UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

FLAVIO HENRIQUE ARAUJO SILVA

**Influência dos tempos de aquecimento e
armazenamento de ovos férteis de reprodutoras
pesadas sobre a eclodibilidade e características de
pintos de 1 dia.**

FLAVIO HENRIQUE ARAUJO SILVA

**Influência dos tempos de aquecimento e
armazenamento de ovos férteis de reprodutoras
pesadas sobre a eclodibilidade e características de
pintos de 1 dia.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para a obtenção do Título
de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Douglas Emygdio de
Faria

DEDICATÓRIA

À minha mãe Silvia, ao meu pai Gabriel e ao meu irmão Luciano,
por me fornecerem todo o apoio, incentivo, dedicação e condições
durante todos esses anos de vida.

À minha namorada Mirella Junqueira Lazzarini pelo companheirismo, compreensão e
amor.

Sem vocês tudo seria muito mais difícil...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria, meu orientador e amigo, que durante todo o período do mestrado forneceu as condições e orientações necessárias para crescer tanto como profissional como ser humano.

A Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) e seus professores pela oportunidade e ensinamentos neste período.

À Comissão de Pós-Graduação (CPG) da FZEA pelo apoio.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

Aos meus companheiros Bruno Deponti, Luiz Gustavo Rombola, Mayra e Andréa por toda a amizade e trabalho de equipe realizado neste período.

À Globoaves, pelo fornecimento dos ovos utilizados no experimento.

Aos colegas Nilton, Gilson, Henrique e Kelly por terem me ajudado, e muito, nas análises e realização do experimento.

Ao pessoal da ESALQ, especialmente ao Prof. Dr. Vicente Savino e Prof. Antonio Coelho, Marco Aurélio Silva, Millor, Caio, Edmilson, Tirolêis.

Ao Prof. César Gonçalves de Lima, pelo apoio na realização das análises estatísticas.

Aos amigos de república Marco Aurélio, Leonardo e Peter, pelo convívio e risadas durante esse período.

Ao Ademir e Fernando, pela hospedagem em Piracicaba, na época do experimento.

Ao Prof. Dr. João Waine Pinheiro, da Universidade Estadual de Londrina, por ter me guiado nos primeiros passos quando resolvi seguir a área de Avicultura.

A todos os amigos que fiz na minha passagem pela Pós-Graduação da USP. A saudade e as lembranças de todos são muito fortes...

Ao médico veterinário Paulo Roberto V. Raffi, que sempre procurou me apoiar com idéias e tentativas de parceria entre empresa e universidade para pesquisas científicas.

À Perdigão Agroindustrial S.A. pela oportunidade profissional.

A todos que, direta ou indiretamente, ajudaram-me na busca da realização desta conquista.

À Deus, por me dar luz e paz para seguir o meu caminho e também por colocar na minha vida pessoas tão importantes como estas citadas acima.

“Uma coisa só é impossível até que alguém duvida e acaba provando o contrário.”

Albert Einstein

*“(...) para se chegar, aonde quer que seja, aprendi que não é preciso dominar a força,
mas a razão. É preciso, antes de mais nada, querer.”*

Amyr Klink

RESUMO

SILVA, F. H. A. **Influência dos tempos de aquecimento e armazenamento de ovos férteis de reprodutoras pesadas sobre a eclodibilidade e características de pintos de um dia.** 2005. 101f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

Um experimento foi conduzido com os objetivos de avaliar a influência de diferentes tempos de aquecimento antes do armazenamento e diferentes tempos de armazenamento de ovos férteis de matrizes Cobb 500 com 44 semanas antes da incubação, sobre a eclodibilidade e características de pintos de um dia. Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 3x3, com os fatores: aquecimento antes do armazenamento (37°C por 0, 6 e 12h) e armazenamento antes da incubação (12°C por 4, 9 e 14 dias), totalizando nove tratamentos com 22 repetições de 10 ovos cada. O procedimento de incubação foi o convencional adotado pela avicultura industrial. Avaliaram-se as características de eclosão (480 e 498h), peso do pintainho, perda de peso dos ovos durante o aquecimento e armazenamento, temperatura de superfície da casca, embriodiagnóstico, peso relativo de órgãos e características morfológicas e histológicas intestinais. O aquecimento por 6h não prejudicou a eclodibilidade em comparação ao não aquecimento dos ovos. O aquecimento por 12h resultou em menores taxas de eclosão. O peso dos pintainhos não foi influenciado pelo tempo de armazenamento dos ovos, no entanto, os ovos aquecidos por 0 e 6h produziram pintainhos com pesos superiores quando comparados com aqueles ovos aquecidos por 12h. As características de vilosidades intestinais não foram influenciadas pelos tratamentos, com exceção da profundidade de cripta. Conclui-se que o aquecimento pré-incubação de ovos férteis a 37°C por 6h é adequado em manter as taxas normais de eclosão sem prejudicar as características de pintos de um dia, quando os ovos são armazenados por até quatro dias.

Palavras-chave: aquecimento, armazenamento, eclosão, incubação, vilosidades.

ABSTRACT

SILVA, F. H. A. **Influence of heating and storage times of the broiler breeders fertile eggs on hatchability and day-old chicks characteristics.** 2005. 101f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

An experiment was carried out to evaluate the influence of different heating times before storage and different storage times of the fertile eggs from Cobb 500 broiler breeders, aged 44 weeks, before incubation on hatchability and day-old chicks characteristics. The experimental design was randomly assigned in a 3x3 factorial scheme: egg heating before storage (37°C for 0, 6 and 12h) and egg storage before incubation (12°C for 4, 9 and 14 days), totalizing nine treatments with 22 replicates of ten eggs each. The incubation procedure was the same used by the poultry industry. It was evaluated the hatchability characteristics (480 and 498h), day-old chick weight, egg weight loss during heating and storage, superficial eggshell temperature, and intestine morphologic and histological characteristics. The heating time of 6h did not impair hatchability of the eggs when compared to the control treatment (no heating – 0h). On the other hand, heating eggs for 12h was observed significantly reduction of the hatchability. Day-old chicks weight was not influenced by the storage time, however, the eggs heated for 0 and 6h provided heavier day-old chicks than eggs heated for 12h. There were not influences of the treatments on intestine villous characteristics, except for crypt height. It was concluded that the pre-incubation fertile eggs heating at 37°C for 6h is adequate to maintain normal rates of hatchability without impair day-old chicks characteristics when eggs are stored up to four days.

Keywords: hatchability, heating, incubation, storage, villous.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Câmara de armazenamento dos ovos.....	43
Figura 2 – Incubadora e carrinhos de incubação usados para aquecimento dos ovos antes do armazenamento e posterior incubação.....	44
Figura 3 – Nascedouro.....	44
Figura 4 – Pintainhos recém eclodidos.....	46
Figura 5 – Ovo bicado não eclodido.....	47
Figura 6 – Ovo contaminado.....	47
Figura 7 – Pesagem dos pintainhos por repetição e tratamento.....	48
Figura 8 – Separação, por tratamento, das aves nascidas.....	48
Figura 9 – Pesagem do pintainho que foi sacrificado para obtenção dos pesos relativos de determinados órgãos.....	49
Figura 10 – Pesagem de saco vitelino de pintainho de 1 dia de idade para cálculo do peso relativo.....	49
Figura 11 – Esquema de análise histológica intestinal analisada.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento e respectivas colheitas de ovos.....	41
Tabela 2 – Temperaturas e umidades relativas médias durante os processos de aquecimento de cada coleta, da sala de armazenamento, da sala de pré-incubação, da incubadora e do nascedouro.....	52
Tabela 3 – Perfil da qualidade interna dos ovos férteis utilizados no experimento.....	55
Tabela 4 – Perfil da qualidade externa dos ovos férteis utilizados no experimento.....	56
Tabela 5 – Temperatura média da superfície da casca de ovos férteis, durante a incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	58
Tabela 6 – Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante todo o período de armazenamento, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	59
Tabela 7 – Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante o período de incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	60
Tabela 8 - Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante todo o período de armazenamento e incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	60
Tabela 9 – Porcentagem de ovos bicados durante a transferência.....	61

Tabela 10 – Porcentagem de eclosão de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	63
Tabela 11 – Desdobramento dos tratamentos para a eclosão com 480 horas de incubação de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de armazenamento e aquecimento.....	64
Tabela 12 – Desdobramento dos tratamentos para a eclosão geral de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de armazenamento e aquecimento.....	65
Tabela 13 – Porcentagem de aves nascidas com 480 horas e com 498 horas de incubação (do total de aves eclodidas).....	66
Tabela 14 – Ocorrência de ovos inférteis, mortalidade embrionária inicial, mortalidade embrionária média e mortalidade embrionária final em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento de armazenamento.....	68
Tabela 15 – Ocorrência de ovos não eclodidos e contaminados, embriões mal posicionados e mal formados em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento de armazenamento.....	69
Tabela 16 – Desdobramento dos tratamentos para a mortalidade embrionária inicial em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento de armazenamento.....	70
Tabela 17 – Peso médio de pintainhos recém-eclodidos e provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	71
Tabela 18 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	73

Tabela 19 - Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	74
Tabela 20 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	75
Tabela 21 - Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	76
Tabela 22 – Desdobramento dos tratamentos para peso relativo de duodeno, jejuno, íleo e bursa de Fabrícus de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	77
Tabela 23 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de Fabricius de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	79
Tabela 24 – Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	80
Tabela 25 – Desdobramento dos tratamentos para peso relativo de fígado de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....	81

- Tabela 26 – Características morfométricas do intestino delgado de pintainhos de 1 dia nascidos após 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....82
- Tabela 27 – Desdobramento dos tratamentos para morfometria do íleo de pintainhos de 1 dia nascidos após 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....83
- Tabela 28 – Características morfométricas dos diferentes segmentos intestinais de pintinhos de 1 dia submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento previamente à incubação e que nasceram após 498 horas de incubação.....84
- Tabela 29 – Características morfométricas do intestino delgado de todos os pintainhos de 1 dia nascidos, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....85
- Tabela 30 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....86
- Tabela 31 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....87
- Tabela 32 – Desdobramento dos tratamentos para profundidade de cripta da vilosidade do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....88

Tabela 33 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....89

Tabela 34 – Desdobramento dos tratamentos para profundidade de cripta da vilosidade do duodeno de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.....90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.C.	Antes de Cristo
APINCO	Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte
AQC	Aquecimento
ARM	Armazenamento
cm	Centímetros
C.V.	Coeficiente de variação
d	Dia
ESALQ	Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
g	Gramas
h	Horas
HW	Alto peso corpóreo
kg	Kilogramas
LW	Baixo peso corpóreo
µm	Micrômetro
mm	Milímetro
p	Probabilidade
pH	Potencial hidrogeniônico
SAS®	Statistic Analysis System
sem	Semanas
T	Tratamento
UR	Umidade relativa
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
g/ml H ₂ O	gramas por mililitro de água
CO ₂	gás carbônico
°C	graus Celsius
O ₂	Oxigênio
'	Minutos
H ₂ O _d	água destilada
''	Segundos
HCO ₃	Bicarbonato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Breve histórico sobre o processo de incubação artificial de ovos férteis	21
2.1.1 Aspectos de qualidade e manejo dos ovos férteis antes da incubação	22
2.1.1.1 Características de qualidade dos ovos férteis	22
2.1.1.2 Aquecimento dos ovos férteis antes do armazenamento	25
2.1.1.3 Armazenamento dos ovos férteis antes da incubação	27
2.1.2 Manejo dos ovos férteis durante o processo de incubação	30
2.1.2.1 Temperatura ideal para incubação de ovos férteis	30
2.1.2.2 Umidade relativa do ar ideal para incubação de ovos férteis	31
2.1.2.3 Ventilação e viragem dos ovos férteis durante a incubação	32
2.2 Análise de ovos não eclodidos (Embriodiagnóstico)	32
2.3 Eclosão e características do pintainho recém-eclodido	34
2.4 Aspectos do desenvolvimento embrionário	36
2.5 Aspectos da fisiologia do embrião	39
2.6 Aspectos da maturação do trato gastrintestinal	40
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Local e período	41
3.2 Material experimental e delineamento estatístico	41
3.3 Procedimentos para o aquecimento, armazenamento e incubação dos ovos	42
3.3.1 Aquecimento e armazenamento dos ovos	43
3.3.2 Incubação e eclosão dos ovos	43
3.3.3 Ambiente de máquinas e ovos	45
3.4 Características avaliadas	45
3.4.1 Perda de peso dos ovos durante o armazenamento	45
3.4.2 Perda de peso dos ovos durante a incubação	45
3.4.3 Perda total de peso dos ovos durante o experimento	45
3.4.4 Porcentagem de ovos bicados	46
3.4.5 Porcentagem de eclosão	46

3.4.6 Análise de ovos não eclodidos (Embriodiagnóstico)	47
3.4.7 Peso vivo dos pintainhos de 1 dia	48
3.4.8 Peso relativo de determinados órgãos dos pintainhos	48
3.4.9 Histologia e morfometria das vilosidades do duodeno	49
3.5 Análise estatística	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Temperatura e umidade relativa dos ambientes	52
4.2 Perfil qualitativo dos ovos férteis utilizados no experimento	55
4.3 Temperatura da superfície da casca dos ovos	57
4.4 Perda de peso dos ovos durante o armazenamento e incubação	59
4.5 Porcentagem de ovos bicados durante a transferência	61
4.6 Porcentagem de eclosão	62
4.7 Porcentagem de aves nascidas conforme o horário da eclosão	66
4.8 Mortalidade embrionária (Embriodiagnóstico)	67
4.9 Peso médio de pintainhos recém-eclodidos	70
4.10 Peso relativo dos órgãos dos pintainhos recém eclodidos	72
4.11 Morfometria do intestino delgado de pintainhos recém-eclodidos	81
4.12 Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos recém-eclodidos	82
5 CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

O ovo da galinha doméstica é essencialmente uma “grande célula reprodutiva”. Ao longo dos anos ocorreu o crescimento e desenvolvimento da avicultura industrial em função da adoção de novas técnicas que ainda são constantemente empregadas para melhorar os resultados e viabilizar a atividade através de ganhos em produtividade. Dentre inúmeras delas, a incubação artificial se destaca por proporcionar que uma máquina faça o papel de muitas galinhas no período de desenvolvimento do embrião dentro do ovo. Ou seja, para que escalas comerciais de frangos existissem como existem hoje, as “grandes células reprodutivas” também deveriam ser produzidas em escala comercial. Não existem dúvidas de que a incubação artificial substituiu a galinha de maneira muito mais eficiente.

Conforme citado por Campos e Santos (2003), a história da incubação artificial representa um dos capítulos mais interessantes e importantes dentro do cenário do desenvolvimento da avicultura, tanto como ciência quanto como fator de produção de alimentos.

Sabe-se que muitos fatores influenciam os resultados da incubação por alterarem as condições do ovo, tais como genética, idade das aves, armazenamento e seleção. Muitos trabalhos têm sido feitos no sentido de verificar esses problemas e reduzi-los. No entanto, poucos trabalhos tem sido realizados para mudar as condições de incubação na tentativa de melhorar os resultados.

As condições de incubação têm como objetivo melhorar parâmetros de produção, especialmente eclosão e qualidade do pintainho de 1 dia. Sabe-se, por exemplo, que 0,1% de melhoria nos resultados de eclodibilidade, geram receitas extremamente significativas. No Brasil, considerando os dados apresentados pela Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte (APINCO), e projetando um aumento de 0,1% nas taxas médias de eclosão no ano de 2004, haveria um aumento de produção de 39,03 milhões de cabeças e aumento na receita bruta no valor de R\$ 117,08 milhões. Segundo Salazar (2003), incuba-se semanalmente mais de 150

milhões de ovos de pintainhos de corte e mensalmente mais de 40 milhões de ovos de poedeiras, cinco milhões de ovos de reprodutoras nos EUA, sendo que mundialmente a cada ano nascem quase 4000 bilhões de pintainhos incubados artificialmente, taxa essa que cresce cada vez mais ao longo dos anos. Por tal magnitude do processo, aumentos pequenos nos índices de eclosão quando extrapolados para estes números são significativamente importantes e sempre buscados pela indústria.

Por outro lado, de nada adianta melhorar as taxas de eclosão se a qualidade do pintainho não for boa. Por isso, além da melhoria de resultados de incubação, segundo Vieira e Moran Júnior (1999), os fatores que podem afetar o desenvolvimento precoce do pintainho vêm despertando interesse devido à progressiva diminuição do tempo de comercialização dos frangos, já que os primeiros dias do pintainho representam uma proporção crescente do tempo total para a produção.

Em escala industrial, os ovos incubáveis são freqüentemente estocados por diferentes períodos em temperaturas frias. Essa prática se deve a um fato que foi previamente comprovado por Proudfoot e Hamilton (1990) de que o desenvolvimento embrionário cessa quando os ovos são conservados em temperaturas abaixo do zero fisiológico do embrião.

A necessidade da variação de dias de estocagem ocorre principalmente em função da demanda do mercado, estando bem comprovado que ovos embrionados estocados apresentam taxas de viabilidade embrionária diminuídas (BUTLER, 1991; PROUDFOOT; HAMILTON, 1990; WHITEHEAD et al., 1985).

