodos de transferência. Este resultado ocorreu devido às diferenças no consumo observadas na tabela 72. Entretanto, as diferenças nesta variável encontradas na primeira semana não se mantiveram durante o decorrer da criação, e ao final dos 21 e 42 dias de

vida das aves, os momentos de transferência não mais influenciaram a conversão alimentar ($p>0,05$), conforme as próximas tabelas (73 e 74).

Comparando as idades de matrizes, a conversão alimentar na primeira semana foi semelhante ($p>0,05$) entre os pintos descendentes de reprodutoras novas e velhas. Este resultado também justifica-se pelos dados obtidos nas análises anteriores, que demonstraram que matrizes mais velhas originaram pintos mais pesados, que tiveram maior ganho de peso ao longo da criação e consequentemente maior consumo de ração, independente dos tratamentos de transferência ocorridos no incubatório. O contrário ocorreu em pintos e frangos descendentes de matrizes novas. Por isso, a relação consumo de ração/ganho de peso foi semelhante entre as aves provenientes tanto de matrizes novas, como de matrizes velhas. Este resultado se manteve nos períodos posteriores (21 e 42 dias de criação), conforme demonstrado nas tabelas 76 e 77 a seguir.

Tabela 73. Conversão alimentar (kg/kg) dos pintos de um a 21 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,56	1,50	1,53	1,53
63	1,53	1,51	1,51	1,52
Média	1,54	1,51	1,52	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=4,85%.

Tabela 74. Conversão alimentar (kg/kg) dos frangos de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	1,63	1,61	1,62	1,62
63	1,63	1,61	1,62	1,62
Média	1,63	1,61	1,62	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=3,23%.

A viabilidade dos frangos no período de um a 42 dias está apresentada na tabela 75.

Tabela 75. Percentagem de viabilidade dos frangos, de um a 42 dias de idade, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Média
	15	17	19	
33	99,3	97,3	98,0	97,8
63	98,0	98,0	99,3	98,4
Média	98,7	97,7	98,0	

Médias na linha e na coluna são semelhantes pelo teste F ($p>0,05$). CV=2,87%.

Não foram encontradas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos em relação à viabilidade de um a 42 dias de idade, demonstrando que a idade da matriz e os momentos de transferência dos ovos no incubatório não exerceram influência sobre a mortalidade e consequentemente viabilidade das aves ao longo de todo o período de criação.

5. CONCLUSÕES

Independente da idade das matrizes, a transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro aos 15, 17 ou 19 dias de incubação não interfere na mortalidade embrionária, eclodibilidade e peso dos pintos ao nascimento, assim como não há influencia no desempenho da progênie.

É possível adaptar o manejo de transferência à necessidade logística do incubatório ou reduzir o período dos ovos na máquina de incubação para aumentar o fluxo de produção, sem prejuízo ao rendimento de incubação e desempenho das aves na criação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SALAM, Z. A.; ABDOLU, A. M.; HARITH, M. A. Elemental and ultrastructural analysis of the eggshell: Ca, Mg and Na distribution during embryonic development via LIBS and SEM techniques. *International Journal of Poultry Science*, v.5, n.1, p.35-42, 2006.
- ACKERMAN, R. A.; RAHN, H. *In vivo* O₂ and water vapor permeability of the hen's eggshell during early development. *Respiration Physiology*, v.45, p.1-8, 1981.
- AR, A. Egg water movements during incubation. In: TULLETT, S. G. *Avian Incubation*. 1991. Cap. 10, p.157-173.
- AR, A.; PAGANELLI, C. V.; REEVES, R. B. et al. The avian egg: water vapor conductance, shell thickness, and functional pore area. *The Condor*, v.76, p.153-158, 1974.
- AUBERT, A. E.; BECKERS, F.; RAMAEKERS, D. et al. Heart rate and heart variability in chicken embryos at the end of incubation. *Experimental Physiology*, v.89, n.2, p.199-208, 2004.
- BAGGOTT, G. K. Development of extra-embryonic membranes and fluid compartments. In: DEEMING, D. C. *Perspectives in fertilization and embryonic development in poultry*. Lincolnshire: Ratite Conference Books, 2001. p.23-29.
- BAGGOTT, G. K.; DEEMING, D. C.; LATTE, G. V. Electrolyte and water balance of the early avian embryo: Effects of egg turning. *Avian and Poultry Biology Reviews*, v.13, n.2, p.105-119, 2002.
- BAIÃO, N. C.; LÚCIO, C. G. Nutrição de Matrizes Pesadas. In: *Manejo de Matrizes de Corte*. Campinas: FACTA, 2005. Cap.10, p.197-216.
- BAIN, M. M. Eggshell strength: a relationship between the mechanism of failure and the ultrastructural organization of the mammillary layer. *British Poultry Science*, v.33, p.303-319, 1992.
- BAMELIS, F. R.; DE KETELAERE, B.; MERTENS, K. et al. Measuring the conductance of eggshells using the acoustic resonance technique and optical transmission spectra. *Computers and Electronics in Agriculture*, v.62, p.35-40, 2008.
- BARBOSA, V. M. Efeitos da umidade relativa do ar na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação e desempenho da progênie. 2005. 51p. Dissertação (mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- BARBOSA, V. M.; CANÇADO, S. V.; BAIÃO, N. C. et al. Efeitos da umidade relativa do ar na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.3, p.741-748, 2008.
- BARBOSA, V. M.; CANÇADO, S. V.; LARA, L. J. C. et al. Influência da umidade na incubação e idade da matriz leve sobre a eclosão e parâmetros de ovos e pintos. In: *Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícolas*. Campinas: FACTA, p.12, 2005a.
- BARBOSA, V. M.; LARA, L. J. C.; CANÇADO, S. V. et al. Efeito da umidade na incubação e idade da matriz leve sobre o desempenho da progênie. In: *Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícolas*. Campinas: FACTA, p.14, 2005b.
- BAXTER-JONES, C. Egg hygiene: Microbial contamination, significance and control. In: *Avian Incubation*. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 269-276.
- BELLAIRS, R.; OSMOND, M. *The Atlas of Chick Development*. 2 ed. San Diego: Editora Elsevier Academic Press, 2005. 470p.
- BOARD, R. G. The avian eggshell – a resistance network. *Journal of Applied Bacteriology*, v.48, p.303-313, 1980.
- BOARD, R. G.; HALLS, N. A. The cuticle: a barrier to liquid and particle penetration of the shell of the hen's egg. *British Poultry Science*, v.14, p.69-97, 1973.
- BRAKE, J. T. Optimización del almacenaje de huevos fértiles. *Avicultura Profesional*, v.14, p.26-31, 1996.
- BRIAN, H. Incubation, the physical requirements. *International Hatchery Practice*, v.14, p.25, 2000.
- BRITTON, W. M. Shell membranes of eggs differing in shell quality from young and old hens. *Poultry Science*, v. 56, p.647-653, 1977.
- BRUGGEMAN, V.; WITTERS, A.; DE SMIT, L. et al. Acid-base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO₂ concentrations during the first 10 days of incubation. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, v.159, p.147-154, 2007.