Num esforço para melhorar a eclodibilidade de ovos estocados por longo tempo, algumas investigações têm sido feitas nos quais os ovos são aquecidos antes do armazenamento. Fasenکو et al. (2001a) afirmaram que o desenvolvimento embrionário aumentou de acordo com o número de horas (0 até 18h) de pré-aquecimento antes da estocagem além do que, a estocagem de ovos por 14 dias versus 4 dias reduziu a eclosão de todos os ovos (58,4% e 88,2% respectivamente) concluindo que o período de pré-aquecimento de 6 horas aumentou a eclosão em relação ao não pré-aquecimento na taxa de 8,5% (79,0% e 70,5%, respectivamente).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a influência de diferentes tempos de aquecimento de ovos férteis de reprodutoras pesadas antes de

diferentes períodos de armazenamento sobre os principais índices de desempenho do processo de incubação artificial, peso médio e características morfométricas do intestino de pintainhos de 1 dia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Breve histórico sobre o processo de incubação artificial de ovos férteis

A incubação artificial de ovos férteis é um processo antigo, cujo surgimento data de 400 a.C., sendo os egípcios os responsáveis pela invenção e aplicação da técnica com a utilização de fornos ou recintos construídos com ladrilhos de barro, nos quais os ovos férteis eram mantidos e aquecidos. Na China, desde o ano de 246 a.C. se incubavam ovos artificialmente e esta cultura se disseminou pelo sudeste asiático através do tempo (SALAZAR, 2003).

Em 1600, os europeus levaram especialistas egípcios para construir e manusear incubadoras ao estilo egípcio, cuja fonte de calor era a irradiação de esterco de camelo e palha ou carvão. No entanto, os resultados não foram satisfatórios e os projetos abandonados. No ano de 1875, A. Corbett registrou a primeira patente de uma incubadora que gerava calor através de esterco em decomposição. O advento de termostatos capazes de medir e regular a temperatura com precisão e confiabilidade foi um dos importantes aspectos que permitiu o desenvolvimento das incubadoras modernas, sendo que em 1900 já existiam 24 marcas diferentes no mercado americano e em 1915 já eram 50 os modelos, com capacidade máxima para 200 ovos. No período de 1929 à 1940, a economia mundial sofreu grande recessão, mas dois fatores contribuíram para sedimentar o crescimento futuro e a estabilidade da indústria avícola: o desenvolvimento da incubadora elétrica com ventilação de ar forçada e a introdução da técnica japonesa de sexagem dos pintainhos no primeiro dia de idade. Antes do desenvolvimento da incubadora elétrica, resultados médios de 50% de eclosão eram considerados satisfatórios (SALAZAR, 2003).

Na década de 90, o processo de incubação artificial contou com equipamentos de última geração e máquinas de grande capacidade de incubação de ovos, operando com sensores de temperatura, umidade, oxigênio, gás carbônico e ventilação, controlados por computadores e que permitem a aplicação prática dos conhecimentos

adquiridos, visando cada vez mais melhores resultados. A trajetória de êxito do processo de incubação artificial tem continuado nos dias recentes, sendo que grande parte das melhorias alcançadas é fruto de novos conhecimentos obtidos sobre a genética, nutrição, manejo e sanidade das aves reprodutoras. Melhoras futuras nas taxas de eclosão, otimização de custos, qualidade dos pintainhos e viabilidade criatória, estarão na dependência do desenvolvimento e aperfeiçoamento de tecnologias inovadoras (SALAZAR, 2003).

No processo de incubação artificial de ovos férteis, uma seqüência de atividades é desenvolvida no incubatório com a finalidade de assegurar o adequado desenvolvimento embrionário. Tais atividades se referem a recepção, seleção, armazenamento, pré-aquecimento, incubação e transferência dos ovos para os nascedouros, eclosão, retirada e seleção dos pintainhos e análise dos ovos não eclodidos.

2.1.1 Aspectos de qualidade e manejo dos ovos férteis antes da incubação

2.1.1.1 Características de qualidade dos ovos férteis

O principal propósito de um ovo fértil de aves é produzir um pintainho viável e saudável (FAIRCHILD, 2003). As características que expressam a qualidade dos ovos podem ser divididas em características de qualidade interna e externa. As características de qualidade externa incluem o tamanho, forma, limpeza, cor, integridade da casca e ausência de má formação de casca (DECUYPERE et al., 2001; NARUSHIM; ROMANOV, 2002). A qualidade interna refere-se às características de albúmen, gema e presença de manchas de sangue ou fragmentos da mucosa do oviduto no interior do ovo.

O peso do ovo pode influenciar a necessidade de aquecimento ou resfriamento durante a última semana de incubação (DEEMING, 1996). Em função da capacidade de perda de calor não aumentar proporcionalmente com o tamanho do ovo, ovos grandes apresentam maior dificuldade em perder calor metabólico produzido pelo embrião (FRENCH, 1997). Por outro lado, ovos pequenos resultam em menores taxas de

eclosão, o que pode ser explicado pela insuficiência de nutrientes necessários ao desenvolvimento do embrião (MCLOUGHLIN; GOUS, 1999). Estudos conduzidos por Bray e Iton (1974), Wilson (1991) e Silverside e Scott (2001) também indicaram que o peso do ovo é um fator determinante que afeta a eclosão e o peso da ave ao nascer. Em experimento realizado por Rosa et al. (2002), o peso do ovo aumentou com a idade da matriz e os melhores resultados de eclosão foram obtidos para os ovos com peso ao redor de 65 g. De acordo com Kirk et al. (1980), as maiores taxas de eclosão ocorrem nos ovos produzidos por matrizes com 44 semanas de idade.

O ovo incubável é composto em peso de, aproximadamente 66% de água e, normalmente, deve perder ao redor de 13% de umidade. No entanto, se a perda for excessiva antes da incubação, o percentual total de umidade perdida será maior que o requerido e em consequência o resultado da incubação será afetado (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002a). Além disso, French (2004) afirma que se deve obter de 12% a 14% de perda de água dos ovos aos 18 dias de incubação para bons resultados de eclosão. A perda de 12% de peso durante a incubação dos ovos é considerada ótima por vários autores (TULLETT, 1981; PEEBLES, 1986; DAVIS; ACKERMAN, 1987; DAVIS; SHEN; ACKERMAN, 1988). Valores acima ou abaixo do mesmo podem comprometer o desenvolvimento *in ovo*, o peso e a qualidade da ave recém-eclodida.

Segundo Gustin (1994), o ovo contém 31% de gema, 58% de albúmen e 11% de casca e membranas. O tamanho e a forma do ovo, aliados à porosidade da casca, afetam a perda de água durante a incubação, influenciando os requerimentos de temperatura e umidade, principalmente durante a última semana de incubação (DEEMING, 1996).

A casca do ovo é a principal barreira do embrião com relação ao meio externo. A espessura de casca e sua porosidade estão intimamente ligadas com a condutância da casca do ovo, que é um importante fator para trocas gasosas e perda de umidade durante a incubação (BAINS, 1994; SPARKS, 2002). Christensen e McCorckle (1982) afirmaram que a perda de peso dos ovos estava em função das características do ovo (estrutura de casca, estrutura de membrana e peso inicial do ovo) interagindo com as condições de incubação (temperatura, umidade e velocidade do ar). A casca é uma

barreira física que permite as trocas gasosas e após o 10º dia de incubação participa de 80% da formação esquelética do embrião (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2003).

A densidade aparente dos ovos é uma medida de cunho físico que avalia a densidade do ovo, a qual se relaciona basicamente com a espessura da casca, sendo responsável por variações nos resultados de incubação (ROSA; ÁVILA, 2000). Aves com idade intermediária entre 35 a 55 semanas produzem ovos com maior densidade aparente (1,075 a 1,090 g/mL H₂O), o que está relacionado a maiores índices de eclosão. Contudo, não só a idade, mas o estresse calórico, a deficiência de cálcio e vitamina D₃ e a relação inadequada entre cálcio e fósforo são os fatores que contribuem para a diminuição da densidade aparente, além das doenças virais que afetam o trato reprodutivo das aves. Portanto, a falta de integridade da casca dos ovos está relacionada ao maior grau de contaminação dos embriões e a maiores perdas de peso no período de incubação. Conseqüentemente, qualquer uma destas condições pode estar associada à redução dos índices de incubação (ROSA; ÁVILA, 2000).

De acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003), ovos com densidades inferiores a 1,080 g/mL H₂O apresentaram maior perda de umidade, estando sujeitos a maior número de trincas e mortalidade embrionária precoce. Além disso, a cada decréscimo de 0,005 g/mL H₂O na densidade aparente, os autores revelam um decréscimo potencial de eclosão de 3%.

A espessura de casca ideal está na faixa de 0,33 a 0,35 mm, sendo que valores inferiores a 0,27 mm representam perdas de incubação (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2003).

Vários métodos são usados para verificação da qualidade interna dos ovos, incluindo medidas de volume, forma, pH, espessura de albúmen, conteúdos de proteína ou sólidos totais do ovo (HUNTON, 1987), ressonância magnética ou ultrassônica (MISRA et al., 1980), iluminação (MONTGOMERY; STEWART, 1973), além da Unidade Haugh que é o mais usado e aceito método de verificação da qualidade interna dos ovos (LEDUR et al., 2002). A gema do ovo e, principalmente, a qualidade do albúmen influenciam o desenvolvimento embrionário e necessitam de maior atenção (BURKE; HENRY; ELEZAJ, 1997; PEEBLES et al., 2000). O albúmen do ovo é desidratado pelo embrião no início da incubação e envolvido num saco de albúmen pelo corioalantóide.

As proteínas do albúmen vão para o líquido amniótico e são recolhidas pelo embrião no final da incubação. As proteínas são então digeridas nos intestinos ou transferidas para o saco da gema para serem utilizadas na fase pós-eclosão (ROMANOFF, 1960; DEEMING, 1996).

2.1.1.2 Aquecimento dos ovos férteis antes do armazenamento

Vários trabalhos têm demonstrado que o aquecimento dos ovos pode causar efeitos benéficos sobre a eclodibilidade. Além disso, sabe-se que, em condições naturais, ocorre um avanço no desenvolvimento embrionário dos ovos de galináceos quando eles permanecem no ninho por 6 a 8 horas após a postura (JONES, 1986; FASENKO et al., 1991), pelo fato da temperatura do ninho estar acima do “zero fisiológico” ou do início do comportamento de chocagem pela fêmea (BOLELI, 2003).

Um estudo conduzido por Cherms (1959) indicou que o aquecimento de ovos de peruas a 38°C, antes do armazenamento, promoveu melhora na eclodibilidade, porém, somente em poedeiras cujos ovos apresentavam baixa taxa de eclosão (60% ou menos), o que também deve estar relacionado com um estágio menos avançado no desenvolvimento embrionário nesses ovos.

Segundo observações de Coleman e Siegel (1966), aquecer os ovos antes do armazenamento, em linhagens para alto peso corpóreo (HW) por 4 horas a 37,5°C acelera a embriogênese, reduzindo as diferenças de desenvolvimento embrionário em relação as linhagens de baixo peso (LW). Os valores de eclodibilidade para as linhagens LW (sem aquecimento), HW (com aquecimento) e HW (sem aquecimento) foram, respectivamente 78; 78,4 e 72%, demonstrando efeito positivo dessa prática manejo dos ovos no resultado da incubação.

De acordo com Decuypere e Michels (1992), o desenvolvimento embrionário pode estar ligado a observação de que tratamentos de calor periódicos durante o período de armazenamento dos ovos melhoraram e permitiram aos embriões restabelecer o desenvolvimento desproporcional e garantiram o requerido ponto de desenvolvimento para todos os tecidos de maneira proporcional. Ainda, segundo os autores, os resultados práticos indicam que um desenvolvimento parcial ocorre na

chamada temperatura sub-início de desenvolvimento que, ocorrendo além de um certo estágio, poderá interferir na viabilidade embrionária. Este achado também pode estar relacionado ao fato de que o aquecimento dos ovos submetidos a longo período de estocagem, melhora a eclodibilidade, pois permite ao embrião compensar o desenvolvimento (WILSON, 1991). No entanto, Scott e Mackenzie (1993) afirmaram que não houve avanço no desenvolvimento embrionário e, sim um aumento na taxa de mortalidade embrionária durante a incubação, quando os ovos foram submetidos ao aquecimento de 30°C por 24 horas antes do armazenamento por 7 dias.

A exposição de ovos recém-ovipositados a 21°C por 6 a 9 horas (antes da estocagem a 15°C por 3, 7 ou 14 dias), por sua vez, não altera o estágio de desenvolvimento embrionário em relação aos ovos que foram estocados imediatamente após a postura (BAKST; GUPTA, 1997), provavelmente pelo fato da temperatura utilizada (21°C) estar abaixo do “zero fisiológico”.

Fasenko et al. (2001a) afirmaram que os tratamentos de aquecimento de 6, 12 ou 18 horas não tiveram efeito sobre a eclosão dos ovos armazenados por 4 dias. No entanto, nos ovos armazenados por 14 dias, o tratamento de 6 horas de aquecimento aumentou significativamente a eclosão (79%) comparando-se com o não aquecimento (70,5%). Ademais, o aquecimento por 18 horas e armazenamento de 14 dias proporcionaram significativas reduções de eclosão quando comparados com os outros tratamentos de aquecimento antes do armazenamento por 14 dias. Os autores concluíram que há evidências de que embriões de ovos com completa formação do hipoblasto (submetidos ao pré-aquecimento de 6 horas) e armazenados por 14 dias apresentam vantagens de sobrevivência sobre embriões de ovos que não sofreram nenhum tipo de tratamento de aquecimento antes do armazenamento.

Em perus, o aquecimento dos ovos a 37,5°C, em ambiente com umidade relativa (UR) de 55% por 6, 7, 12 e 14 horas (antes do armazenamento a 17,4°C e UR de 66,3% por 4 e 14 dias), promoveu aumento na taxa de eclosão dos ovos aquecidos por 14 horas e estocados por 14 dias para níveis similares aos dos ovos não aquecidos e incubados apenas por 4 dias (FASENKO et. al., 2001b). Este fato parece estar relacionado com o maior avanço no desenvolvimento apresentado pelos embriões submetidos a períodos mais longos de aquecimento, reforçando dados de outros

autores, os quais sugerem que embriões em estágios mais avançados de desenvolvimento seriam mais resistentes à estocagem do que embriões mais jovens (BOLELI, 2003).

De acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002a), alguns estudos apresentaram resultados satisfatórios quando os ovos foram aquecidos entre 1 e 5 horas a 37,8°C quando comparados com ovos estocados diariamente a 10°C, concluindo que, para ovos estocados até 21 dias os efeitos são positivos, porém, para estocagem acima desse período os efeitos são negativos. Em outro estudo, Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b) afirmam que o aquecimento diário dos ovos armazenados apresenta restrições do ponto de vista prático devido às dificuldades de manejo e custo operacional. Portanto, o pré-aquecimento a 37,8°C por 5 horas para ovos estocados acima de 7 dias, imediatamente após a postura, seria a conduta mais adequada do ponto de vista prático e econômico.

Quando a temperatura ambiente é alta, o resfriamento lento do ovo pode resultar em baixa multiplicação celular e embriões anormais, afetando a eclodibilidade, portanto, recomenda-se que o ovo tenha sua temperatura reduzida para 27°C ao redor de 6 horas após a postura (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002b).

As condições ambientais às quais os ovos são submetidos antes do armazenamento devem ser muito bem controladas, pois são fatores que afetam a uniformidade temporal do desenvolvimento embrionário na incubação e a taxa de eclosão. Dessa forma, o estágio de desenvolvimento no qual o embrião se encontra no momento da estocagem, exerce papel importante sobre a viabilidade e eclodibilidade dos ovos (BOLELI, 2003).

2.1.1.3 Armazenamento dos ovos férteis antes da incubação

Embora seja comum a idéia, de que no momento da postura os ovos apresentam seu potencial máximo de eclosão, os ovos férteis podem ser estocados por vários dias sem perder a viabilidade e eclodibilidade (BOLELI, 2003). Entretanto, para isso acontecer, condições apropriadas devem ser mantidas, conclui o pesquisador.

O armazenamento dos ovos férteis é uma prática comum e necessária na incubação comercial, visando a efetiva programação dos nascimentos com posterior entrega dos pintainhos nas quantidades solicitadas pelos clientes. As condições de armazenamento dos ovos relacionam-se diretamente com as condições ambientais, principalmente temperatura, umidade, tempo de estocagem e viragem dos ovos.

Quanto mais prolongado for o tempo de estocagem dos ovos, menor será a taxa de eclosão (MARTIN, 2003; TONA, 2003). Além disso, o armazenamento aumenta o tempo de duração da incubação (MATHER; LAUGHLIN, 1976; MUAMBI; DECUYPERE; MICHELS, 1980), sendo isto uma consequência dos efeitos do armazenamento sobre o desenvolvimento embrionário (TONA, 2003). Para ovos estocados por longos períodos, o início do desenvolvimento embrionário é retardado (ARORA; KOSIN, 1966), a taxa de crescimento é lenta (MATHER; LAUGHLIN, 1977) e a taxa de produção de CO₂ é aumentada depois dos 18 dias de incubação (HAQUE et al., 1996; FASENKO et al., 2002). Por outro lado, Tona (2003) afirma que os efeitos da duração de armazenamento e estágios de desenvolvimento embrionário sobre a incubação necessitam de maiores investigações. É usualmente aceito que a incidência de embriões anormais, com células necróticas ou apoptóticas (células programadas para morrer) aumentam com o aumento do tempo de armazenamento (BLOOM et al., 1998).

De acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b), a utilização da prática de viragem dos ovos na sala de estocagem tem possibilitado melhorias na eclodibilidade, já que, quando não se utiliza o sistema de viragem dos ovos, após armazenamento por 5 e 10 dias têm-se verificado perdas de 0,8 e 2,8% na eclodibilidade, respectivamente. Os autores citam ainda que na maioria dos incubatórios, para curtos períodos de estocagem, é prática comum armazenar os ovos diretamente nas bandejas de incubação. A viragem dos ovos, deixando a ponta fina para cima durante períodos maiores de sete dias, é uma opção sugerida por Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b).

Os ovos devem ser mantidos abaixo da temperatura necessária para o início do desenvolvimento embrionário, porém não existe consenso no que constitui o chamado “zero fisiológico”.

A umidade da sala de armazenamento deve estar entre 70 e 85% para ajudar no controle da evaporação. Além da umidade, a temperatura de estocagem também é

considerada um ponto crítico. Decuypere e Michels (1992) consideram que a faixa de temperatura ideal está entre 19 a 28°C, no entanto, recomendações na faixa de 13 a 22°C são consideradas ideais por Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b). Gonzales e Cesário (2003) afirmaram que são necessários ambientes com temperatura abaixo do zero fisiológico para assegurar a parada completa do desenvolvimento embrionário até o momento da incubação.

Por outro lado, Ruiz e Lunam (2002), afirmaram que para períodos curtos (1 a 3 dias) de armazenamento, a temperatura de 20°C comparada com 16,5°C, reduziu as taxas de eclosão do total de ovos analisados. Além disso, os autores concluíram que para períodos longos (9 a 11 dias) de armazenamento, a temperatura de 16,5°C comparada com a temperatura de 10°C, diminuiu tanto a eclosão dos ovos férteis como o peso ao nascimento dos pintainhos. Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b) afirmaram que, para períodos curtos, os benefícios são maiores em temperaturas altas (15 a 16°C), enquanto que, para períodos superiores a cinco dias são indicadas temperaturas mais amenas (11 a 12°C). No mesmo sentido e de acordo com muitos autores, as revisões realizadas por Butler (1991) e Wilson (1991), indicam que ovos estocados por períodos maiores que 1 a 2 semanas necessitam de menores temperaturas (10 a 12°C). Contudo, pode existir influência do estágio de desenvolvimento embrionário no momento da oviposição sobre o tempo de estocagem, afetando os resultados de maneira positiva ou negativa, dependendo da linhagem, idade da matriz, ou condições ambientais (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002a).

Os períodos longos de estocagem devem ser evitados em matrizes velhas, pois elas iniciam a queda de eclosão antes que as matrizes jovens, devido a menor consistência do albúmen que favorece a flotação do blastoderma.

De acordo com Decuypere e Michels (1992), o prolongamento de um dia no tempo de estocagem pode reduzir em 1% a eclodibilidade e adicionar 1 hora no período de incubação. O armazenamento longo resulta em eclosões menores e tempos de incubação maiores quando comparados com os resultados de ovos armazenados por períodos mais curtos (FAIRCHILD, 2003).

A incubação simultânea de ovos de diferentes condições ou tempos de armazenamento, associada com variações nas condições no ambiente da incubadora podem afetar o período de incubação (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002b).

2.1.2 Manejo dos ovos férteis durante o processo de incubação

As máquinas de incubação, tanto de estágio único como de estágio múltiplo, são amplamente utilizadas pela avicultura industrial, sendo que o primeiro tipo de máquina é mais destinado aos incubatórios de reprodutoras e as de estágio múltiplo comumente empregadas nos incubatórios de frangos de corte.

Conforme Rosa e Ávila (2000), a eclosão é obtida pela relação entre o número de pintainhos nascidos e o total de ovos incubados, representando um índice geral que caracteriza o desempenho tanto da granja de reprodutores quanto do incubatório. Os autores afirmam que valores de 88% para eclosão refletem boas práticas de manejo na granja de reprodutores e no incubatório, ressaltando-se o manejo sanitário.

O atraso no tempo de incubação ou uma extensão maior desse período de tempo pode reduzir a eclodibilidade, quando o manejo estabelece a retirada em um tempo pré-fixado (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002b).

2.1.2.1 Temperatura ideal para incubação de ovos férteis

A temperatura é um dos fatores mais importantes entre aqueles que afetam a eclodibilidade (TONA, 2003), sendo que temperaturas baixas determinam atraso e as altas aceleram o desenvolvimento embrionário (GONZALES e CESÁRIO, 2003). Ancel e Visschedijk (1993) afirmaram que a temperatura ótima para o desenvolvimento do embrião da galinha está na faixa de 37,5°C a 38,0°C, além de proporcionar os melhores níveis de nascimentos e qualidade de pintainhos. A temperatura do embrião é dependente de três fatores: temperatura da incubadora, capacidade de transferência de calor da incubadora para o embrião e calor metabólico do próprio embrião (FRENCH, 1997).

Ovos incubados em altas temperaturas (38,8°C) nos 10 primeiros dias de incubação, eclodiram primeiro do que aqueles que foram incubados na temperatura de 35,8°C (DECUYPERE et al., 1979). A temperatura interna ideal dos ovos no momento que antecede a incubação é de 24 a 26 °C (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002a).

2.1.2.2 Umidade relativa do ar ideal para incubação de ovos férteis

A taxa de perda de peso do ovo do momento da incubação até a transferência dos mesmos para o nascedouro (de 1 a 19 dias) tem sido configurada como de grande relevância para otimização dos índices de incubação. De acordo com Rosa e Ávila (2000), a literatura tem indicado taxas de perda de peso de 11 a 14%, independente do tamanho do ovo e da sua densidade aparente. Tal perda de peso sofre influência direta do nível de umidade mantido na incubadora e da qualidade da casca do ovo. Perdas de peso fora das taxas mencionadas estão relacionadas com a diminuição da eclosão por elevação da mortalidade embrionária (ROSA; ÁVILA, 2000).

Para manter a umidade relativa (UR) dos ovos incubáveis, muitos autores argumentam que em UR ótima de 50 a 60%, os ovos deveriam perder 11,5 a 15% do peso inicial até o início da bicagem (MEIR; NIR; AR, 1984; VICK; BRAKE; WALSH, 1993; COLLINS, 1998; BRUZUAL et al., 2000). Segundo Rahn, Ar e Paganelli (1979), o conteúdo relativo de água do ovo aumenta durante a incubação ao menos que a água seja perdida, pois, durante a incubação, a maioria da energia necessária para o desenvolvimento embrionário é obtida dos depósitos de gordura da gema e, para cada grama de gordura queimada, uma quantidade semelhante de massa de água metabólica é gerada.

Umidade relativa muito alta impede o nascimento porque a quantidade necessária de água não é perdida e quando a UR é muito baixa ocorre desidratação (TAYLOR, 1999; BRUZUAL et al., 2000). Além disso, a desidratação das membranas pode afetar a permeabilidade de O₂, CO₂ e trocas gasosas durante os últimos dias de incubação (TONA, 2003).

Kosin e Konishi (1973) sugeriram que a eclosão pode ser melhorada reduzindo a quantidade de perda de vapor d'água durante o armazenamento, em função do

incremento da umidade ambiente. No entanto, isto não é recomendado devido a condensação da umidade que pode ocorrer e levar ao crescimento bacteriano na superfície da casca do ovo (MEIJERHOF, 1992). Os estudos de Ruiz e Lunam (2002) suportam a afirmação de Kosin e Konishi (1973), pois durante um longo período de armazenamento, a redução na temperatura de 16,5°C para 10°C melhorou a eclosão dos ovos férteis.

2.1.2.3 Ventilação e viragem dos ovos férteis durante a incubação

A ventilação na incubadora é influenciada pelo aquecimento, resfriamento, umidificação e circulação de ar. Ela tem a função principal de fornecer O₂ adequado e eliminar CO₂ da incubadora. Sugere-se que a concentração ótima de CO₂ em uma incubadora de múltiplo estágio está entre 0,1 a 0,4% e aumenta para 0,5 a 0,8% nos nascedouros.

Durante a incubação artificial, a viragem dos ovos tem reduzido o inadequado posicionamento da gema (ROBERTSON, 1961), prevenindo adesões anormais do embrião ou de membranas embrionárias com a membrana da casca (NEW, 1957) além de estimular o completo e oportuno encerramento do corioalantóide na ponta fina do ovo (DEEMING, 1996). O mesmo autor afirmou que a viragem é necessária para assegurar a utilização apropriada do albúmen pelo embrião em desenvolvimento ao longo do período normal de incubação. Vários trabalhos têm sido conduzidos, sugerindo a viragem dos ovos em diferentes idades de incubação (WILSON, WILMERING, 1987; ELIBOL; PEAK; BRAKE, 2003). No entanto, é comumente observado na indústria avícola o uso da viragem até o 18º dia de incubação, 24 vezes ao dia.

2.2 Análise de ovos não eclodidos (Embriodiagnóstico)

Após o nascimento dos pintainhos deve ser realizada a quebra dos ovos não eclodidos para avaliação da mortalidade embrionária precoce (1 a 5 dias), intermediária

(6 a 15 dias) e tardia (16 a 21 dias, de incubação) conforme (ROSA; ÁVILA, 2000). Nos ovos inférteis não há crescimento embrionário visível, observando-se um pequeno ponto denso, de cor branca, que corresponde ao disco germinativo não fertilizado (ADDA, 2003).

O embriodiagnóstico é a ferramenta capaz de diagnosticar problemas de eclosão e tem como foco principal facilitar a obtenção dos objetivos propostos, sendo que o processo de quebra é útil, pois permite identificar em que ponto se encontra em relação a esses objetivos (MARTIN, 2003).

De acordo com Rosa e Ávila (2000), existem diferenças no perfil das curvas de mortalidade embrionária devido ao status nutricional, envelhecimento e padrão sanitário das reprodutoras e dos ovos, assim como das práticas de manejo do ovo desde a postura até o momento da incubação, acrescido às condições de funcionamento do incubatório. Além disso, falhas observadas em qualquer ponto do processo podem influenciar negativamente os resultados de incubação.

Ao analisar a curva de mortalidade embrionária no período de 1 a 21 dias de incubação, observa-se que de 1 a 5 dias ocorre uma elevação dos índices de mortalidade. Na idade de 6 a 15 dias, a curva passa por uma estabilização e, posteriormente, observa-se uma nova elevação. Pode-se estabelecer que as taxas de mortalidade embrionária por fase assumem valores padrões médios de 3, 1 e 5%, correspondente as idades de 1 a 5, de 6 a 15 e de 16 a 21 dias de incubação, respectivamente. Portanto, valores acima desses indicam falhas em algum ponto do processo, sugerindo correções para que sejam otimizados os resultados de incubação.

De acordo com Fairchild (2003), existem dois períodos de pico de mortalidade embrionária que ocorrem durante a incubação, sendo eles na primeira (3%) e na última semana (2,5%) de incubação.

Excluindo-se os erros de incubação, existem muitos fatores que poderiam afetar a sobrevivência embrionária, entre eles, anormalidades cromossômicas letais, idade da galinha, nutrição da galinha, qualidade de casca, duração do período de armazenamento do ovo antes da incubação e mau posicionamento embrionário.

Tona (2003) observou que a mortalidade embrionária total aumentou significativamente à medida que se aumentou o período de armazenamento. Em ovos

armazenados por um período longo ocorreu alta taxa de mortalidade embrionária inicial (SITTMANN; ABPLANALP; ABBOTT, 1971; FASENKO et. al., 1992, 2001a; TONA, 2003).

Ruiz e Lunam (2002) afirmaram que um aumento na temperatura de armazenamento de 10°C para 16,5°C aumentou significativamente a porcentagem de morte embrionária inicial (13,6%) e diminuiu a porcentagem de morte embrionária tardia (12,5%). Além disso, a taxa de mortalidade embrionária subiu de 6,9% quando foi usada a temperatura de armazenamento de 10°C, para 8,6% quando a temperatura foi 16,5°C.

2.3 Eclosão e características do pintainho recém-eclodido

Assumindo-se que os efeitos do armazenamento, idade das aves e condições de incubação podem influenciar o desenvolvimento do embrião, sugere-se que estes efeitos também possam afetar as características do pintainho de 1 dia ou seu potencial de crescimento (TONA, 2003).

A qualidade do pintainho é definida de acordo com o julgamento de distintos especialistas (RAGHAVAN, 1999; DEEMING, 2000). De acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b), um pintainho de boa qualidade deve ser limpo, seco, livre de contaminações, com olhos brilhantes, alerta e interessado pelo ambiente ao redor, respondendo ao som, livre de deformidades e com o umbigo limpo, bem cicatrizado, sem saco vitelino ou membrana seca ao redor do mesmo. O corpo deve ser firme ao toque e sem sinais de estresse respiratório. As pernas devem ser normais, sem inchaço e sem deformação e lesão de pele. Os bicos devem ser bem formados, firmes e retos.

É importante salientar que a qualidade do pintainho está estritamente relacionada com as características do ovo incubado. Neste sentido, é fundamental a manutenção de suas propriedades reprodutivas para a produção de pintainhos viáveis e com alta qualidade (ROSA; ÁVILA, 2000).

O peso do pintainho ao nascer tem forte correlação com o peso do ovo de origem (WILSON, 1991; SILVERSIDE; SCOTT, 2001; SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2003;) e varia de 62% a 76% do peso inicial do ovo de origem (SHANAWANY, 1987;

YANNAKOPOULOS; TSERVENI-GOUSHI, 1987). Por outro lado, Decuypere e Michels (1992) e Borzemska et al. (1998) afirmaram que uma boa taxa de eclosão não está necessariamente correlacionada de modo positivo com alta porcentagem de pintainhos de boa qualidade. A variação do peso do pintainho ao nascimento ocorre em função da perda de peso do ovo (MAIORKA et al., 2003).

O aumento no tempo de incubação irá aumentar o tempo gasto pela ave fora do nascedouro, o qual por sua vez pode levar a desidratação (REIS; GAMA; SOARES, 1997) e subsequente redução no peso corporal ao nascimento.

Em levantamento realizado por Shanawany (1987), em 110 trabalhos realizados com frangos de corte, o peso médio do pintainho foi de 40,6 g, enquanto o peso médio do ovo foi de 59,4 g, determinando que o peso médio de eclosão (% peso do ovo) foi de 68,4%. Além disso, o autor sugere uma fórmula para predizer o peso da ave na eclosão, como sendo: $\text{Peso eclosão} = 0,96 \times (\text{Peso do ovo})^{0,90}$.

Elguera (1999) sugeriu a idéia de dimensionar o efeito negativo de incubar ovos não adequados, e com isso foi elaborada uma tabela a partir do informe mensal da Agri Stats (Junho 99). Do grupo dos dez piores produtores, se elegeu ao acaso um deles identificado como complexo A. Ao se fazer o estudo dos rendimentos na área de reprodução, verificou-se que não só os frangos produzidos por este grupo tinham problemas, já que se comprovou também o baixo índice de produção, a alta porcentagem de ovos comerciais e a baixa eclosão nos lotes de onde se produziram os ovos. Isto confirma o fato que ovos de má qualidade produzem frangos com rendimentos inferiores. O autor concluiu que além da alta mortalidade inicial verificou-se que os frangos não desenvolveram nem converteram o alimento eficientemente, sendo provável que o ponto inicial de toda esta má trajetória seja a qualidade inferior dos ovos incubados utilizados para este grupo.

Por outro lado, Pinchasov (1991) afirmou que a vantagem do alto peso inicial atribuído a pintainhos provenientes de ovos grandes diminui rapidamente depois do nascimento e o principal fator que afeta o peso corpóreo final é o consumo de ração.

Tona (2003) observou que os ovos que ficaram armazenados por períodos maiores (18 dias) proporcionaram aves com pior qualidade quando comparados com os pintainhos provenientes dos ovos que foram armazenados por 3 dias. Além disso, Tona

(2003) afirmou que, baseado nas informações de produtores, os pintainhos de pior qualidade resultavam em 200 a 300 g a menos de peso no abate do que pintainhos de boa qualidade.

O armazenamento dos ovos por 14 dias comparado com o armazenamento por 1 dia antes da incubação reduziu o peso do coração aos 12 dias de vida do embrião (CHRISTENSEN, et al., 2002). O peso embrionário de linhagens com baixas taxas de viabilidade foi parecido entre os embriões de ovos armazenados por 1 e 14 dias, mas na linhagem com alta taxa de viabilidade, o armazenamento diminuiu o peso corporal e de órgãos (CHRISTENSEN, et al., 2002).

Lilja e Olsson (1987) sugeriram que entre os embriões de aves selecionados para rápido crescimento após a eclosão, a organogênese é caracterizada por crescimento preferencial dos órgãos de fornecimento (coração, fígado e intestinos) ao invés dos órgãos de demanda (músculos e sangue).

Os efeitos das condições do armazenamento podem aumentar fatores internos, tais como a habilidade do embrião de produzir energia e obter nutrientes do ovo (LIJLA; OLSSON, 1987; CHRISTENSEN et al., 2001). Conseqüentemente, o potencial de crescimento de cada tecido nos vários estágios de diferenciação pode também ser afetado (RICKLEFS, 1987).

2.4 Aspectos do desenvolvimento embrionário

Quando o ovo é colocado em condições de incubação, isto é, temperatura de 37,5°C, umidade relativa de 60%, oxigenação e viragem adequadas, o desenvolvimento embrionário é retomado e o embrião se desenvolverá completamente em mais ou menos 21 dias (504 horas) (GONZALES; CESÁRIO, 2003). Durante o desenvolvimento embrionário das aves, como de todos os organismos multicelulares, o futuro das células, ou seja, proliferação, diferenciação ou morte, é determinado por estímulos do desenvolvimento e por estresse ambiental (BOLELI, 2003).