- BRUZUAL, J. J.; PEAK, S. D.; BRAKE, J. et al. Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeder flocks. *Poultry Science*, v.79, p.827-830, 2000a.
- BRUZUAL, J. J.; PEAK, S. D.; BRAKE, J. et al. Effects of relative humidity during the last five days of incubation and brooding temperature on performance of broiler chicks from young broiler breeders. *Poultry Science*, v.79, p.1385-1391, 2000b.
- BUHR, R. J. Incubation relative humidity effects on allantoic fluid volume and hatchability. *Poultry Science*, v.74, p.874-884, 1995.
- BUNK, M. J.; BALLOUN, S. L. Ultrastructure of mammillary region of low puncture strength avian eggshells. *Poultry Science*, v.57, p.639-647, 1978.
- BURNHAM, M. R.; PEEBLES, E. D.; GARDNER, C. W. et al. Effects of incubation humidity and hen age on yolk composition in broiler hatching eggs from young breeders. *Poultry Science*, v.80, p.1444-1450, 2001.
- BURTON, F. G.; TULLETT, S. G. A comparison of the effect of eggshell porosity on the respiration and growth of domestic fowl, duck and turkey embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.75A, p.167-174, 1983.
- BURTON, F. G.; TULLETT, S. G. The effects of egg weight and shell porosity on the growth and water balance of the chicken embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.81A, p.377-385, 1985.
- CARLSON, G. P. Fluid electrolyte and acid-base balance. In: KANECO, J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5 ed. London: Academic Press, 1997. p. 485-515.
- CHIEN, Y. C.; HINCKE, M. T.; McKEE, M. D. Avian eggshell structure and osteopontin. *Cells Tissues Organs*, v.189, p.38-43, 2009.
- CHRISTENSEN, V. L. Factors affecting hatchability of turkey embryos. *Poultry and Avian Biology Reviews*, v.6, n.1, p.71-82, 1995.
- CHRISTENSEN, V. L. Embryonic turkey respiration important to hatch and quality. *Poultry Digest*, v.55, p.21-23, 1997.
- CIROTTI, C.; ARANGI, I. How do avian embryos breath? Oxygen transport in the blood of early chick embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.94A, p.607-613, 1989.
- COLLINS, J. Logrando una buena ventilacion. *Avic. Prof.*, v.20, n.1, 2002.
- COSTA, A. C. *Manual de Embriologia*. 1 ed. Lisboa: Luso Espanhola, 1950. 318p.
- CROSSLEY II, D. A.; BURGGREN, W. W.; ALTIMIRAS, J. Cardiovascular regulation during hypoxia in embryos of the domestic chicken *Gallus gallus*. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, v.284, p.R219-R226, 2003.
- CUNNINGHAM, J. C. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1999. 528p.
- DAWES, C.; SIMKISS, K. The acid-base status of the blood of the developing chick embryo. *The Journal of Experimental Biology*, v.50, p.79-86, 1969.
- DE SMIT, L.; BRUGGEMAN, V.; TONA, J. K. et al. Embryonic developmental plasticity of the chick: Increased CO₂ during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.145, p.166-175, 2005.
- DECUYPERE, E. El pollito de un día, una bisagra crucial entre los reproductores y el broiler. *World's Poultry Science Journal*, v.57, n.1, p.127-138, 2001.
- DECUYPERE, E.; DEWIL, E.; KÜHN, E. R. The hatching process and the role of hormones. In: *Avian Incubation*. 1991. Cap. 15, p.239-256.
- DECUYPERE, E.; MALHEIROS, R. D.; MORAES, V. M. B. et al. Fisiologia do embrião. In: *Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícolas*. Campinas: FACTA, p.65-94, 2003.
- DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. *World's Poultry Science Journal*, v.48, n.1, p.28-38, 1992.
- DEEMING, D. C. Characteristics of unturned eggs: Critical period, retarded embryonic growth and poor albumen utilization. *British Poultry Science*, v.30, n.2, p.239-249, 1989.
- DEEMING, D. C. Factors affecting hatchability during commercial incubation of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. *British Poultry Science*, v.36, p.51-65, 1995.
- DEEMING, D. C. High yield broiler incubation. *World Poultry*, v.18, n.3, p.22-23, 2002.

- DENNIS, J. E.; XIAO, S. Q.; AGARWAL, M. et al. Microstructure of matrix and mineral components of eggshells from white leghorn chickens (*Gallus gallus*). *Journal of Morphology*, v.228, p.287-306, 1996.
- DIAS, P. F.; MÜLLER, Y. M. R. Características do desenvolvimento embrionário de *Gallus gallus domesticus*, em temperaturas e períodos diferentes de incubação. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.35, n.5, p.233-235, 1998.
- DIBARTOLA, S. P. *Fluid therapy in small animal practice*. 2 ed. Saunders Company: Philadelphia, 2000. 720p.
- DIECKERT, J. W.; DIECKERT, M. C.; CREGER, C. R. Calcium reserve assembly: a basic structural unit of the calcium reserve system on the hen egg shell. *Poultry Science*, v.68, p.1569-1584, 1989.
- ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of frequency of turning from tree to eleven days of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, v.45, p.631-637, 2003.
- ELIBOL, O.; BRAKE, J. Identification of critical periods for turning broiler hatching eggs during incubation. *British Poultry Science*, v.45, p.631-637, 2004.
- ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of egg turning angle and frequency during incubation on hatchability and incidence of unhatched broiler embryos with head in the small end of the egg. *Poultry Science*, v.85, p.1433-1437, 2006a.
- ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of flock age, cessation of egg turning, and turning frequency through the second week of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, v.85, p.1498-1501, 2006b.
- 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, p.1237-1241, 2008.
- EMARA, O. K. A. Use of scanning electron microscopy techniques for predicting variations in eggshell quality of chickens. 2008. 252p. Dissertação (mestrado), Department of Poultry Production, Faculty of Agriculture, Ain Shams, Alabassya.
- EPSTEIN, S. K.; SINGH, N. Respiratory acidosis. *Respiration Care*, v.46, p.366-383, 2001.
- EVERAERT, N.; KAMERS, B.; WITTERS, A. et al. Effect of four percent carbon dioxide during the second half of incubation on embryonic development, hatching parameters, and posthatch growth. *Poultry Science*, v.86, p.1372-1379, 2007.
- FERNANDEZ, M. S.; ARAYA, M.; ARIAS, J. L. Eggshells are shaped by a precise spatio-temporal arrangement of sequentially deposited macromolecules. *Matrix Biology*, v.16, p.13-20, 1997.
- FERREIRA, F. C.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C. et al. Influência da idade de matriz sobre a qualidade do ovo. In: *Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícolas*. Campinas: FACTA, p.16, 2005.
- FRASER, A. C.; BAIN, M. M.; SOLOMON, S. E. Organic matrix morphology and distribution in the palisade layer of eggshells sampled at selected periods during lay. *British Poultry Science*, v.39, p.225-228, 1998.
- FRASER, A. C.; BAIN, M. M.; SOLOMON, S. E. Transmission electron microscopy of the vertical crystal layer and cuticle of the eggshell of the domestic fowl. *British Poultry Science*, v.40, n.5, p.626-631, 1999.
- FREEMAN, B. M. The mobilization of hepatic glycogen in *Gallus domesticus* at the end of incubation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.28, p.1169-1176, 1969.
- FRENCH, N. A. Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. *Poultry Science*, v.76, p.124-133, 1997.
- FRENCH, N. A.; TULLETT, S. G. Variation in the eggs of various poultry species. In: *Avian incubation*. London: Butterworth-Heinemann, 1991. Cap.3, p.59-77.
- FURLAN, R. L.; SILVA, A. V. F.; BORGES, S. A. et al. Equilíbrio Ácido-básico. In: *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. Jaboticabal: FUNEP. Cap. 4, p.51-73, 2002.
- GAUTRON, J.; HINCKE, M. T.; DOMINGUEZ-VERA, J. M. Ovotransferrin and lysozyme are constituents of the hen eggshell matrix. In: *Proceedings European Poultry Meat and Egg Quality Symposium*. Poznan: Kijoski, p.172-181, 1997.
- GOMES, O. M. *Interpretação clínica das alterações ácido-básicas e distúrbio da oxigenação*. Belo Horizonte: Edictor, 1997, p.254.