O desenvolvimento embrionário começa aproximadamente 3 horas após a fecundação, e continua progredindo paralelamente à formação do ovo no interior do oviduto da ave (GONZALES; CESÁRIO, 2003). De acordo com Boleli (2003), como a

duração da formação do ovo é de mais ou menos 26 horas, o desenvolvimento embrionário no interior do organismo da ave leva aproximadamente 22 horas.

De acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003), no momento da oviposição, a maior parte dos embriões está na fase de pré-gástrula ou, no máximo, no estágio inicial de gastrulação. O estágio de desenvolvimento embrionário no momento da postura influencia a eclodibilidade, sendo que, estágios muito avançados ou muito precoces são prejudiciais. Além disso, há indicações de que a melhor eclodibilidade é observada quando o desenvolvimento embrionário está entre 23 e 27 horas (GONZALES; CESÁRIO, 2003).

A variabilidade do estágio de desenvolvimento embrionário no momento da oviposição é conhecida (BUTLER, 1991), sendo que o desenvolvimento do embrião pode vir a ser diferente para diferentes linhagens genéticas, bem como para as idades de matrizes.

O embrião nas fases iniciais de desenvolvimento age como um organismo de sangue frio, sofrendo influência direta da temperatura ambiente (GONZALES; CESÁRIO, 2003). De acordo com Meijerhof (1994), quando a temperatura ambiente é alta, o ovo deve ter sua temperatura reduzida para 27°C ao redor de 6 horas após a postura, pois o resfriamento lento do ovo pode resultar em baixa multiplicação celular e embriões anormais, afetando a eclodibilidade. Além disso, o autor cita que para não ocorrer aumento de temperatura dos ovos pela ave e/ou pela natureza do material utilizado como cama, principalmente em dias quentes, é recomendado que ocorram coletas freqüentes.

Embriões no estágio pré-gástrula na oviposição são menos aptos a suportar prolongados tempos de estocagem do que aqueles no estágio de gástrula (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002b).

Decuypere e Michels (1992) verificaram que em algumas linhagens os ovos são postos em um estágio precoce do desenvolvimento de blastoderme e que o tratamento térmico, por uma ou poucas horas diárias, antes e durante a estocagem dos ovos melhoram a eclodibilidade.

Na oviposição os ovos têm alta concentração de CO₂, que começa a ser eliminado após a postura e durante a estocagem, alterando o pH do albúmen, sendo

este processo importante, pois a ativação do desenvolvimento precoce é controlada por enzimas pH dependentes (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2002a). Tanto as excessivas quanto diminuídas perdas de CO₂ são prejudiciais, pois causam, respectivamente, altos e baixos níveis de pH. Por isso também que ovos frescos e ovos velhos não eclodem tão bem quanto aqueles estocados por três a quatro dias. Além disso, Tazawa e Whittow (2000) afirmam que o processo de perda de CO₂ é também dependente da temperatura e pode ser estimulado pelo resfriamento após a oviposição.

Tona (2003) observou que, quando os ovos foram armazenados por 3 dias, as eclosões aconteceram entre 478 e 494 horas de incubação, com pico de 486 horas, enquanto nos ovos armazenados por 18 dias, a maioria dos nascimentos começou a aumentar com 484 horas atingindo o pico de nascimentos com 504 horas.

Arora e Kosin (1966) constataram a presença de núcleos fragmentados (necróticos) nas células da blastoderme de ovos recém-ovipositados e de ovos estocados (a 12,8°C), e aumento da frequência dos mesmos em torno de 2% após 1 dia de estocagem e de 4% após 14 dias de estocagem. Recentemente, em estudo semelhante, Bloom et al. (1998) encontraram 3,1% de células apoptóticas (alterações nucleares, entumescimento nuclear, presença de corpos apoptóticos) na blastoderme de ovos não incubados, 14% após estocagem a 12°C (14 dias) e 10% quando submetidos a choque térmico a 48°C. Tais estudos mostram que: (1) morte celular pode ocorrer a temperatura abaixo do zero fisiológico, (2) morte de células da blastoderme durante estocagem envolve necrose e/ou apoptose e (3) aumento na taxa de morte celular durante períodos longos de estocagem pode responder, pelo menos em parte, pelo aumento de mortalidade embrionária durante a incubação. Há, também, a possibilidade de morte celular programada estar ocorrendo como forma de eliminação de blastômeros geneticamente aberrantes, antes de sua proliferação (JACOBSEN; WEIL; RAFF, 1997). Os embriões das aves são poiquilotermos durante a maior parte do período de incubação, portanto, não aumentam a produção de calor metabólico para manutenção de sua temperatura corpórea quando há diminuição da temperatura do meio (FRENCH, 1997; TAZAWA et al., 2001).

2.5 Aspectos da fisiologia do embrião

O blastoderme contribui com o gradiente de pH, levando íons de hidrogênio para o fluido embriônico e HCO_3 para o albúmen. Atua também transportando fluidos do albúmen, gerando energia osmótica, aumentando o volume da cavidade sub-embriônica durante o desenvolvimento inicial que liquefaz a gema e aumenta a viscosidade do albúmen. Todo esse mecanismo fisiológico ajuda a disponibilizar gema para o consumo embrionário e alcaliniza o albúmen tornando-o apto a formação da linha primitiva (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA, 2003).

No momento da oviposição, o ovo possui temperatura interna semelhante à temperatura corporal da ave. Após 15 minutos da oviposição inicia-se o processo de esfriamento físico, quando ocorre retração do albúmen, criando um vácuo entre as membranas externa e interna, que succiona o ar para dentro do ovo, formando a câmara de ar na região de maior concentração de poros, que se completa 3 a 4 horas após a postura.

Geers et al. (1983), Fassenko et al. (2002) e Janke et al. (2002) relataram um aumento da produção de calor com o aumento do desenvolvimento do embrião. Além disso, de acordo com French (2004) linhagens de crescimento rápido têm maior produção de calor metabólico e o tempo de incubação (21 dias) que representava 21% do tempo de vida do frango, em 2001 passou a 32% e, em 2011 passará a representar 36%, conseqüentemente haverá menos tempo para corrigir os problemas de incubação.

A temperatura do embrião depende da temperatura do ar, da produção de calor pelo embrião e da capacidade da transferência de calor do ovo para o ar circulante nas máquinas ou vice-versa (MEIJERHOF, 2003).

French (2004) afirmou que a temperatura de incubação deve ser a temperatura do ovo e não a temperatura do ponto de controle da máquina.

Meijerhof (2003) e French (2004) recomendaram o uso de termômetro infravermelho de ouvido, como os utilizados por humanos, para verificação da temperatura da superfície de casca, já que esta apresenta forte correlação com a temperatura embrionária.

Meijerhof (2003) afirmou que diferenças na temperatura do embrião de 2°F resultou em diferenças significativas para melhorar o crescimento e conversão alimentar em frangos com 42 dias de idade.

2.6 Aspectos da maturação do trato gastrointestinal

O desenvolvimento do sistema gastrointestinal é retardado sob condições de jejum, podendo estar relacionado com o atraso na utilização da gema. Além disso, o atraso no fornecimento de alimento leva a alterações na morfologia dos microvilos e mudanças fisiológicas, tais como profundidade de cripta (MAIORKA et al., 2003), sendo que esses defeitos podem contribuir ao baixo desempenho dos frangos (PINCHASOV; NOY, 1993).

À medida que o embrião cresce, o saco vitelino regride no tamanho e vai sendo interiorizado na linha do intestino médio embrionário, até que, finalmente, à eclosão, seja incorporado ao pequeno intestino do pintainho onde estará presente ainda, por vários dias, após a eclosão (MICHEL; SCHWARZE, 1970).

De acordo com Gonzales e Cesário (2003), com 18 horas de vida do embrião, ocorre o início da formação do trato alimentar e conforme Maiorka et al. (2003), o trato gastrointestinal de pintainhos, oriundos de matrizes mais velhas, parece estar mais desenvolvido à eclosão, e isso pode contribuir para um melhor desempenho nesse período e também para uma adaptação mais rápida desses animais à alimentação exógena.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e período

Um experimento com ovos férteis de reprodutoras pesadas foi realizado no Incubatório Experimental do Setor de Aves do Departamento de Genética, na área experimental denominada “Sertãozinho”, localizada no Campus da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em Piracicaba – SP, no período de 13 de abril a 18 de maio de 2004.

3.2 Delineamento estatístico e material experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3, com os fatores: Tempo de aquecimento antes do armazenamento (37°C por 0, 6 e 12 horas) e Tempo de armazenamento antes da incubação (4, 9 e 14 dias a 12°C), totalizando 9 tratamentos com 22 repetições de 10 ovos cada (Tabela 1). Os procedimentos de aquecimento e armazenamento dos ovos estão descritos no próximo item.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento e respectivas colheitas de ovos

Tratamento	Tempo de aquecimento (horas)	Tempo de armazenamento (dias)	Colheitas
T1	0	4	3 ^a colheita (5 dias depois da 2 ^a)
T2	6	4	
T3	12	4	
T4	0	9	2 ^a colheita (5 dias depois da 1 ^a)
T5	6	9	
T6	12	9	
T7	0	14	1 ^a colheita (início do experimento)
T8	6	14	
T9	12	14	

Os ovos utilizados no experimento foram produzidos por matrizes da linhagem comercial Cobb com 44 semanas de idade, sendo colhidos em granja comercial localizada na região de São Carlos/SP e transportados imediatamente até o incubatório experimental. Em cada uma das três colheitas foram selecionados 710 ovos, totalizando 2130 ovos. Dos 710 ovos obtidos em cada colheita, 50 deles foram coletados aleatoriamente visando a avaliação de certas características para a padronização do material experimental, como peso, densidade aparente, porcentagem e espessura de casca e porcentagens de albúmen e de gema. Além disso, para reduzir a possibilidade de contaminação dos ovos e desuniformidade de desenvolvimento embrionário nas amostras, os ovos do experimento foram obtidos dos ninhos na segunda colheita do dia.

Após a colheita, os ovos foram submetidos à fumigação do tipo simples com a utilização de $7,7 \text{ g/m}^3$ de paraformaldeído por 15 minutos. As três diferentes colheitas foram realizadas no mesmo aviário do núcleo criatório das reprodutoras.

Na entrada dos ovos no incubatório experimental, eles foram submetidos à fumigação do tipo simples utilizando 20ml de formol líquido por 20 minutos, identificados, pesados dez a dez e distribuídos aleatoriamente nas bandejas de incubação. O período estimado entre a colheita dos ovos e início do experimento foi de 4 horas.

3.3 Procedimentos para o aquecimento, armazenamento e incubação dos ovos.

Para o aquecimento e armazenamento os ovos foram separados em bandejas e identificados por repetição e tratamento. Assim que iniciou-se o período de incubação, a posição de cada uma das repetições dentro de cada uma das bandejas de incubação foi sorteada aleatoriamente. Para evitar a fuga e/ou mistura das aves após o nascimento, os ovos foram colocados em cestas plásticas, quando da transferência para o nascedouro.

3.3.1 Aquecimento e armazenamento dos ovos

Como indicado na Tabela 1, os ovos da 1ª colheita foram distribuídos para compor os tratamentos T7, T8 e T9. O carrinho contendo os ovos do T7 foi diretamente armazenado em câmara fria, com temperatura controlada na faixa de 11 a 12°C, por 14 dias (Figura 1). Simultaneamente, os ovos dos tratamentos T8 e T9 foram colocados em incubadora com temperatura em torno de 37,5°C para os respectivos tempos de aquecimento. Após 6 horas de aquecimento, retirou-se os ovos do T8 da incubadora e 1 hora após essa retirada, os mesmos foram armazenados na câmara fria. Nesse período de 1 hora, os ovos ficaram em temperatura ambiente para a devida aclimação evitando a ocorrência de choque térmico na sala de armazenamento. Os mesmos procedimentos foram adotados para os ovos do tratamento T9, após 12 horas de aquecimento. As mesmas condições e procedimentos descritos anteriormente, foram mantidas quando da 2ª (T6, T5 e T4) e da 3ª (T3, T2 e T1) colheitas dos ovos.

Figura 1 – Câmara de armazenamento dos ovos

3.3.2 Incubação e eclosão dos ovos

Após o armazenamento na câmara fria pelos respectivos tempos de armazenamento, os ovos foram retirados e colocados para ambientação (pré-aquecimento) na sala de incubação por um período de 5 horas. Em seguida, foram transferidos para incubadora Avimatic® (Figura 2) com capacidade para 14400 ovos,

onde permaneceram durante 442 horas (18 dias e 10 horas). Foi usado um esquema de fumigação com paraformaldeído (15 g por 15 minutos), com 12 horas, 7 dias e 14 dias de incubação. Após o período de 18 dias e 10 horas, os ovos foram transferidos para o nascedouro Avimatic® (Figura 3), sendo que a cada 6 horas até o final dos nascimentos era renovado o formol liquido utilizado para a fumigação. Foram realizadas duas retiradas de aves recém-eclodidas, sendo uma com 480 horas e outra com 498 horas de incubação total. Os procedimentos de manejo, tanto da incubadora como do nascedouro, utilizados no experimento seguiram os padrões comerciais, em termos de viragem e transferência dos ovos, e controle de temperatura e umidade.

Figura 2 – Incubadora e carrinhos de incubação usados para aquecimento dos ovos antes do armazenamento e posterior incubação

Figura 3 – Nascedouro

3.3.3 Ambiente de máquinas e ovos

Em cada ambiente por onde os ovos passaram foi instalado um data-logger Hobo®, para registrar temperatura e umidade ambientes, a cada 15 minutos no decorrer do experimento. Além disso, foram registradas em planilhas, as temperaturas da superfície externa dos 2 primeiros ovos de cada repetição, utilizando para tal um termômetro infravermelho auricular de uso humano. Foram registradas as temperaturas a cada 2 horas, até completarem 12 horas de armazenamento. Quando completou-se o período de aquecimento, as temperaturas passaram a ser aferidas a cada 24 horas, considerando o horário de início do experimento no primeiro dia.

3.4 Características avaliadas

3.4.1 Perda de peso dos ovos durante o armazenamento

O peso dos ovos de cada repetição foi registrado quando da chegada ao incubatório e ao final do período de armazenamento para calcular a porcentagem de perda de peso nesta fase experimental.

3.4.2 Perda de peso dos ovos durante a incubação

O peso dos ovos de cada repetição foi registrado ao final do período de armazenamento e ao término do período de permanência nas incubadoras para calcular a porcentagem de perda de peso nesta fase experimental.

3.4.3 Perda total de peso dos ovos durante o experimento

O peso dos ovos de cada repetição foi registrado quando da chegada ao incubatório e ao término do período de permanência nas incubadoras para calcular a porcentagem de perda de peso durante o período compreendido entre o armazenamento e a incubação.

3.4.4 Porcentagem de ovos bicados

No momento da realização do manejo relativo a transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro foi registrado, para cada repetição, o número de ovos que apresentavam bicadas na casca para o cálculo da porcentagem de ovos bicados.

3.4.5 Porcentagem de eclosão

Foram realizadas duas retiradas de pintainhos do nascedouro (Figura 4), uma com 480 horas e outra com 498 horas de incubação total. Para cada retirada foram registrados os números de aves nascidas em cada repetição para o cálculo da porcentagem de eclosão, considerando também o número de ovos incubados.

Figura 4 – Pintainhos recém eclodidos.

3.4.6 Análise de ovos não eclodidos (Embriodiagnóstico)

Ao final do período das 498 horas de incubação total e após a retirada dos pintainhos, todos os ovos não eclodidos foram colhidos para a realização do embriodiagnóstico. Foram registradas a mortalidade embrionária, a qual foi classificada em inicial (de 1 a 7 dias), média (de 8 a 14 dias) e final (de 15 a 21 dias), ovos bicados não eclodidos (Figura 5), embriões mal-posicionados, embriões mal-formados e ovos contaminados (Figura 6).

Figura 5 – Ovo bicado não eclodido

Figura 6 – Ovo contaminado

3.4.7 Peso vivo dos pintainhos de 1 dia

Para cada horário de nascimento (480h e 498h), os pintainhos foram separados por repetição e tratamento para serem pesados. O peso foi expresso em gramas por ave (Figuras 7 e 8).

Figura 7 – Pesagem dos pintainhos por repetição e tratamento

Figura 8 – Separação, por tratamento, das aves nascidas

3.4.8 Peso relativo de determinados órgãos dos pintainhos

Para cada horário de nascimento (480h e 498h), quatro pintainhos recém-eclodidos foram separados aleatoriamente por repetição e tratamento, identificados, pesados (Figura 9) e sacrificados para colheita de órgãos (fígado, coração, saco vitelino, duodeno, jejuno, íleo, bursa, moela e proventrículo, cecos e reto) que foram

pesados (Figura 10), para obtenção dos respectivos pesos relativos expressos em porcentagem do peso corporal.