- HA, Y. W.; SON, M. J.; YUN, K. S. et al. Relationship between eggshell strength and keratan sulfate of eggshell membranas. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.147, p.1109-1115, 2007.
- HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. Series of embryonic chicken growth. *Journal of Morphology*, v.88, p.49-92, 1951.
- HAMIDU, J. A.; FASENKO, G. M.; FEDDES, J. J. R. et al. The effect of broiler breeder genetic strain and parent flock age on eggshell condutance and embryonic metabolism. *Poultry Science*, v.86, p.2420-2432, 2007.
- HAMILTON, R. M. G. Observation on the changes in the physical characteristics the influence egg shell quality in the strains of white leghorns. *Poultry Science*, v.57, p.1192-1197, 1978.
- HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poultry Science*, v.61, p.2022-2039, 1982.
- HAMILTON, R. M. G. The microstructure of the hen's egg shell: a short review. In: *Food Microstructure*. Chicago: AMFO'Hare, 1986. p.99-110.
- HILL, D. Performance losses: incubation and brooding. *International Hatchery Practice*, v.17, n.1, p.7-9, 2002.
- HINCKE, M. T. Ovalbumin is a component of the chicken eggshell matrix. *Connective Tissue Research*, v.31, p.227-233, 1995.
- HOIBY, M.; AULIE, A.; BJONNES, P. O. Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.86, p.91-94, 1987.
- HOUILLO, C. *Embriologia*. 7 ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda. 1972. 180p.
- HULET, R.; GLADYS, G.; HILL, D. et al. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. *Poultry Science*, v.86, p.408-412, 2007.
- HULET, R. M.; MEIJERHOF, R. Real time incubation temperature control and heat production of broiler eggs. *Poultry Science*, v.80, p.128, 2001.
- HUNTON, P. Understanding the architerture of the egg shell. *World's Poultry Science Journal*, v.51, p.141-147, 1995.
- HUNTON, P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.7, n.2, p.67-71, 2005.
- JOSEPH, N. S.; LOURENS, A.; MORAN JR., E. T. The effects of suboptimal eggshell temperature during incubation on broiler chick quality, live performance, and further processing yield. *Poultry Science*, v.85, p.932-938, 2006.
- JULIAN, R. J. Physiological, management and environmental triggers of the ascites syndrome: a review. *Avian Pathology*, v.29, n.6, p.519-527, 2000.
- KEMPS, B. J.; GOVAERTS, T.; DE KETELAERE, B. The influence of line and laying period on the relationship between different eggshell and membrane strength parameters. *Poultry Science*, v.85, p.1309-1317, 2006.
- KHATKAR, M. S.; SANDHU, J. S.; BRAH, G. S. et al. Estimation of egg shell breaking strength from egg characteristics in layer chickens. *Indian Journal of Poultry Science*, v.32, p.111-113, 1997.
- KIRK, S.; EMMANS, G. C.; McDONALD, R. et al. Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. *British Poultry Science*, v.21, n.1, p.37-53, 1980.
- KRAMPITZ, G.; GRAZER, G. Molecular mechanisms of biomineralization in the formation of calcified shells. *Angewandte Chemie International Edition*, v.27, p.1145-1156, 1988.
- KROETZ NETO, F. L.; GONZALES, E.; DELGADO, F. S. et al. Atmosfera com 4000 ppm de CO2 durante os quatro primeiros dias de incubação não influencia a eclodibilidade e o desempenho de frangos. In: *Conferência APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas*. Campinas: FACTA, p.13, 2008.
- LA CRUZ, M. V.; ARMAS, S. M.; CASTELLÃNOS, L. M. *Development of the chick heart*. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1972. 82p.
- LA SCALA JR., N. Aspectos físicos da incubação. In: *Manejo da Incubação*. 2.ed. Campinas: FACTA, 2003. p. 97-124.
- LA SCALA JR., N.; BOLELI, I. C.; RIBEIRO, L. T. et al. Pore size distribution in chicken eggs as determined by mercury porosimetry. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.2, n.2, p.177-181, 2000.

- LARA, L. J. C.; BAIÃO, N.C.; ROCHA, J. S. R. et al. Influência da forma física da ração e da linhagem sobre o desempenho e rendimento de cortes de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, p. 960-968, 2008.
- LATOUR, M. A.; PEEBLES, E. D.; DOYLE, S. M. et al. Broiler breeder age and dietary fat influence the yolk fatty acid profiles of fresh eggs and newly hatched chicks. *Poultry Science*, v.77, p.47-53, 1998.
- LEACH JR., R. M. Biochemistry of the organic matrix of the eggshell. *Poultry Science*, v.61, p.2040-2047, 1982.
- LEKSRISOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, P. W. et al. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. *Poultry Science*, v.86, p.2685-2691, 2007.
- LIERZ, M.; GOOSS, O.; HAFEZ, H. M. Noninvasive heart rate measurement using a digital egg monitor in chicken and turkey embryos. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, v.20, n.3, p.141-146, 2006.
- LILLIE, F. R. *Development of the chick*. 3 ed. New York: Henry Holt, 1952. 624p.
- LOURENS, A. The importance of air velocity in incubation. *World Poultry*, v.17, n.3, p.29-30, 2001.
- LOURENS, A.; MOLENAAR, R.; VAN DER BRAND, H. et al. Effect of egg size on heat production and the transition of energy from egg to hatching. *Poultry Science*, v.85, p.770-776, 2006.
- LOURENS, A.; VAN DER BRAND, H.; HEETKAMP, M. J. W. et al. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. *Poultry Science*, v.86, p.2194-2199, 2007.
- LOURENS, A.; VAN DER BRAND, H.; MEIJERHOF, R. et al. Effects of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. *Poultry Science*, v.84, p.914-920, 2005.
- LOURENS, A.; VAN MIDDELKOOP, J. H. Embryo temperature affects hatchability and grow-out performance of broilers. *Avian and Poultry Biology Reviews*, v.11, p.299-301, 2000.
- LUQUETTI, B. C.; GONZALEZ, E.; BRUNO, L. D. G. et al. Egg traits and physiological neonatal chick parameters from broiler breeder at different ages. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.6, p.13-17, 2004.
- MARQUES, D. *Manual do Incubador*. 1.ed. São Paulo: CASP, 1986, 214p.
- MARQUES, D. *Fundamentos Básicos de Incubação Industrial*. 2ed. São Paulo: CASP, 1994, 143p.
- MAUDIN, J. M. Measuring incubation moisture weight loss. *International Hatchery Practice*, v.8, n.1, p.47, 1993.
- MAULDIN, J. M.; BUHR, R. J. What is really happening in your incubation? *International Hatchery Practice*, v.9, n.5, p.19-22, 1995.
- McDANIEL, G. R.; ROLAND, D. A.; COLEMAN, M. A. The effect of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality. *Poultry Science*, v.58, p.10-13, 1979.
- McLOUGHLIN, L.; GOUS, R. M. Efecto del tamaño del huevo en el crecimiento pre y post natal de pollitos de engorde. *Avicultura Profesional*, v.18, p.24-29, 2000.
- MEIJERHOF, R. Embryo temperature is the key factor in incubation. *World Poultry*, v.15, n.10, p.42-43, 1999.
- MEIJERHOF, R.; VAN BEEK, G. Mathematical modelling of temperature and moisture loss of hatching eggs. *Journal of Theoretical Biology*, v.165, p.27-41, 1993.
- MEIR, M.; AR, A. Changes in eggshell conductance, water loss and hatchability of layer hens with flock age and moulting. *British Poultry Science*, v.49, n.6, p.677-684, 2008.
- MENNA, T. M.; MORTOLA, J. P. Metabolic control of pulmonary ventilation in the developing chick embryo. *Respiration Physiology and Neurobiology*, v.130, p.43-55, 2002.
- METCALFE, J.; McCUTCHEON, I. E.; FRANCISCO, D. L. et al. Oxygen availability and growth of the chick embryo. *Respiration Physiology*, v.46, p.81-88, 1981.
- MORAN JR., E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, v.86, 1043-1049, 2007.
- MORITA, V. S.; BOLELI, I. C.; CARGNELUTTI FILHO, A. Hematological values and body, heart and liver weights of male and female broiler embryos of young and old breeder eggs. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.11, n.1, p.7-15, 2009.

- NAKANO, K.; NAKANO, T.; AHN, D. U. et al. Sialic acid contents in chicken eggs and tissues. *Canadian Journal of Animal Science*, v.74, p.601-606, 1994.
- NAKANO, T.; IKAWA, N. I.; OZIMEK, L. Extraction of glycosaminoglycans from chicken eggshell. *Poultry Science*, v.80, p.681-684, 2001.
- NAKANO, T.; IKAWA, N. I.; OZIMEK, L. Chemical composition of chicken eggshell and shell membranes. *Poultry Science*, v.82, p.510-514, 2003.
- NASCIMENTO, V. P.; SALLE, C. T. P. O ovo. In: *Manejo da Incubação*. Campinas: FACTA, 2003. Cap.1, p.34-50.
- NICHOLSON, A. D. Incubation conditions and broiler performance. *International Hatchery Practice*, v.17, n.3, p.13-15, 2002.
- NOBLE, R. C.; COCCHI, M. Lipid metabolism and the neonatal chicken. *Progress in Lipid Research*, v.29, p.107-140, 1990.
- NORTH, M. O. Formation of the egg. In: *Commercial Chicken Production Manual*. Oceanside: The Avi Publishing Company, 1984. Cap.3, p.27-38.
- NORTH, M. O.; BELL, D. D. Factors affecting hatchability. In: *Commercial chicken production manual*. New York: Chapman & Hall, 1990. p.103-134.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Yolk utilization in the newly hatched poult. *British Poultry Science*, v.39, p.446-451, 1998.
- NYS, Y.; HINCKE, M. T.; ARIAS, J. L. et al. Avian eggshell mineralization. *Poultry and Avian Biology Review*, v.10, n.3, p.143-166, 1999.
- O'DEA, E. E.; FAZENKO, G. M.; FEDDES, J. J. R. et al. Investigating the eggshell conductance and embryonic metabolism of modern and unselected domestic avian genetic strains at two flock ages. *Poultry Science*, v.83, p.2059-2070, 2004.
- OKUDA, A.; TAZAWA, H. Gas exchange and development of chicken embryos with widely altered shell conductance from the beginning of incubation. *Respiration Physiology*, v.74, p.187-198, 1988.
- ONAGBESAN, O.; BRUGGEMAN, V.; DE SMIT, L. et al. Gas exchange during storage and incubation of Avian eggs: effects on embryogenesis, hatchability, chick quality and post-hatch growth. *World's Poultry Science Journal*, v.63, p.557-573, 2007.
- ORBAN, J. I.; ROLAND SR., D. A. Correlation of eggshell quality with tibia status and other production parameters in commercial leghorns at ovoposition and 10-hour postoviposition. *Poultry Science*, v.69, p.2068-2073, 1990.
- ÖRBERG, J. Relationship between the shell membrane-shell bond and shell deformation in hens' eggs. *British Poultry Science*, v.31, p.249-254, 1990.
- PANHELEUX, M.; BRAIN, M.; FERNANDEZ, M. S. et al. Organic matrix composition and ultrastructure of eggshell: a comparative study. *British Poultry Science*, v.40, p.240-252, 1999.
- PARSONS, A. H. Structure of the eggshell. *Poultry Science*, v.61, p.2013-2021, 1982.
- PEARSON, J. T.; HAQUE, M. A.; HOU, P. C. L. et al. Developmental patterns of O₂ consumption, heart rate and O₂ pulse in unturned eggs. *Respiration Physiology*, v.103, p.83-87, 1996.
- PEEBLES, E. D.; BRAKE, J. Relationship of eggshell porosity to stage of embryonic development in broiler breeders. *Poultry Science*, v.64, p.2388-2391, 1985.
- PEEBLES, E. D.; BURNHAM, M. R.; GARDNER, C. W. et al. Effects of incubational humidity and hen age on embryo composition in broiler hatching eggs from young breeders. *Poultry Science*, v.80, p.1299-1304, 2001.
- PEEBLES, E. D.; ZUMWALT, C. D.; DOYLE, S. M. et al. Effects of breeder age and dietary fat source and level on broiler hatching egg characteristics. *Poultry Science*, v.79, p.698-704, 2000.
- PERROTT, H. R.; SCOTT, V. D.; BOARD, R. G. Crystal orientation in the shell of the domestic fowl: an electron diffraction study. *Calcified Tissue International*, v.33, p.119-124, 1981.
- PIIPER, J.; TAZAWA, H.; AR, A. et al. Analysis of chorioallantoic gas exchange in the chick embryo. *Respiration Physiology*, v.39, p.273-284, 1980.
- PRADO-REBOLLEDO, O. F.; MORALES, B. J. E.; QUINTANA, L. J. A. et al. Oxígeno adicional en incubación del pollo de engorda. *Archivos de Zootecnia*, v.58, n.221, p.85-91, 2009.
- PROUNDFOOT, F. G.; HULAN, H. W.; McRAE, K. B. The effect of transferring hen eggs from turning to stationary trays after 13 to 20 days of incubation on subsequent hatchability and general performance. *Poultry Science*, n.60, p.302-306, 1981.