Figura 9 – Pesagem do pintainho que foi sacrificado para obtenção dos pesos relativos de determinados órgãos

Figura 10 – Pesagem do saco vitelino de pintainho de 1 dia de idade para cálculo do peso relativo

3.4.9 Histologia e morfometria das vilosidades do duodeno

Para as análises histológicas das vilosidades do duodeno foram utilizadas quatro aves recém-eclodidas de cada tratamento e de cada horário de nascimento (480h e

498h), sendo que de cada ave foi seccionada uma porção de 3 cm localizada na região média do duodeno. Posteriormente, a amostra foi fixada em solução Bouin, que é um fixador de ação rápida (composto de 70% de solução saturada de ácido píttrico, 25% de formol e 5% de ácido acético). Após 24 horas de fixação, as amostras foram transferidas para álcool 70%. Em seguida, foi realizada a inclusão em parafina, acompanhando o procedimento descrito a seguir: álcool 70% por 1 hora, álcool 95% por 1 hora, álcool absoluto I por 1 hora, álcool absoluto II por 1 hora, xilol I por 1 hora, xilol II por 1 hora, parafina I por 1 hora, parafina II por 1 hora e parafina para inclusão.

Após a inclusão da parafina e do resfriamento dos blocos, procederam-se os cortes com espessura de 6 µm com a utilização do micrótomo semi-automático LEICA RM2055®, sendo que os cortes foram retirados com lâminas, as quais, depois de secas foram colocadas em estufa para eliminar o excesso de parafina. Em seguida, foi realizada a coloração com hematoxilina e eosina, seguindo os seguintes procedimentos para desidratar e corar: xilol I por 10', xilol II por 10', álcool absoluto por 3', álcool 95% por 3', álcool 70% por 3', lavar em água corrente por 5', passar pela H₂O deionizada, hematoxilina por 1 a 2', lavar em água corrente por 5', passar pela H₂O deionizada, eosina por 45'' a 1', lavar em água corrente por 10', passar pelo álcool 95%, passar pelo álcool absoluto I, passar pelo álcool absoluto II, passar pelo álcool xilol (1:1), passar pelo xilol diafanizador, passar pelo xilol intermediário, xilol montável e montagem da lâmina utilizando bálsamo do Permount.

Foram utilizadas 30 vilosidades de cada pintainho, para avaliação das características de profundidade de cripta e altura, largura e perímetro de vilosidade. Os resultados foram expressos em µm. As imagens foram obtidas com o auxílio do microscópio Zeiss Axioplan 2® com aumento de 25x, sendo que a digitalização e a análise das mesmas foram realizadas através da câmera Zeiss MC80 DX® e do programa Axiovision 4.1 ®.

Figura 11 – Esquema de análise histológica intestinal analisada

3.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados conforme delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3, com o auxílio do procedimento General Linear Models do pacote estatístico SAS®, versão 8 (1999). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Temperatura e umidade relativa dos ambientes

A Tabela 2 indica a temperatura e umidade relativa média de cada ambiente, aos quais os ovos férteis foram expostos durante o período experimental.

Tabela 2 – Temperatura e umidade relativa média durante os processos de aquecimento dos ovos em cada colheita, da sala de armazenamento, da sala de ambientação, da incubadora e do nascedouro.

Local	Temperatura (°C)	Umidade Relativa (%)
1ª colheita (T7, T8, T9)	36,84	65,8
2ª colheita (T4, T5, T6)	36,81	55,3
3ª colheita (T1, T2, T3)	37,12	62,9
Armazenamento	12,06	76,5
Ambientação por 5 horas antes incubação	21,33	75,6
Incubadora	37,61	55,9
Nascedouro	36,37	60,7

No levantamento realizado sobre os trabalhos que utilizaram a mesma técnica de aquecimento dos ovos férteis antes do armazenamento, verificou-se o emprego de diferentes temperaturas. No presente estudo, as temperaturas de aquecimento as quais os ovos foram submetidos antes do armazenamento foram ligeiramente menores do que as temperaturas ótimas preconizadas por Cherms (1959) que era de 38°C, Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002a, 2002b) que era de 37,8°C, Coleman e Siegel (1966) e Fassenko et al. (2001a, 2001b), que era de 37,5°C, além de ficar maior que as temperaturas utilizadas nos estudos de Scott e Mackenzie (1993) que era de 30°C e aquela do estudo de Bakst e Gupta (1997), que era de 21°C.

Como citado por Wilson (1991) e Decuypere e Michels (1992), o desenvolvimento embrionário pode estar ligado aos tratamentos de aquecimento antes e/ou durante o período de armazenamento dos ovos. Fasenko et al. (2001b) observaram este aumento em ovos de peruas, sendo que os embriões que sofreram 12 horas de aquecimento antes do armazenamento estavam na fase de hipoblasto e aqueles que não sofreram este aquecimento não tinham completado a formação da área pelúcida ou recém estavam nesta fase de vida. Como já era esperado, Fasenko et al. (2001a), utilizando embriões de galinhas, observaram que com o aumento do tempo de aquecimento, maior foi o desenvolvimento embrionário antes do período de armazenamento. No presente estudo, não foram avaliados os estágios de desenvolvimento embrionário nem antes nem depois dos tratamentos de aquecimento para comprovação do real estágio embrionário dos ovos no momento do armazenamento.

Como citado por Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002a), pode existir influência do estágio de desenvolvimento embrionário na oviposição sobre o tempo de estocagem, afetando os resultados de maneira positiva ou negativa, dependendo da linhagem, idade da matriz, ou condições ambientais. Além disso, Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003) informaram que o estágio de desenvolvimento embrionário na oviposição é característico do genótipo, sendo que existem diferenças nesse período entre as linhagens. Diferentes genótipos têm diferentes períodos de incubação e seus embriões podem diferir na eficiência de utilização de nutrientes (BLYTH; PUN; SANG, 1965). Por isso, devem ser realizados outros estudos avaliando a mesma técnica de aquecimento antes do armazenamento de ovos provenientes de diferentes linhagens e idades de matriz.

Basicamente, devem-se armazenar os ovos abaixo do chamado “zero fisiológico”. No entanto, existem divergências sobre a melhor temperatura para ovos armazenados antes da incubação. Alguns autores como Ruiz e Lunam (2002) e Schmidt, Figueiredo, Ávila (2002b) afirmaram que, para períodos curtos, os benefícios são maiores em temperaturas altas (15 a 16°C), enquanto que para períodos superiores a cinco dias, são indicadas temperaturas mais amenas (11 a 12°C). De acordo com muitos autores, conforme revisões realizadas por Butler (1991) e Wilson (1991),

estocagem de ovos por períodos maiores que 1 a 2 semanas necessitam de menores temperaturas (10 a 12°C).

A Cobb (2002) recomenda temperaturas entre 15°C a 18°C para os tempos de armazenamento utilizados no experimento. De maneira geral, Schmidt, Figueiredo, Ávila (2003) afirmam que estas devem ficar entre 13 a 22 °C. Por outro lado, Decuypere e Michels (1992) consideram que a faixa de temperatura ideal está entre 19 a 28°C.

As condições apropriadas para manter a viabilidade e desenvolvimento embrionário devem ser mantidas durante o período de estocagem (BOLELI, 2003). Dentre elas, a temperatura e umidade são as principais. No presente estudo, a temperatura de armazenamento foi similar àquela (11,5°C) utilizada por Fassenko et al. (2001a). Esta temperatura foi escolhida em função do maior tempo de armazenamento dos ovos ser de 14 dias, o que é considerado um período longo.

Outra condição importante segundo Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b) é a viragem dos ovos durante o período de estocagem, uma técnica que pode melhorar as taxas de eclosão. No entanto, no presente estudo este procedimento não foi realizado.

A umidade da sala de armazenamento esteve dentro da faixa permitida de acordo com Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b).

A temperatura (21,3°C) e o tempo (5 horas) no período compreendido entre o armazenamento e a incubação ficou abaixo da preconizada tanto pela Cobb (2002) que eram, respectivamente 25°C e 6 horas, como por Schmidt, Figueiredo e Ávila (2002b) que indicam temperaturas na faixa de 24 a 26°C. Além disso, Fassenko et al. (2001a) utilizaram uma fonte de aquecimento regulada em 24°C e tempo de 5 horas nesta fase do processo. Cabe ressaltar que no presente estudo, os ovos ficaram em temperatura ambiente, não recebendo fonte externa de calor.

As temperaturas e umidades que foram utilizadas durante as fases de incubação e de nascedouro ficaram dentro das normais preconizadas pela Cobb (2002), bem como dos valores preconizados na prática pela indústria avícola.

4.2 Perfil qualitativo dos ovos férteis utilizados no experimento

Realizou-se a análise da qualidade interna e externa em uma amostra de 50 ovos de cada colheita para verificar o perfil desses ovos nas três diferentes colheitas, pelo fato de ter havido diferença de 5 dias entre cada uma delas. Preferiu-se esse método para que os ovos fossem incubados ao mesmo tempo e fossem controlados os possíveis erros ocasionados pela incubação em máquinas diferentes. Como verificado nas Tabelas 3 e 4, os ovos analisados apresentaram praticamente o mesmo perfil nas três colheitas, tanto para a qualidade interna como externa, não sendo observadas diferenças significativas para as características analisadas, demonstrando que os ovos provenientes de diferentes colheitas apresentavam praticamente as mesmas características.

Tabela 3 – Perfil da qualidade interna dos ovos férteis utilizados no experimento.

Colheita	Gema (%)	Albúmen (%)
Colheita 1	29,79	61,10
Colheita 2	29,60	61,38
Colheita 3	29,52	61,63
PROBABILIDADES (p)		
P > F	0,7348	0,3565
C.V. (%)	5,97	2,98

Nenhuma diferença significativa entre as médias ($p > 0,05$)

A gema do ovo e, principalmente, a qualidade do albúmen influenciam o desenvolvimento embrionário (BURKE; HENRY; ELEZAJ, 1997; PEEBLES et al., 2000). No entanto, não foram detectadas diferenças nas três colheitas realizadas, evidenciando o mesmo padrão dos ovos utilizados no experimento.

Não foram realizadas quebra de ovos para avaliação da qualidade interna e externa após os tratamentos de aquecimento e/ou armazenamento. No entanto, como citado por Tona (2003), o efeito do tempo de armazenamento e seu conseqüente aumento de pH do albúmen na taxa de sobrevivência embrionária, eclodibilidade e

qualidade dos pintainhos não está completamente entendido. Sugere-se que, com o aquecimento prévio, o albúmen seja melhor aproveitado pelo embrião ou seu pH fique melhor, mas esta hipótese também precisa ser verificada.

Tabela 4 – Perfil da qualidade externa dos ovos férteis utilizados no experimento.

Colheita	Peso ovo (g)	Casca (%)	Espessura casca (mm)	Densidade aparente (g/mL H ₂ O)
Colheita 1	66,29	9,11	0,43	1,0820
Colheita 2	66,98	9,02	0,43	1,0821
Colheita 3	66,57	8,85	0,43	1,0805
PROBABILIDADES (p)				
P > F	0,7321	0,1932	0,6530	0,1954
C.V. (%)	6,57	7,89	7,33	0,45

Nenhuma diferença significativa entre as médias ($p > 0,05$)

Sabe-se que o peso do ovo pode influenciar a necessidade de aquecimento ou resfriamento durante a incubação, além das taxas de eclosão (BRAY; ITON, 1974; WILSON, 1991; DEEMING, 1996; FRENCH, 1997; MCLOUGHLIN; GOUS, 1999; SILVERSIDE; SCOTT, 2001). Como foi observado que não houve diferença significativa entre o peso dos ovos das três diferentes colheitas, considera-se que não houve influência desta característica nos resultados do presente experimento. Além disso, o peso médio de ovo obtido neste estudo (66 g) está bem próximo daquele observado por Rosa et al. (2002) como sendo os que resultaram nas melhores taxas de eclosão (65 g).

Caso as espessuras de casca apresentadas pelos ovos das diferentes colheitas fossem significativamente diferentes poderiam haver problemas com os resultados de eclosão, pois como a casca do ovo é a principal barreira do embrião com relação ao meio externo e responsável pelas trocas gasosas e perda de umidade durante a incubação (BAINS, 1994; SPARKS, 2002), qualquer alteração nela poderia interferir nos resultados. No entanto, os valores obtidos estão acima das consideradas ideais por Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003).

Os valores de densidade aparente apresentados pelos ovos das três colheitas, não foram diferentes entre si e ficaram dentro de uma faixa aceitável de acordo com a literatura. Por exemplo, aves com idade intermediária entre 35 a 55 semanas produzem ovos com maior densidade aparente (1,075 a 1,090 g/mL H₂O), o que está relacionado a maiores índices de eclosão (ROSA; ÁVILA, 2000). Por outro lado, Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003) afirmaram que ovos com densidades inferiores a 1,080 g/mL H₂O apresentaram maior perda de umidade, estando sujeitos a um maior número de trincas e mortalidade embrionária precoce. Além disso, a cada decréscimo de 0,005 g/mL H₂O na densidade aparente, Schmidt, Figueiredo e Ávila (2003) revelam um decréscimo potencial de eclosão de 3%.

4.3 Temperatura da superfície da casca dos ovos

Para a característica temperatura da superfície de casca, realizou-se o registro dos valores diários e utilizaram-se as médias dos 18 dias de incubação, sendo que ocorreu interação entre os fatores estudados (Tabela 5).

Quando se analisou o fator armazenamento, verificou-se que os ovos armazenados por curtos períodos não apresentam diferenças significativas. No entanto, quando armazenados por períodos maiores, ocorreu diminuição da média dos 18 dias da temperatura de superfície de casca de ovos aquecidos por 6 e 12 horas.

Observou-se que, quando os ovos foram aquecidos por 0 e 6 horas, não houveram diferenças significativas nos diferentes tempos de armazenamento. No entanto, quando aquecidos por 12 horas, a temperatura da superfície da casca dos ovos diminuiu significativamente para os ovos armazenados por 9 e 14 dias.

Tabela 5 – Temperatura média da superfície da casca de ovos férteis, durante a incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	38,01 Aa	38,04 Aa	38,06 Aa
6	38,02 Aa	37,99 Ba	38,01 Ba
12	38,06 Aa	37,95 Bb	37,91 Cb
C.V. (%) = 0,33			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O armazenamento por 4 dias não influenciou a temperatura da superfície da casca dos ovos. No entanto, para os períodos maiores de armazenamento, quando os ovos não foram aquecidos, a temperatura de superfície foi maior do que quando houve o aquecimento por 6 e 12 horas, sendo que no período de armazenamento por 14 dias, o aquecimento de 12 horas resultou em menores temperaturas. Quando se analisou o efeito dos tratamentos de aquecimento, não houve diferença para os períodos de 0 e 6 horas, sendo que no tratamento de 12 horas foram observadas as menores temperaturas superficiais dos ovos.

Como citado por Geers et al. (1983) e Fassenko et al. (2002), ocorre um aumento da produção de calor conforme avança o desenvolvimento do embrião. Os tratamentos de aquecimento por 6 e 12 horas aceleraram o desenvolvimento embrionário que foram submetidos ao armazenamento. Supõe-se que embriões que estavam em estágios de desenvolvimento avançados não suportaram os períodos de armazenamento, causando maiores taxas de mortalidade embrionária, principalmente a inicial, como será visto no item 4.8. Com a ocorrência da mortalidade, o embrião deixa de produzir calor e com isso a temperatura superficial observada na casca também será menor, como verificado no presente estudo.

4.4 Perda de peso dos ovos durante o armazenamento e incubação

Sabe-se que é de fundamental importância o monitoramento da perda de peso dos ovos em cada incubação realizada (ROSA; ÁVILA, 2000). Em função disso e pelo fato dos ovos terem sofrido aquecimento antes do armazenamento, uma prática não utilizada como rotina, essa importante característica foi avaliada no presente estudo. De todos os trabalhos revisados, os autores não avaliaram essa característica.

Conforme indicado na Tabela 6, houve interação entre os fatores, pois durante o período de armazenamento em câmara fria, à medida que se aumentou o período de armazenamento, aumentou-se também a porcentagem de perda de peso. Além disso, quanto maior foi o tempo de aquecimento, maior foi a perda de peso dos ovos.

Tabela 6 – Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante todo o período de armazenamento, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	0,25 Bc	0,59 Cb	0,93 Ca
6	0,46 Ac	0,75 Bb	1,03 Ba
12	0,49 Ac	0,90 Ab	1,14 Aa
C.V. (%) = 8,62			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Durante o período de incubação dos ovos (Tabela 7), ocorreram diferenças significativas somente no período de armazenamento por 4 dias, no qual houve maior porcentagem de perda de peso para os ovos aquecidos por 6 e 12 horas, sendo que o tratamento de 6 horas não diferiu dos demais. No tratamento controle para o aquecimento (0 hora), à medida que se aumentou o tempo de armazenamento, houve também aumento da porcentagem de perda de peso dos ovos. Por outro lado, no tratamento de 12 horas ocorreu o contrário, já que as maiores porcentagens de perda

de peso ocorreram no período de armazenamento mais curto (4 dias) e para o tratamento de 6 horas, não foram encontradas diferenças significativas.

Tabela 7 – Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante o período de incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	9,77 Bb	10,07 Aab	10,21 Aa
6	10,14 Aba	9,93 Aa	10,10 Aa
12	10,30 Aa	9,93 Aab	9,86 Ab
C.V. (%) = 6,38			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Quando se analisou o período experimental total (Tabela 8), verificou-se a menor porcentagem de perda de peso para os ovos armazenados por 4 dias e não aquecidos, sendo que os aquecidos por 6 horas e armazenados por 4 e 9 dias apresentaram menores perdas do que os armazenados por 14 dias. Para os outros tratamentos, não foram encontradas diferenças significativas.