- RAHN, H. Changes in shell conductance, pores, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. *Poultry Science*, v. 60, p.2536-2541, 1981.
- RAHN, H.; AR A. The avian egg: Incubation time and water loss. *The Condor*, v.76, p.147-152, 1974.
- RAHN, H.; MATALON, S.; SOTHERLAND, P. R. Circulatory changes and oxygen delivery in the chick embryo prior to hatching. In: *Cardiovascular Shunts*. Phylogenetic, Ontogenetic and Clinical Aspects. Copenhagen: Munksgaard, p.199-215, 1985.
- RICHARDS, M. P. Trance mineral metabolism in the avian embryo. *Poultry Science*, v.76, p.152-164, 1977.
- 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. 48p. Dissertação (mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- ROCHA, J. S. R.; LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C. et al. Efeito da classificação dos ovos sobre o rendimento de incubação e os pesos do pinto e do saco vitelino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.4, p.979-986, 2008.
- RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; KALIN, O.; NYS, Y. et al. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. *British Poultry Science*, v.43, p.395-403, 2002.
- ROMANOFF, A. L. Biochemistry and biophysics of the development hens egg. *Memoirs of Cornele University Agricultural Experimental Station*, v.132, n.1, p.1-27, 1930.
- ROMANOFF, A. L. The avian embryo. 1 ed. New York: MacMillan Company, 1960. 1305p.
- ROMANOFF, A. L.; ROMANOFF, A. J. *The Avian Egg*. New York: John Wiley and Sons, 1949. 918p.
- ROMIJN, C.; LOKHORST, W. Chemical heat regulation in the chicken embryo. *Poultry Science*, v.34, p.649-654, 1955.
- RONDÓN, E. O. O.; MURAKAMI, A. E. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. *Acta Scientiarum*, v.20, n.3, p.373-382, 1998.
- ROQUE, L.; SOARES, M. C. Effects of eggshell quality and broiler breeder age on hatchability. *Poultry Science*, v.73, p.1838-1845, 1994.
- ROSA, P. S.; AVILA, V. S. Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos em matrizes de frangos de corte. Comunicado Técnico. Embrapa Suínos e Aves – CNPSA, 2000, p.1-3.
- ROSA, P. S.; SCHEUERMANN, G. N.; FIGUEIREDO, E. A. P. et al. Influência da umidade na incubadora sobre o desempenho de incubação em ovos com diferentes densidades específicas. In: *Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícolas*. Campinas: FACTA, p.10, 1999.
- ROSA, P. S.; GUIDONI, A. L.; LIMA, I. L. et al. Influência da temperatura de incubação em ovos de matrizes de corte com diferentes idades e classificados por peso sobre os resultados de incubação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n. 2, p.1011-1016, 2002.
- ROWLETT, K.; SIMKISS, K. Respiratory gases and acid-base balance in shell-less avian embryos. *The Journal of Experimental Biology*, v.143, p.529-536, 1989.
- RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. In: *Manejo de Matrizes de Corte*. Campinas: FACTA, 2005. Cap.6, p.75-143.
- RUIZ, J.; LUNAM, C. A. Ultrastructural analysis of the eggshell: contribution of the individual calcified layers and the cuticle to hatchability and egg viability in broiler breeders. *British Poultry Science*, v.41, p.584-592, 2000.
- SALAZAR, A. I. El proceso de incubación. *Avicultura Profesional*, v.18, p.26-30, 2000.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002, 265 p.
- SANTOS, G. C. F.; CAMPOS, E. J.; SILVA, P. L. Efeito da linhagem e da idade de reprodutoras pesadas e leves sobre a perda de umidade dos ovos durante o período de incubação. In: *Conferência APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas*. Campinas: FACTA, p.21, 2005.
- SATO, M.; TACHIBANA, T.; FURUSE, M. Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.143, p.382-388, 2006.