Tabela 8 – Porcentagem de perda de peso dos ovos férteis, durante todo o período de armazenamento e incubação, submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	10,00 Bc	10,60 Ab	11,04 Aa
6	10,55 Ab	10,61 Ab	11,03 Aa
12	10,75 Aa	10,74 Aa	10,89 Aa
C.V. (%) = 6,24			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O percentual de perda de peso dos ovos durante o processo de incubação artificial que é considerado ótimo, varia pouco para diferentes autores. Segundo vários trabalhos, o ovo deve perder ao redor de 11 a 14% (ROSA; ÁVILA, 2000), 12% (TULLETT, 1981; PEEBLES, 1986; DAVIS; ACKERMAN, 1987; DAVIS; SHEN; ACKERMAN, 1988; COBB, 2002), 13% (SCHMIDT; FIGUEIREDO; ÁVILA 2002a), e de 12% a 14% (FRENCH, 2004) de peso para não ter os resultados de eclosão prejudicados. Os resultados obtidos no presente estudo variaram de 10 a 11%, portanto, dentro daquilo que é considerado aceitável.

4.5 Porcentagem de ovos bicados durante a transferência

O não aquecimento dos ovos resultou na menor porcentagem de ovos bicados quando estes foram armazenados por 4 e 9 dias, sendo que para aqueles armazenados por 14 dias não houveram diferenças significativas. O tempo de armazenamento não influenciou na porcentagem de ovos bicados, quando não houve aquecimento. Quando os ovos foram aquecidos por 6 ou 12 horas e a medida que aumentou-se o tempo de armazenamento, diminuiu-se a porcentagem de ovos bicados (Tabela 9).

Tabela 9 – Porcentagem de ovos bicados durante a transferência.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	2,27 Ba	1,82 Ba	2,27 Aa
6	15,00 Aa	5,45 ABb	0,91 Ab
12	19,54 Aa	9,54 Ab	1,82 Ac
C.V. (%) = 137,17			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Esta característica também demonstra que o aquecimento antes do armazenamento acelera o estágio de desenvolvimento embrionário, pois ovos que

sofreram os tratamentos de aquecimento apresentaram maiores taxas de bicagem na transferência, evidenciando que os embriões estavam mais desenvolvidos.

4.6 Porcentagem de eclosão

Em função dos tratamentos experimentais, as eclosões ocorreram algumas horas antes do previsto (504 horas), uma vez que os tempos de aquecimento aos quais os ovos foram submetidos, não foram considerados como tempo de incubação. Conforme indicado na Tabela 10, houve interação tanto para a eclosão com 480 horas como para a eclosão geral. Para a eclosão com 498 horas de incubação, quanto maior foi o tempo de aquecimento, menor foi a taxa de eclosão. Quanto maior o tempo de armazenamento, maior foram as taxas de eclosões observadas.

Tabela 10 – Porcentagem de eclosão de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Eclosão 480 horas ¹	Eclosão 498 horas	Eclosão geral ¹
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)
0	42,58	39,24 A	82,88
6	66,41	17,33 B	84,50
12	51,67	10,76 C	62,73
Armazenamento (d)			
4	76,21	11,36 C	87,58
9	54,39	22,88 B	77,88
14	30,04	33,09 A	64,65
PROBABILIDADES (p)			
Aquecimento (AQC)	0,0001	0,0001	0,0001
Armazenamento (ARM)	0,0001	0,0001	0,0001
AQC x ARM	0,0001	0,7278	0,0001
C.V. (%)	29,84	65,40	15,56

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontram-se nas Tabela 11 e 12. Médias seguidas de diferentes letras em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Os resultados do desdobramento dos tratamentos para a eclosão com 480 horas estão indicados na Tabela 11. Os ovos armazenados por 4 dias e que não receberam aquecimento apresentaram menor taxa de eclosão quando comparados com os armazenados por 4 dias e aquecidos por 6 e 12 horas. O mesmo aconteceu com ovos armazenados por 9 dias. Os ovos armazenados por 14 dias e aquecidos por 6 horas foram os que apresentaram maiores taxas de eclosão. Independente dos tempos de aquecimento, à medida que se aumentou o tempo de armazenamento, diminuiu-se a taxa de eclosão.

Estes dados demonstram que o aquecimento fez com que houvesse diminuição no tempo necessário para a eclosão. Por outro lado, quando se aqueceu por 12 horas e

aumentou-se o tempo de armazenamento, os resultados de eclosão foram severamente prejudicados.

Tabela 11 – Desdobramento dos tratamentos para a eclosão com 480 horas de incubação de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de armazenamento e aquecimento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	60,00 Ba	41,82 Cb	25,91 Bc
6	83,63 Aa	69,54 Ab	46,04 Ac
12	85,00 Aa	51,82 Bb	18,18 Bc
C.V. (%) = 29,84			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Considerando a eclosão geral do experimento (Tabela 12), verificou-se que a mesma não foi influenciada quando os ovos foram armazenados por 4 dias e submetidos a qualquer tempo de aquecimento, o que concorda plenamente com o que foi observado por Fassenko et al. (2001a). O mesmo comportamento foi observado para os ovos armazenados por 9 e 14 dias e aquecidos por 0 e 6 horas. No entanto, para Fassenko et al. (2001a) o aquecimento de 6 horas, comparado com o não aquecimento, proporcionou maiores taxas de eclosão para ovos armazenados por 14 dias. Esses achados podem ser de grande aplicação prática, pois evidenciam que os ovos férteis podem sofrer algum tipo de aquecimento antes de um moderado período de armazenamento, sem comprometer a taxa de eclosão. Por outro lado, o aquecimento por 12 horas prejudicou drasticamente a eclosão dos ovos armazenados por 9 e 14 dias. Isto está de acordo com Fassenko et al. (2001a) que observaram as piores taxas de eclosão para ovos aquecidos por 12 e 18 horas armazenados por 14 dias, pois de acordo com eles, os tratamentos de aquecimento aumentaram o desenvolvimento embrionário a um nível em que acontecesse uma desvantagem de sobrevivência quando colocados na câmara fria para o armazenamento. No entanto, Fassenko et al. (2001a) observaram melhoras significativas na taxa de eclosão dos ovos armazenados

por 14 dias quando aquecidos por 6 horas (79%) em comparação com os ovos não aquecidos (70,5%).

Quanto ao fator armazenamento, os ovos que ficaram estocados por 14 dias apresentaram as menores taxas de eclosão, principalmente quando aquecidos por 12 horas.

É sabido que quanto mais prolongado for o tempo de estocagem dos ovos, menor será a taxa de eclosão (MARTIN, 2003; TONA, 2003). Os dados obtidos no presente estudo estão em conformidade com estas considerações.

Tabela 12 – Desdobramento dos tratamentos para a eclosão geral de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de armazenamento e aquecimento.

Aquecimento (horas)	Eclosão geral (%)		
	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	85,91 Aa	84,09 Aab	78,64 Ab
6	90,00 Aa	86,82 Aa	76,67 Ab
12	86,82 Aa	62,73 Bb	38,64 Bc
C.V. (%) = 15,56			

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Por outro lado, Tona (2003) afirma que os efeitos do tempo de armazenamento e estágios de desenvolvimento embrionário sobre a incubação necessitam de maiores investigações. É usualmente aceito que a incidência de embriões anormais, embriões com células necróticas ou apoptóticas (células programadas para morrer) aumenta com o aumento do tempo de armazenamento (BLOOM et al., 1998).

Decuypere e Michels (1992) afirmaram que o prolongamento de um dia no tempo de estocagem pode reduzir em 1% a taxa de eclosão, além de adicionar uma hora no período total de incubação.

O armazenamento de ovos por longos períodos resultou em eclosões menores e tempos de incubação maiores quando comparados com os resultados de ovos

armazenados por períodos mais curtos, concordando com os achados de Fairchild, 2003.

4.7 Porcentagem de aves nascidas conforme o horário da eclosão

Considerando o total de aves nascidas, verificou-se que o aquecimento antes do armazenamento proporcionou aumento do percentual de aves nascidas com 480 horas de incubação, comprovando que o aquecimento antes do armazenamento causa aceleração do desenvolvimento embrionário (Tabela 13).

Tabela 13 – Porcentagem de aves nascidas com 480 horas e com 498 horas de incubação (do total de aves eclodidas).

FATOR	Nascimentos com 480 h (%)	Nascimentos com 498 h (%)
Aquecimento (h)		
0	50,96 B	49,04 A
6	77,41 A	24,59 B
12	75,19 A	24,81 B
Armazenamento (d)		
4	86,99 A	13,01 C
9	70,74 B	29,26 B
14	45,83 C	54,17 A
PROBABILIDADES (p)		
Aquecimento (AQC)	0,0001	0,0001
Armazenamento (ARM)	0,0001	0,0001
AQC x ARM	0,1278	0,1277
C.V. (%)	30,34	64,05

Médias seguidas de diferentes letras em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Além disso, à medida que se aumentou o tempo de armazenamento, aumentou-se linearmente a porcentagem de nascimentos com 498 horas e, por consequência, diminuiu-se significativamente a porcentagem de nascimentos com 480 horas. Esse achado está de acordo com as considerações de Arora e Kosin (1966), de que para

ovos estocados por longos períodos, o início do desenvolvimento embrionário é retardado, sendo a taxa de crescimento lenta (MATHER; LAUGHLIN, 1977) e que aproximadamente 80% dos nascimentos de ovos armazenados por 3 dias ocorreram antes de 490 horas (TONA, 2003). Ovos incubados em altas temperaturas (38,8°C) nos 10 primeiros dias proporcionaram aves que nasceram primeiramente do que aquelas provenientes de ovos que foram incubados na temperatura de 35,8°C (DECUYPERE et al., 1979). Como mencionado anteriormente, a temperatura da incubadora poderia ser um fator que estaria influenciando os horários de nascimentos, no entanto, como visto no item 4.1, as temperaturas estiveram dentro das faixas ideais.

4.8 Mortalidade embrionária (Embriodiagnóstico)

Quanto as ocorrências registradas no embriodiagnóstico (Tabelas 14 e 15), observou-se que não houve diferença significativa para o percentual de ovos inférteis, o que era esperado em função da colheita dos ovos ter sido realizada do mesmo lote de matrizes. Também não houve diferença significativa para os percentuais de mortalidade média, ovos não eclodidos e contaminados, embriões mal posicionados e mal formados. No entanto quando os dados obtidos são comparados com os 25% melhores resultados de acordo com Martin (2003), para ovos de matrizes de 44 semanas, ocorrem diferenças. Para infertilidade, os resultados obtidos são melhores do que os referendados pelo autor (3,81%). Para mortalidade média, somente o tratamento de 0 horas de aquecimento apresentou melhores índices. Para ovos não eclodidos e contaminados, embriões mal posicionados e/ou mal formados os índices obtidos no experimento foram piores.

Os ovos aquecidos por 6 horas apresentaram menores taxas de mortalidade final quando comparados com ovos não aquecidos e aquecidos por 12 horas. Além disso, ovos armazenados por 4 dias tiveram menores taxas de mortalidade embrionária final que os ovos estocados por 14 dias, sendo que as taxas dos ovos de 9 dias não diferiram estatisticamente dos outros tratamentos. Houve interação significativa entre os fatores estudados para a característica mortalidade embrionária inicial, cujo desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 16. No entanto, quando

compara-se com os dados de Martin (2003) – 3,81%, os resultados de mortalidade embrionária inicial foram mais altos em todos os tratamentos.

Tabela 14 – Ocorrência de ovos inférteis, mortalidade embrionária inicial, mortalidade embrionária média e mortalidade embrionária final em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento de armazenamento.

FATOR	Ovos Inférteis	Mortalidade embrionária inicial ¹	Mortalidade embrionária média	Mortalidade embrionária final
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	0,45	6,82	0,30	3,94 A
6	0,76	8,67	0,45	0,15 B
12	1,36	29,09	0,61	2,12 A
Armazenamento (d)				
4	0,45	6,82	0,30	0,91 B
9	0,61	14,85	0,15	1,82 AB
14	1,51	22,91	0,91	3,48 A
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0,2007	0,0001	0,7065	0,0001
Armazenamento (ARM)	0,0858	0,0001	0,0902	0,0068
AQC x ARM	0,4502	0,0001	0,5955	0,0603
C.V. (%)	344,13	73,15	459,00	226,29

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 18. Médias seguidas de diferentes letras em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

Tabela 15 – Ocorrência de ovos não eclodidos e contaminados, embriões mal posicionados e mal formados em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento de armazenamento.

FATOR	Ovos não eclodidos	Embriões mal posicionados	Embriões mal formados	Ovos contaminados
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	2,88	1,36	0,45	0,91
6	1,99	2,42	0,00	1,06
12	1,97	1,51	0,30	0,30
Armazenamento (d)				
4	1,36	1,51	0,30	0,76
9	2,73	1,21	0,15	0,61
14	2,74	2,58	0,30	0,91
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0,3966	0,3141	0,2491	0,2246
Armazenamento (ARM)	0,1186	0,1656	0,8189	0,8067
AQC x ARM	0,1118	0,6369	0,9381	0,3701
C.V. (%)	192,38	244,23	629,28	350,4

Médias seguidas de diferentes letras em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Conforme indicado na Tabela 16, para os tempos de armazenamento, não houve diferença na taxa de mortalidade inicial para o tempo de 4 dias. No entanto, para os armazenamentos de 9 e 14 dias e aquecimentos de 0 e 6 horas não diferiram entre si, sendo que o aquecimento de 12 horas aumentou significativamente a taxa de mortalidade embrionária inicial. Tanto o não aquecimento como o aquecimento dos ovos por 6 horas não influenciaram significativamente a taxa de mortalidade inicial em qualquer tempo de armazenamento. Para o tempo de aquecimento por 12 horas, verificou-se que à medida que se aumentou o tempo de armazenamento aumentou-se o percentual de mortalidade embrionária inicial, sugerindo que embriões em estágio mais avançado de armazenamento têm a viabilidade comprometida.

Tabela 16 – Desdobramento dos tratamentos para a mortalidade embrionária inicial em ovos submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	8,18 Aa	7,27 Ba	5,00 Ba
6	5,45 Aa	9,09 Ba	11,46 Ba
12	6,82 Ac	28,18 Ab	52,27 Aa
C.V. (%)	73,15		

Médias seguidas de letras maiúsculas (colunas) e minúsculas (linhas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.9 Peso médio de pintainhos recém-eclodidos

Em função dos nascimentos terem ocorrido em distintos momentos, as análises estatísticas para a característica peso ao nascer foram realizadas em cada tempo de eclosão (Tabela 17). Para as aves que nasceram com 480 horas (20 dias), os tratamentos aplicados não influenciaram o peso ao nascimento. Por outro lado, quando os ovos foram aquecidos por 12 horas, o peso ao nascimento foi significativamente inferior para as aves nascidas com 498 horas e para o peso médio geral. Esses achados corroboram aqueles relacionados à perda de peso dos ovos durante o armazenamento e incubação. Isoladamente, o fator armazenamento não influenciou o peso dos pintainhos ao nascimento.

Tabela 17 – Peso médio de pintainhos recém-eclodidos e provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Peso médio pintainho 480 horas	Peso médio pintainho 498 horas	Peso médio geral
Aquecimento (h)	(g)	(g)	(g)
0	47,63	48,36 A	48,41 A
6	48,36	47,95 A	48,38 A
12	47,86	45,84 B	47,58 B
Armazenamento (d)			
4	48,62	46,89	48,48
9	47,48	47,58	48,13
14	47,75	47,68	47,77
PROBABILIDADES (p)			
Aquecimento (AQC)	0,5583	0,0060	0,0069
Armazenamento (ARM)	0,2249	0,6202	0,0640
AQC x ARM	0,6523	0,4845	0,8552
C.V. (%)	8,20	6,73	3,55

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Assim como recomendou Tona (2003), o presente estudo mostra que são necessárias maiores investigações dos efeitos das diferentes condições de armazenamento de ovos férteis antes da incubação, especialmente aquecimento e temperatura, sobre o período pós-eclosão até o abate. Decuypere e Michels (1992) e Borzemska et al. (1998) afirmaram que uma boa taxa de eclosão não está necessariamente correlacionada de modo positivo com alta porcentagem de pintainhos de boa qualidade. Portanto, é muito importante a avaliação das características inerentes ao pintinho recém-eclodido.

O aumento no tempo de incubação irá aumentar o tempo gasto pela ave fora do nascedouro, o qual por sua vez pode levar a desidratação (REIS; GAMA; SOARES, 1997) e subsequente redução no peso corporal ao nascimento. Pode ser devido a esse

fato que os ovos aquecidos por 12 horas, com maior desenvolvimento embrionário e que nasceram com 498 horas, apresentaram menor peso ao nascimento.

Tona (2003) observou que os ovos que ficaram períodos maiores no armazenamento (18 dias) proporcionaram aves com pior qualidade quando comparados com os pintainhos provenientes dos ovos que foram armazenados por 3 dias. No entanto, considerando os períodos de armazenamento estudados no presente trabalho, não foi verificado uma piora nos pesos ao nascimento.

4.10 Peso relativo dos órgãos dos pintainhos recém eclodidos

Primeiramente, cabe ressaltar que em nenhum dos trabalhos realizados, utilizando o manejo de aquecimento antes do armazenamento dos ovos, foi avaliado as características de pintainhos de 1 dia. No entanto, para períodos diferentes de armazenamento, existem alguns estudos em que foram avaliadas as características de pintainhos. Além disso, os efeitos das condições do armazenamento podem melhorar fatores internos, tais como a habilidade do embrião de produzir energia e obter nutrientes do ovo (LIJLA; OLSSON, 1987; CHRISTENSEN et al., 2001). Conseqüentemente, o potencial de crescimento de cada tecido nos vários estágios de diferenciação pode também ser afetado (RICKLEFS, 1987).