- SBONG, S.; DZIALOWSKI, E. M. Respiratory and cardiovascular responses to acute hypoxia and hyperoxia in internally piped chicken embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, v.148, p.761-768, 2007.
- SCHLESINGER, A. B. The structural significance of the avian yolk in embryogenesis. *Journal of Experimental Zoology, Part A. Ecological genetics and physiology*, v.138, n.2, p.223-258, 1958.
- SENGOR, E.; YARDIMCI, M.; OKUR, N. et al. Effect of short-term pre-hatch heat shock of incubation eggs on subsequent broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, v.38, n.1, p.58-64, 2008.
- SESTI, L. A. C. Órgãos reprodutivos e reprodução das aves domésticas. In: *Manejo da Incubação*. Campinas: FACTA, 2003. Cap.1, p.3-33.
- SIMONS, P. C. M. Ultrastructure of the hen eggshell and its physiological interpretation. 1971. Tese (Ph.D), Landbouwhogeschool, Wageningen.
- SISTEMA de análises estatísticas e genéticas. Versão 9.1. Viçosa: UFV, 2005.
- SKLAN, D.; HEIFETZ, S.; HALEVY, O. Heavier chicks at hatch improves marketing body weight by enhancing skeletal muscle growth. *Poultry Science*, v.82, n.2, p.1778-1786, 2003.
- SOLOMON, S. E. *Egg e Egg Shell Quality*. London: Wolfe Publishing, 1991. 149p.
- SOTHERLAND, P. R.; RAHN, H. On the composition of bird eggs. *The Condor*, v.89, p.48-65, 1987.
- SPARKS, N. H. C. The hen's eggshell: a resistance network. 1985. Tese (Ph.D), University of Bath, Great-Britain.
- SPARKS, N. H. C. Shell accessory materials: structure and function. In: *Microbiology of the Avian*. London: Chapman and Hall, 1994. p.25-42.
- SPEAKE, B. K.; MURRAY, A. M. B.; NOBLE, R. C. Transport and transformations of yolk lipids during development of the avian embryo. *Progress in Lipid Research*, v.37, n.1, p.1-32, 1998a.
- SPEAKE, B. K.; NOBLE, R. C.; MURRAY, A. M. B. The utilization of yolk lipids by the chick embryo. *World's Poultry Science Journal*, v.54, p.319-334, 1998b.
- STANISHEVSKAYA, O. I. Role of various zones of eggshell in gas exchange of chicken embryo. In: *XII European Poultry Conference*. Verona: WPSA, 2006. p.141.
- STAVELEY, B. E. *Developmental Biology*. Newfoundland, 2011. Disponível em: <http://http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DB_Ch02/DBNModel.html/> . Acesso em: 06 jan. 2011.
- SUAREZ, M. E.; WILSON, H. R.; MATHER, F. B. et al. Effect of strain and age of the broiler breeder female on incubation time and chick weight. *Poultry Science*, v.76, p.1029-1036, 1997.
- TANURE, C. B. G. S.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. M. et al. Influência da idade da matriz leve e do período de armazenamento sobre parâmetros de qualidade do ovo incubável. In: *Conferência APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas*. Campinas: FACTA, p.34, 2008.
- TAYLOR, G. Failure to control hatchery conditions in the summer. *Misset's World Poultry*, v.13, n.6, p.60-65, 1997.
- TAYLOR, G. Understanding high yield broiler incubation. *Zootecnica Internacional*, v.22, n.7, p.32-36, 1999.
- TAZAWA, H.; MIKAMI, T.; YOSHIMOTO, C. Respiratory properties of chicken embryonic blood during development. *Respiration Physiology*, v.13, p.160-170, 1971.
- TAZAWA, H.; TAKAMI, M.; KOBAYASHI, K. et al. Non-invasive determination of heart rate in newly hatched chicks. *British Poultry Science*, v.33, p.1111-1118, 1992.
- TAZAWA, H.; WHITTOW, G. C. *Incubation physiology*. In: WHITTOW, G. C. *Sturkie's Avian Physiology*. 2000. Cap. 24, p.617-634.
- TONA, K.; DECUYPERE, E.; COUCKE, W. Effects of strain, hen age and transferring eggs from turning to stationary trays after 15 to 18 days of incubation. *British Poultry Science*, v.42, p.663-667, 2001.
- TONA, K.; ONAGBESAN, O.; DE KETELAERE, B.; DECUYPERE, E. et al. Effects of turning duration during incubation on corticosterone and thyroid hormone levels, gas pressure in air cell, chick quality, and juvenile growth. *Poultry Science*, v.82, p.1947-1979, 2003.
- TONA, K.; ONAGBESAN, E.; BRUGGEMAN, V. et al. Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation. *Poultry Science*, v.84, p.315-320, 2005.

- TONA, K.; ONAGBESAN, E.; BRUGGEMAN, V. et al. Non-ventilation during early incubation in combination with dexamethasone administration during late incubation: 1. Effects on physiological hormone levels, incubation duration and hatching events. *Domestic Animal Endocrinology*, v.33, p.32-46, 2006.
- TUAN, R. S.; ONO, T. Regulation of extraembryonic calcium mobilization by the developing chick embryo. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, v.97, p.63-74, 1986.
- TULLETT, S. G.; BURTON, F. G. Factors affecting the weight and water status of the chick at hatch. *British Poultry Science*, v.23, p.361-369, 1982.
- TULLETT, S. G.; DEEMING, D. C. The relationship between eggshell porosity and oxygen consumption of the embryo in domestic fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.72, p.529-533, 1982.
- TULLETT, S. G.; DEEMING, D.C. Failure to turn eggs during incubation: Effects on embryo weight, development of the chorioallantois and absorption of albumen. *British Poultry Science*, v.28, n.2, p.239-243, 1987.
- TULLETT, S. G. Science and the art of incubation. *Poultry Science*, v.69, p.1-15, 1990.
- TYLER, C. Studies on eggshells. A method for marking and counting pores. *Journal of Science Food Agriculture*, v.4, p.266-272, 1953.
- ULMER-FRANCO, A. M.; FASENKO, G. M.; O'DEA CHRISTOPHER, E. E. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poultry Science*, v.89, n.12, p.2735-2742, 2010.
- VICK, S. V.; BRAKE, J.; WALSH, T. J. Relationship of incubator humidity and flock age to hatchability of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, v.72, p.251-258, 1993.
- VIEIRA, S. L. Idade da matriz, tamanho do ovo e desempenho do pintinho. In: *Conferência APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas*. Campinas: FACTA, p.117-123, 2001.
- VIEIRA, S. L.; MORGAN JR., E. T. Eggs and chicks from broiler breeders of extremely different age. *Journal of Applied Poultry Research*, v.7, p.372-376, 1998.
- YAHAV, S.; COLLIN, A.; SHINDER, D. et al. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. *Poultry Science*, v.83, p.1959-1963, 2004.
- YALÇIN, S.; ÇABUK, M.; BRUGGEMAN, V. et al. Acclimation to heat during incubation. 1. Embryonic morphological traits, blood biochemistry, and hatching performance. *Poultry Science*, v.87, p.1219-1228, 2008.
- YALÇIN, S.; MOLAYOĞLU, H. B.; BAKA, M. et al. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, v.86, p.1772-1783, 2007.
- YALÇIN, S.; ÖZKAN, S.; ÇABUK, M. et al. Pre and postnatal conditioning induced thermotolerance on body weight, physiological responses and relative asymmetry of broilers originating from young and old breeder flocks. *Poultry Science*, v.84, p.967-976, 2005.
- YALÇIN, S.; SIEGEL, P. B. Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. *Poultry Science*, v.82, p.1388-1392, 2003.
- YILDIRIM, I.; YETISIR, R. Effects of different hatcher temperatures on hatching traits of broiler embryos during the last five days of incubation. *South African Journal of Animal Science*, v.34, n.4, p.211-216, 2004.
- WANGENSTEEN, D.; WEIBEL, E. R. Morphometric evaluation of chorioallantoic oxygen transport in the chick embryo. *Respiration Physiology*, v.47, p.1-20, 1982.
- WANGENSTEEN, D.; WILSON, D.; RAHN, H. Diffusion of gases across the shell of the hen's egg. *Respiration Physiology*, v.11, p.16-30, 1970.
- WAGNER-AMOS, K.; SEYMOUR, R. S. Effect of local shell conductance on the vascularisation of the chicken chorioallantoic membrane. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, v.134, p.155-167, 2003.
- WELLMAN-LABADIE, O.; PICMAN, J.; HINCKE, M. T. Antimicrobial activity of cuticle and outer eggshell protein extracts from three species of domestic birds. *British Poultry Science*, v.49, n.2, p.133-143, 2008.
- WILSON, H. R. Physiological requirements of the developing embryo: Temperature and turning. In: *Avian Incubation*. London: Butterworth-Heinemann, 1991. Cap.9, p.145-156.

- WILSON, H. R.; WILMERING, R. F. Hatchability as affected by egg turning in high density plastic egg flats during the last half of incubation. *Poultry Science*, v.67, p.685-688, 1988.
- WINELAND, M. J.; CHRISTENSEN, V. L. Effect of egg moisture loss upon the embryo and growing chick. *International Hatchery Practice*, v.17, p.17, 2003.
- WINELAND, M. J.; MANN, K. M.; FAIRCHILD, B. D. et al. Effect of different setter and hatcher temperature upon the broiler embryo. *Poultry Science*, v.79, p.123, 2000.
- WHITTMANN, J.; KALTNER, H. Formation and changes of the subembryonic liquid from turned, unturned, and cultured Japanese quail eggs. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v.10, p.338-345, 1988.

ANEXO 1

Anexo referente à Tabela 5. Peso médio do ovo, espessura, resistência e porosidade da casca de acordo com a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Peso do ¹ ovo (g)	Espessura da ¹ casca (mm)	Resistência da ¹ casca (g)	Poros da casca ² por cm ² (n°)
33	62,0 B	0,457 A	3193 A	103 B
63	72,4 A	0,435 B	2994 B	126 A
CV(%)	4,9	7,9	17,0	-

Médias¹ e Medianas² seguidas de letras distintas na coluna são diferentes pelo teste F¹ e Mann-Whitney², respectivamente (p≤0,001).

ANEXO 2

Anexo referente à Tabela 8. Espessura da casca (mm) em função da região do ovo e da idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Regiões da casca do ovo		
	Apical	Equatorial	Basal
33	0,475 Aa	0,454 Aa	0,469 Aa
63	0,460 Aa	0,435 Aa	0,438 Ba

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis (p≤0,05).

ANEXO 3

Anexo referente à Tabela 9. Porosidade da casca em função da região do ovo e da idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Porosidade da casca do ovo (n° de poros/cm ²)			Mediana
	Apical	Equatorial	Basal	
33	90	104	116	103 B
63	103	130	151	126 A
Mediana	104 b	110 a	120 a	

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

ANEXO 4

Anexo referente à Tabela 13. Peso médio dos ovos, em gramas, antes da incubação

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	61,6	61,4	61,3	61,4 B
63	72,0	72,1	72,4	72,2 A
Mediana	66,8 a	66,8 a	66,9 a	

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,01$).

ANEXO 5

Anexo referente à Tabela 16. Percentual de pintos nascidos, 10 horas antes da retirada dos pintos do nascedouro de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)		
	15	17	19
33	83,5 Ab	93,8 Aab	96,3 Aa
63	84,6 Ab	96,2 Aa	97,5 Aa

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

ANEXO 6

Anexo referente à Tabela 19. Percentual de fertilidade em relação ao número de ovos incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	98,9	98,9	98,9	98,9 A
63	92,2	92,6	94,4	92,6 B
Mediana	96,1 a	96,3 a	96,7 a	

Medianas seguidas de letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

ANEXO 7

Anexo referente à Tabela 21. Mortalidade embrionária, em percentual, de oito a 14 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	0	0	0	0
63	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	

Medianas na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

ANEXO 8

Anexo referente à da Tabela 22. Mortalidade embrionária, em percentual, de 15 a 18 dias, calculada sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	1,1	1,1	0	1,1
63	1,2	1,1	1,1	1,1
Mediana	1,1	1,1	1,1	

Medianas na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

ANEXO 9

Anexo referente à Tabela 23. Mortalidade embrionária e pintos bicados, em percentual, de 19 a 21 dias, calculados sobre o número de ovos férteis, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	6,7	4,3	3,4	4,4
63	4,7	3,6	4,9	4,8
Mediana	5,2	4,3	4,5	

Medianas na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

ANEXO 10

Anexo referente à Tabela 24. Taxa dos ovos contaminados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	0	0	0	0
63	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	

Medianas na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

ANEXO 11

Anexo referente à Tabela 25. Taxa dos ovos desidratados, em percentual, calculada sobre ovos férteis incubados, de acordo com o momento da transferência e a idade da matriz pesada

Idade da matriz (semanas)	Momento da transferência (dias)			Mediana
	15	17	19	
33	0	0	0	0
63	0	0	0	0
Mediana	0	0	0	

Medianas na linha e na coluna são semelhantes pelo teste Kruskal-Wallis ($p>0,05$).