Lilja e Olsson (1987) sugeriram que entre os embriões de aves selecionados para rápido crescimento após a eclosão, a organogênese é caracterizada por preferencial crescimento dos órgãos de fornecimento (coração, fígado e intestinos) ao invés dos órgãos de demanda (músculos e sangue). Com isso, suspeitou-se que os manejos de aquecimento e armazenamento poderiam estar influenciando na organogênese e desenvolvimento embrionário, alterando as características fisiológicas das aves recém-nascidas.

O peso relativo dos órgãos também foi analisado em função dos horários de nascimento. Analisando-se as aves nascidas com 480 horas (Tabelas 18 e 19), os diferentes tempos de armazenamento, não influenciaram nenhum órgão analisado. No entanto, para o fator aquecimento, não foram encontradas diferenças significativas para os pesos relativos do coração, saco vitelino, jejuno, íleo, bursa, moela/pró-ventrículo e

cecos/reto. Por outro lado, o tempo de aquecimento influenciou o peso do fígado, sendo que as aves provenientes do tratamento de 12 horas de aquecimento apresentaram maiores pesos relativos em comparação com aquelas do tratamento controle (0 hora de aquecimento). O tratamento de 6 horas não diferiu dos demais tratamentos para o peso do fígado.

Tabela 18 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Fígado	Coração	Saco vitelino	Bursa
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	2,25 B	0,61	14,65	0,11
6	2,48 AB	0,67	13,90	0,12
12	2,63 A	0,73	13,25	0,13
Armazenamento (d)				
4	2,43	0,70	12,73	0,13
9	2,41	0,64	14,38	0,11
14	2,53	0,67	14,69	0,12
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0,0400	0,1079	0,4646	0,1480
Armazenamento (ARM)	0,6997	0,4947	0,1889	0,5090
AQC x ARM	0,2205	0,2117	0,3384	0,9367
C.V. (%)	14,45	18,84	19,59	28,82

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 19 - Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Moela e pró-ventrículo	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos e reto
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	5,76	0,72 B	1,23	0,20	1,01
6	6,30	1,05 A	1,46	0,24	0,99
12	5,75	1,08 A	1,54	0,24	1,26
Armazenamento (d)					
4	6,01	0,89	1,31	0,24	1,05
9	6,16	0,93	1,47	0,22	1,17
14	5,64	1,04	1,45	0,23	1,04
PROBABILIDADES (p)					
Aquecimento (AQC)	0,1485	0,0162	0,0529	0,3797	0,1820
Armazenamento (ARM)	0,2384	0,4868	0,3800	0,8431	0,6676
AQC x ARM	0,3210	0,8769	0,4273	0,9792	0,8271
C.V. (%)	12,76	32,91	21,34	30,70	35,08

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Para as aves nascidas com 498 horas de incubação (Tabelas 20 e 21), o tempo de aquecimento não influenciou o peso relativo de fígado, coração, saco vitelino, moela/pró-ventrículo e cecos/reto. O tempo de armazenamento influenciou o peso do fígado, sendo que as aves provenientes do tratamento de 9 dias apresentaram maiores pesos que aquelas provenientes do tratamento de 4 dias. Por outro lado, os pesos relativos do fígado das aves do tratamento de 14 dias não apresentaram diferenças com relação aqueles dos demais tratamentos. O peso relativo do saco vitelino, coração moela/pró-ventrículo e cecos/reto não apresentaram diferenças significativas. Além disso, para este tempo de nascimento, houve interação significativa entre os fatores estudados para os pesos relativos do duodeno, jejuno, íleo e bursa (Tabela 22).

Tabela 20 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Fígado	Coração	Saco vitelino	Bursa ¹
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	2,50	0,74	13,97	0,13
6	2,70	0,76	11,83	0,15
12	2,64	0,75	13,64	0,12
Armazenamento (d)				
4	2,45 B	0,71	13,47	0,13
9	2,76 A	0,77	12,59	0,13
14	2,63 AB	0,78	13,38	0,15
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0,1373	0,9289	0,0637	0,3846
Armazenamento (ARM)	0,0173	0,3797	0,5852	0,3450
AQC x ARM	0,0865	0,2350	0,0586	0,0195
C.V. (%)	9,38	16,98	17,34	31,37

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 24. Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 21 - Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Moela e pró-ventrículo	Duodeno ¹	Jejuno ¹	Íleo ¹	Cecos e reto
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	6,26	1,05	1,57	0,26	1,30
6	6,58	1,19	1,91	0,29	1,31
12	6,48	1,12	1,61	0,25	1,28
Armazenamento (d)					
4	6,49	1,07	1,75	0,28	1,37
9	6,38	1,12	1,68	0,28	1,33
14	6,45	1,18	1,67	0,25	1,19
PROBABILIDADES (p)					
Aquecimento (AQC)	0,6565	0,1455	0,0150	0,1485	0,9891
Armazenamento (ARM)	0,9508	0,3576	0,7571	0,5142	0,5753
AQC x ARM	0,3143	0,0109	0,0029	0,0106	0,0730
C.V. (%)	13,20	15,47	16,71	21,79	34,03

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 24.

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 22 – Desdobramento dos tratamentos para peso relativo de duodeno, jejuno, íleo e bursa de Fabrícus de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Duodeno - 498 horas			
Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	0,85 Bb	1,09 Aab	1,20 Aa
6	1,31 Aa	1,22 Aab	1,05 Ab
12	1,05 Ba	1,03 Aa	1,27 Aa
Jejuno - 498 horas			
Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	1,43 Ba	1,56 Aba	1,72 Aa
6	2,29 Aa	1,94 Aa	1,48 Ab
12	1,51 Ba	1,52 Ba	1,80 Aa
Íleo – 498 horas			
Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	0,22 Ba	0,29 Aa	0,27 Aa
6	0,37 Aa	0,29 Ab	0,22 Ab
12	0,23 Ba	0,25 Aa	0,26 Aa
Bursa de Fabricius - 498 horas			
Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	0,10 Ba	0,16 Aa	0,15 Aa
6	0,19 Aa	0,12 Ab	0,14 Aab
12	0,09 Bb	0,11 Aab	0,17 Aa

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O armazenamento por 4 dias e aquecimento dos ovos por 6 horas proporcionou maiores pesos relativos de duodeno. Os outros períodos de armazenamento não proporcionaram diferenças significativas para esta característica. O tratamento de aquecimento por 0 hora causou maior peso de duodeno de pintainhos provenientes de ovos que ficaram mais tempo armazenados. No entanto, o inverso ocorreu quando considerado o aquecimento por 6 horas, sendo que para o tratamento de 12 horas de aquecimento não houve diferenças significativas.

Para o fator aquecimento, somente aquele de 6 horas causou peso relativo menor para os ovos armazenados por 14 dias. Quanto ao armazenamento, no tratamento de 4 dias houve maior peso relativo do jejuno para os ovos que foram aquecidos por 6 horas. Com armazenamento por 9 dias, tanto o tratamento de 0 como o de 6 horas apresentaram maiores pesos relativos do que o de 12 horas, sendo que para o tratamento de 14 dias, não foram observadas diferenças significativas.

Para o fator armazenamento não houve diferenças significativas, exceto para o tratamento de 4 dias, onde as aves provenientes dos ovos aquecidos por 6 horas apresentaram maiores pesos de íleo. Quanto aos tratamentos de aquecimento, o único que apresentou diferença significativa foi o tratamento de 6 horas de aquecimento e armazenamento de 4 dias, onde ocorreu maior peso relativo deste órgão com relação aos demais tempos de estocagem.

Para a característica peso relativo de bursa de Fabricius, o armazenamento por 4 dias e aquecimento por 6 horas apresentou os maiores valores, sendo que para armazenamento por 9 e 14 dias, não foram observadas diferenças. O aquecimento de 0 hora não influenciou o peso, sendo que no tratamento de 6 horas, os ovos armazenados por menos tempo apresentaram os maiores valores. Por outro lado, para o aquecimento de 12 horas, o inverso ocorreu, ou seja, os maiores valores foram observados quanto maior foi o tempo de armazenamento.

Considerando os valores médios dos órgãos de todas as aves nascidas (Tabelas 23 e 24), verificou-se interação significativa entre os fatores estudados para o peso relativo de fígado com o desdobramento dos tratamentos indicado na Tabela 25. Para todos os outros órgãos avaliados não foram encontradas diferenças significativas (Tabela 23). O aquecimento influenciou o peso de duodeno, sendo que o tratamento

controle apresentou menores pesos com relação àqueles onde houve o aquecimento (Tabela 24).

Tabela 23 – Peso relativo de fígado, coração, saco vitelino e bursa de Fabricius de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Fígado ¹	Coração	Saco vitelino	Bursa
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	2.37	0.68	14.31	0.12
6	2.59	0.72	12.86	0.14
12	2.64	0.74	13.44	0.13
Armazenamento (d)				
4	2.44	0.71	13.1	0.13
9	2.58	0.70	13.48	0.12
14	2.58	0.72	14.03	0.13
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0.0106	0.3224	0.1682	0.2702
Armazenamento (ARM)	0.2116	0.8773	0.4702	0.5094
AQC x ARM	0.0263	0.4163	0.1645	0.087
C.V. (%)	12.36	19.39	19.41	31.59

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 27. Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05)

De acordo com Zafrira et al. (1991), o peso relativo do saco vitelino era de aproximadamente 10% do peso corporal e o peso médio das aves foi de 42 g. Os resultados do presente estudo foram superiores tanto em percentual do saco vitelino como no peso médio ao nascimento, no entanto, é preciso destacar as distintas épocas de realização dos experimentos.

O armazenamento dos ovos por 14 dias comparado com o armazenamento por 1 dia antes da incubação, reduziu o peso do coração aos 12 dias de vida do embrião (CHRISTENSEN, et al., 2002). O peso embrionário de linhagens com baixas taxas de

viabilidade foi parecido entre os embriões de ovos armazenados por 1 e 14 dias, mas na linhagem com alta taxa de viabilidade, o armazenamento diminuiu o peso corporal e de órgãos (CHRISTENSEN, et al., 2002).

Tabela 24 – Peso relativo de moela e pró-ventrículo, duodeno, jejuno, íleo e cecos e reto de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Moela e pró-ventrículo	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos e reto
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	6,01	0,89 B	1,40	0,23	1,15
6	6,44	1,12 A	1,66	0,27	1,15
12	6,11	1,10 A	1,57	0,24	1,27
Armazenamento (d)					
4	6,25	0,98	1,53	0,26	1,21
9	6,27	1,02	1,57	0,25	1,25
14	6,04	1,11	1,54	0,24	1,11
PROBABILIDADES (p)					
Aquecimento (AQC)	0,2001	0,0059	0,0527	0,2493	0,5538
Armazenamento (ARM)	0,6037	0,2666	0,9022	0,6930	0,5378
AQC x ARM	0,5041	0,6052	0,0812	0,0936	0,2661
C.V. (%)	13,7	26,18	23,7	27,42	35,89

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Tabela 25 – Desdobramento dos tratamentos para peso relativo de fígado de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Fígado (%)		
	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	2,16 Bb	2,35 Bab	2,61 ABa
6	2,62 Aab	2,75 Aa	2,39 Bb
12	2,53 Aa	2,65 Aba	2,72 Aa

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Dentro de todos os tempos de armazenamento, quanto maior foi o tempo de aquecimento dos ovos, maior foi o peso relativo do fígado das aves recém eclodidas. Para o aquecimento de 0 hora, o armazenamento por 14 dias foi o que proporcionou maiores valores quando comparados ao armazenamento por 4 dias. Para o aquecimento de 6 horas, o tempo de armazenamento por 9 dias foi o que proporcionou maior valor para a característica. Para o aquecimento de 12 horas não foram observadas diferenças significativas em todos os tempos de armazenamento. Provavelmente, esses achados em relação ao peso do fígado, estejam vinculados a outros dois aspectos como a perda de peso dos ovos durante o armazenamento e incubação, além do peso do pintainho recém-eclodido. Nos trabalhos revisados, não foi verificada a abordagem experimental visando analisar essas características, portanto, esses resultados não podem ser comparados com outros até o presente momento.

4.11 Morfometria do intestino delgado de pintainhos recém-eclodidos

Para as aves nascidas com 480 horas de incubação (Tabela 26), verificou-se que os tratamentos não influenciaram o percentual de jejuno. O percentual de duodeno foi afetado pelo fator armazenamento, sendo que o armazenamento dos ovos por 14 dias proporcionou aves com menor percentual de duodeno em relação àqueles ovos

armazenados por 9 dias. Houve interação entre os fatores estudados para o percentual de íleo, cujo desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 27.

Tabela 26 – Características morfométricas do intestino delgado de pintainhos de 1 dia nascidos após 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Duodeno	Jejuno	Íleo ¹
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)
0	20,18	67,01	12,81
6	19,52	68,08	12,40
12	20,16	67,10	12,74
Armazenamento (d)			
4	19,62 AB	67,51	12,86
9	21,12 A	66,68	12,20
14	19,11 B	68,00	12,88
PROBABILIDADES (p)			
Aquecimento (AQC)	0,6500	0,6384	0,7878
Armazenamento (ARM)	0,0481	0,5627	0,4751
AQC x ARM	0,6997	0,8801	0,0451
C.V. (%)	9,82	4,49	12,16

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 29.

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

De acordo com a Tabela 27, verifica-se que foi encontrada diferença somente para o aquecimento por 0 hora, sendo que conforme se aumentou o tempo de armazenamento diminuiu-se o tamanho deste órgão. Quanto ao armazenamento, apenas no tratamento de 4 dias o aquecimento interferiu sendo que quanto mais tempo os ovos foram aquecidos, menores foram os valores do percentual de íleo.

Tabela 27 – Desdobramento dos tratamentos para morfometria do íleo de pintainhos de 1 dia nascidos após 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	14,13 Aa	12,55 Aab	11,76 Ab
6	12,88 Aba	11,19 Aa	13,14 Aa
12	11,58 Ba	12,87 Aa	13,76 Aa

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Conforme indicado na Tabela 28, para as aves nascidas com 498 horas de incubação, os tratamentos aplicados não influenciaram significativamente os percentuais dos três segmentos do intestino delgado.

Tabela 28 – Características morfométricas do intestino delgado de pintainhos de 1 dia nascidos após 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Duodeno	Jejuno	Íleo
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)
0	20,99	66,86	12,15
6	19,66	68,25	12,09
12	20,56	67,59	11,85
Armazenamento (d)			
4	20,31	68,15	11,53
9	19,78	67,65	12,57
14	21,11	66,90	11,99
PROBABILIDADES (p)			
Aquecimento (AQC)	0,2623	0,3478	0,8658
Armazenamento (ARM)	0,2747	0,4157	0,2325
AQC x ARM	0,4893	0,7630	0,7250
C.V. (%)	9,71	3,41	12,04

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$)

O mesmo comportamento dos resultados obtidos para as aves nascidas com 498 horas de incubação foi verificado quando da análise dos dados referentes à todas as aves nascidas (Tabela 29), ou seja, os tratamentos não influenciaram as características avaliadas.

Tabela 29 – Características morfométricas do intestino delgado de todos os pintainhos de 1 dia nascidos, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Duodeno	Jejuno	Íleo
Aquecimento (h)	(%)	(%)	(%)
0	20,58	66,93	12,48
6	19,59	68,16	12,25
12	20,36	67,35	12,29
Armazenamento (d)			
4	19,97	67,83	12,20
9	20,45	67,16	12,39
14	20,11	67,45	12,44
PROBABILIDADES (p)			
Aquecimento (AQC)	0,2205	0,2494	0,8528
Armazenamento (ARM)	0,7040	0,6650	0,8501
AQC x ARM	0,8479	0,8079	0,0934
C.V. (%)	10,16	3,81	12,46

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

4.12 Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos recém-eclodidos

Conforme indicado na Tabela 30, não houve interação significativa dos fatores para as características avaliadas de aves nascidas com 480 horas de incubação. Da mesma forma, não se verificou influência do fator aquecimento dos ovos antes do armazenamento. Por outro lado, o fator armazenamento influenciou as características altura e perímetro do vilo. Vilos significativamente mais altos foram verificados quando os ovos foram armazenados por 9 e 14 dias. O armazenamento dos ovos por 9 dias resultou no nascimento de aves com maior perímetro de vilo em relação ao armazenamento por 4 dias.

Tabela 30 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 480 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Altura do vilo	Largura do vilo	Profundidade da cripta	Perímetro do vilo
Aquecimento (h)				
0	381.1	61.23	30.54	813.98
6	427.41	67.32	31.7	913.46
12	420.37	67.59	30.25	892.41
Armazenamento (d)				
4	357.71 B	67.06	31.79	773.37 B
9	449.45 A	64.21	30.2	949.57 A
14	421.73 A	64.87	30.49	896.9 AB
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0.1448	0.2225	0.8968	0.1388
Armazenamento (ARM)	0.0028	0.7629	0.8756	0.0056
AQC x ARM	0.2939	0.1806	0.4537	0.2022
C.V. (%)	14.63	15.12	25.95	14.26

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Para as aves nascidas com 498 horas de incubação (Tabela 31), observou-se que o fator armazenamento dos ovos não influenciou as características avaliadas. Por outro lado, o fator aquecimento dos ovos influenciou as características altura e perímetro dos vilos. Os ovos que não foram aquecidos e aqueles aquecidos por 6 horas antes do armazenamento originaram aves com valores superiores para essas duas características em relação ao tratamento com 12 horas de aquecimento dos ovos. Observou-se também interação significativa entre os fatores estudados para a característica profundidade da cripta, cujo desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 32.

Tabela 31 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Altura do vilo	Largura do vilo	Profundidade da cripta ¹	Perímetro do vilo
Aquecimento (h)				
0	479.09 A	71.26	39.63	1006.6 A
6	488.85 A	75.07	38.9	1043.04 A
12	412.37 B	68.52	32.71	880.08 B
Armazenamento (d)				
4	464.09	69.73	42.25	984.31
9	454.26	74.61	32.79	978.79
14	461.96	70.52	36.2	966.62
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0.0024	0.171	0.1948	0.0032
Armazenamento (ARM)	0.8895	0.3186	0.0817	0.923
AQC x ARM	0.1213	0.3131	0.0308	0.095
C.V. (%)	11.35	11.58	26.95	11.33

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 34. Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05)

Quando os ovos foram aquecidos por 12 horas e armazenados por 4 dias, as aves expressaram criptas significativamente menos profundas, o mesmo ocorreu para ovos armazenados por 9 e 14 dias submetidos ao aquecimento por 6 horas ou ao não aquecimento.

Tabela 32 – Desdobramento dos tratamentos para profundidade de cripta da vilosidade do duodeno de pintainhos de 1 dia nascidos com 498 horas de incubação, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	50,54 Aa	30,16 Ab	38,20 Ab
6	49,24 Aa	35,88 Aab	31,60 Ab
12	26,97 Ba	32,35 Aa	38,81 Aa

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Ao analisar as características histológicas das vilosidades de todos os pintinhos nascidos (Tabela 33), verifica-se que os fatores estudados não influenciaram as características altura, largura e perímetro dos vilos. No entanto, verificou-se interação entre os fatores estudados sobre a profundidade da cripta, conforme indicado na Tabela 34.

Tabela 33 – Características histológicas das vilosidades do duodeno de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

FATOR	Altura do vilo	Largura do vilo	Profundidade da cripta ¹	Perímetro do vilo
Aquecimento (h)				
0	430,10	66,24	35,09	910,29
6	458,13	71,20	35,30	978,25
12	416,37	68,06	31,48	886,24
Armazenamento (d)				
4	410,90	68,40	37,02	878,84
9	451,85	69,41	31,50	964,18
14	441,84	67,69	33,35	931,76
PROBABILIDADES (p)				
Aquecimento (AQC)	0,1001	0,1998	0,3138	0,0659
Armazenamento (ARM)	0,0988	0,8237	0,1408	0,1071
AQC x ARM	0,0998	0,0534	0,0326	0,0663
C.V. (%)	15,51	13,95	28,49	14,99

¹ Ocorreu interação significativa e o desdobramento dos tratamentos encontra-se na Tabela 36.

Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna e dentro de cada fator diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

A associação entre o aquecimento dos ovos por 12 horas e o armazenamento por 4 dias, resultou em criptas significativamente menos profundas, assim como a associação entre os aquecimentos por 0 e 6 horas com o armazenamento por 14 dias (Tabela 34).

Tabela 34 – Desdobramento dos tratamentos para profundidade de cripta da vilosidade do duodeno de todos os pintainhos de 1 dia, provenientes de ovos férteis submetidos a diferentes tempos de aquecimento e armazenamento.

Aquecimento (horas)	Armazenamento (dias)		
	4	9	14
0	41.14 Aa	31.20 Aa	32.92 Ba
6	42.27 Aa	33.30 Aab	30.33 Bb
12	27.64 Ba	30.00 Aa	36.79 Aa

Médias seguidas de letras diferentes maiúsculas (coluna) e minúsculas (linha) diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos nas condições experimentais do presente estudo, conclui-se que:

- Os fatores aquecimento dos ovos antes do armazenamento e tempo de armazenamento antes da incubação se interagem e influenciam a taxa de eclosão dos ovos férteis. Essa característica é severamente prejudicada quando os ovos são aquecidos por 12 horas e armazenados por 14 dias antes da incubação. Por outro lado, taxas normais de eclosão são mantidas mesmo quando os ovos são aquecidos por 6 horas e armazenados por 9 dias antes da incubação, indicando a aplicação prática desses achados por parte da indústria avícola;

- O peso de pintainhos de 1 dia é reduzido quando os ovos são aquecidos por 12 horas, mas não sofre influência direta do fator tempo de armazenamento;

- A maioria das características morfométricas e histológicas do intestino delgado não sofreram influência dos fatores avaliados no presente estudo.

Além disso, a continuidade dos estudos nesta linha de pesquisa é recomendada, considerando o constante avanço em termos de melhoramento genético das aves, o que resulta em diferentes produtos comerciais, os quais eventualmente necessitam de condições específicas de manejo dos ovos férteis.

REFERÊNCIAS

ADDA, T. R. B. L. Embrio-diagnóstico. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. 2. ed. Jaboticabal: FACTA, 2003. Cap. 5.2, p. 499-514.

ANCEL, A.; VISSCHEDIJK, A. H. J. Respiratory exchanges in the incubated egg of the domestic guinea fowl. **Respiration Physiology**, v. 91, p. 31-42, 1993.

ARORA, K. L.; KOSIN, I. L. Developmental responses of early turkey and chicken embryos to pre-incubation holding of eggs: Inter- and intra-species differences. **Poultry Science**, v. 45, p. 958-970, 1966.

BAINS, B. S. Internal egg quality influence on fertility and hatchability. **World Poultry**, v. 10, n. 11, p. 35-37, 1994.

BAKST, M. R.; GUPTA, S. K. Preincubation storage of turkey eggs: impact on rate of early embryonic development. **British Poultry Science**, v. 38, p. 374-377, 1997.

BLOOM, S. E. et al. Cell death in the avian blastoderm: resistance to stress induced apoptotic and expression of anti-apoptotic genes. **Cell death and differentiation**, v. 5, p. 529-538, 1998.

BLYTH, J. S. S.; PUN, C. F.; SANG, J. H. Survey of line crosses in a Brown Leghorn flock. II. Relations of hatched chick weight to egg weight in inbred lines and their crosses. **British Poultry Science**, v. 6, p. 217-223, 1965.

BOLELI, I. C. Estresse, mortalidade e malformações embrionárias. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. 2. ed. Jaboticabal: FACTA, 2003. Cap. 4.4, p. 394-434.

BORZEMSKA, W. A. et al. Evaluation of hen hatch in incubators with different synchronization of incubation time. **Rocz. Nauk. Zoot. T.**, v. 25, p. 223-229, 1998.

BRAY, D. F.; ITON, E. L. The effect of egg weight on strain differences in embryonic and postembryonic growth in the domestic fowl. **British Poultry Science**, v. 15, p. 175-187, 1974.

BRUZUAL, J.J. et al. Effects of relative humidity during incubation on hatchability and body weight of broiler chicks from young breeders flocks. **Poultry Science**, v. 79, p. 1385-1391, 2000.

BUTLER, D. E. Egg handling and storage at the farm and hatchery. In: **Avian incubation**. London: Butterworths, 1991, p. 195-203.

BURKE, W. H.; HENRY, M. H.; ELEZAJ, I. Comparison of embryos and chicks that developed as single individuals in double yolk eggs with those that developed in single yolk eggs. **Poultry Science**, v. 76, p. 901-907, 1997.

CAMPOS, E. J.; SANTOS, J. E. C. O efeito da linhagem sobre o desenvolvimento embrionário. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. 2. ed. Jaboticabal: FACTA, 2003. Cap. 4.1, p. 353-360.

CHERMS, F. L. Influence of sire on the response to pre-incubation warming of turkey eggs. **Poultry Science**, v. 39, p. 813-817, 1959.

CHRISTENSEN, V. L.; MCCORCKLE, F. M. Turkey egg weight loss and embryonic mortality during incubation. **Poultry Science**, v. 61, p. 1209-1213, 1982.

CHRISTENSEN, V. L. et al. Egg storage effects on plasma glucose and supply and demand tissue glycogen concentrations of broiler embryos. **Poultry Science**, v.80, p.1729-1735, 2001.

CHRISTENSEN, V. L et al. Egg storage alters weight of supply and demand organs of broiler chicken embryos. **Poultry Science**, v.81, p.1738-1743, 2002.

COBB. **Guia de Manejo de Incubação** – Cobb-Vantress Brasil. 2002. 33p.

COLEMAN, J. W.; SIEGEL, P. B. Selection for body weight at eight weeks of age. 5. Embryonic state at oviposition and its relationship to hatchability. **Poultry Science**, v. 45, p. 1008-1011, 1966.

COLLINS, J. Ventilation is more than replacing stale air. **World Poultry**, v. 3, n. 14, p. 28-31, 1998.

DAVIS, T. A.; ACKERMAN, R. A. Effects of increased water loss on growth and water content of the chick embryo. **Journal Experimental Zoology**, supl. 1, p. 357-396, 1987.

DAVIS, T. A.; SHEN, S. S.; ACKERMAN, R. A. Embryonic osmoregulation: consequences of high and low water loss during incubation of the chicken egg. **Journal Experimental Zoology**, v. 245, p. 144-156, 1988.

DECUYPERE, E. et al. The day-old chick a crucial hinge between breeders and broilers. **World's Poultry Science Journal**, v. 57, p. 127-138, 2001.

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

DECUYPERE, E. et al. Heat production and serum concentration of thyroid hormones in the chick embryo at the end of incubation period. **IRCS Medical Science**, v. 6, p. 336, 1979.

DEEMING, D. C. Storage of hatching eggs. Arbor Acres Service Bulletin. **Industria Avícola**, p. 14-22, febrero 2000.

DEEMING, D. C. Turning helps hatchability. **Poultry Misset**, v. 4, n. 4, p. 27, 1996.

ELIBOL, O.; PEAK, S. D.; BRAKE, J. Effect of frequency of turning from three to eleven days of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 82, p. 357-359, 2003.

ELGUERA, M. A. Relação entre o manejo de reprodutoras de carne e a qualidade dos ovos incubáveis. In: 2º SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE, 1., 1999, Chapecó, SC. **Anais...** Chapecó: ACAV, 1999. p. 17-27.

FAIRCHILD, B. Minimización de la mortalidad embrionaria. **Industria Avícola**, v. 50, n. 9, p. 52, septiembre 2003.

FASENKO, G. M.; ROBINSON, F. E.; CHRISTENSEN, V. L. How long-term hatching egg storage affects the egg, the embryo, and the chick. In: DEEMING, D. C. **Practical aspects of commercial incubation in poultry**. Ratite Conference Books: Oxford, UK, 2002. p. 33-39.

FASENKO, G. M. et al. Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs: 1. Effects on hatchability. **Poultry Science**, v. 80, p. 1406-1411, 2001a.

FASENKO, G. M. et al. Examining the effects of prestorage incubation of turkey breeder eggs on embryonic development and hatchability of eggs stored for four or fourteen days. **Poultry Science**, v. 80, p. 132-138, 2001b.

FASENKO, G. M. et al. Variability in preincubation embryo development in domestic fowl. 1. Effects of nest holding time and method of egg storage. **Poultry Science**, v. 70, p. 1876-1881, 1991.

FRENCH, N. Exigências na incubação do frango atual: maximizando o potencial. In: SEMINÁRIO TÉCNICO HUBBARD – CONFERÊNCIA APINCO 2004, 1., 2004, Santos. **Tópico temático...** Santos: APINCO, 2004, p. 1-10.

FRENCH, N. Modelling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. **Poultry Science**, v. 76, p. 124-133, 1997.

GEERS, R. et al. Metabolism and growth of chickens before and after hatch in relation to incubation temperatures. **Poultry Science**, v. 62, p. 1869-1875, 1983.

GONZALES, E.; CESÁRIO, M. D. Desenvolvimento embrionário. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. 2. ed. Jaboticabal: FACTA, 2003. Cap. 1.3, p. 51-64.

GUSTIN, C. P. Como manter a qualidade do ovo desde a postura até o incubatório. In: I SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, 1., 1994, Xanxerê, SC. **Anais...** Xanxerê: ACAV, 1994. p. 16-29.

HAQUE, M. A. et al. Effects of pre-incubation egg storage on embryonic functions and growth. **Physiology**, v. 103, p. 89-98, 1996.

HUNTON, P. Storage of eggs. In: WELLS, R. G.; BELYAVIN, C. G. **Egg quality – Current problems and recent advances**. Butterworths: London, UK, 1987. P. 87-102.

JACOBSEN, M. D.; WEIL, M.; RAFF, M. C. Programmed cell death in animal development. **Cell**, v. 88, p. 347, 1997.

JONES, R. Improve hatchability. **Canada Poultryman**, v. 20, p. 23, 1986.

KIRK, S. G. et al. Factors effecting the hatchability of eggs from broiler breeders. **British Poultry Science**, v. 21, p. 37-53, 1980.

KOSIN I.L.; KONISHI, T. Pre-incubation storage conditions and their effect on the subsequent liveability of chicken embryos: exogenous CO₂, plastic bags and extended holding periods as factors. **Poultry Science**, v.52, p.296-302, 1973.

LEDUR, M. C. et al. Genetic effects of aging on egg quality traits in the first laying cycle of White Leghorn strains and strains crosses. **Poultry Science**, v. 81, p. 1439-1447, 2002.

LIJLA, C.; OLSSON, U. Changes in embryonic development associated with long-term selection for high growth rate in Japanese quail. **Growth**, v.51, p.301-308, 1987.

MAIORKA, A. et al. Idade da matriz e qualidade do pintainho. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. 2. ed. Jaboticabal: FACTA, 2003. Cap. 4.2, p. 361-377..

MARTIN, S. A importância do embriodiagnóstico. **AveWorld**, n. 5, p. 16-20, out/nov 2003.

MATHER, M. C.; LAUGHLIN, K. F. Storage of hatching eggs: the effect on early embryonic development. **British Poultry Science**, v. 18, p. 597-603, 1977.

MATHER, M. C.; LAUGHLIN, K. F. Storage of hatching eggs: the effect on total incubation period. **British Poultry Science**, v. 17, p. 471-479, 1976.

MCLOUGHIN, L.; GOUS, R. M. The effect of egg size on pre and post-natal growth of broiler chickens. **World Poultry**, v. 15, n. 8, p. 34-38, 1999.

MEIJERHOF, R. Temperatura do embrião: uma nova ferramenta. **AveWorld**, n. 2, p. 36-40, abr/mai 2003.

MEIJERHOF, R. Pre-incubation holding of hatching eggs. *World's Poultry Science Journal*, v.48, p.57-68, 1992.

MEIJERHOF, R. The storage of hatching egg. In: **Proceedings of the First International Incubation Conference**, Ed Action Publications Ltd. Utrecht, Netherlands, 1994. p. 2-5.

MEIR, M.; NIR, A.; AR, A. Increasing hatchability of turkey eggs by matching incubator humidity to shell conductance of individual eggs. **Poultry Science**, v. 63, p. 1489-1496, 1984.

MICHEL, G.; SCHWARZE, E. **Compêndio de anatomia veterinária**. Tomo VI – Embriologia. 1ª ed. Zaragoza: Acribia, 1970.

MISRA, L. K. et al. Nuclear magnetic resonance study of egg quality deterioration: differences in thick and thin albumen. **Poultry Science**, v. 59, p. 1640-1641, 1980.

MONTGOMERY, R. H.; STEWART, D. A. A comparison of measured and estimates Haugh units with factors affecting their differences. **British Poultry Science**, v. 14, p. 445-450, 1973.

MUAMBI, S.; DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Influence de la durée de conservation des oeufs sur la durée d'incubation, le taux d'éclosion et la croissance postnatale chez la race de volaille "Roche Island Red". **Revue Zaïroise des Sciences Nucléaire**, v. 1, p. 65-83, 1980.

NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. Egg physical characteristics and hatchability. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p. 297-303, 2002.

NEW, D. A. T. A critical period for the turning of hen's eggs. **Journal of embryology and experimental morphology**, v. 5, p. 293-299, 1957.

PEEBLES, E. D. et al. Albumen height and yolk and embryo compositions in broiler hatching eggs during incubation. **Poultry Science**, v. 79, p. 1373-1377, 2000.

PEEBLES, E. D. **Factors affecting broiler hatching egg production**. 1986. Ph.D. Dissertation, 1986.

PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v. 34, p. 111-120, 1993.

PINCHASOV, Y. Relationship between the weight of hatching eggs and subsequent early performance of broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 32, p. 109-115, 1991.

PROUDFOOT, F. G.; HAMILTON, R. M. G. Care of hatching ages before incubation. **Agriculture Canada Publication**, p. 1373, 1990.

RAGHAVAN, V. Give day-old chicks the best start. **World Poultry**, v. 15, n. 1, p. 28-29, 1999.

RAHN, H.; AR, A.; PAGANELLI, C. V. How bird eggs breathe. **Scientific American**, v. 240, p. 208-217, 1979.

RICKLEFS, R.E. Comparative analysis of avian embryonic growth. **J. Exp. Zool.**, suplemento 1, p.309-323, 1987.

ROBERTSON, I. S. The influence of turning on the hatchability of hen's eggs. II. The effect of turning frequency on the pattern of mortality, the incidence of malpositions, malformations and dead embryos with no somatic abnormality. **Journal of Agricultural Science**, v. 57, p. 39-47, 1961.

ROMANOFF, A. L. **The avian embryo**. New York: Macmillan, 1960.

ROSA, P. S. 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.

ROSA, P. S.; ÁVILA, V. S. Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos em matrizes de frango de corte. **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 246, p. 1-3, maio 2000.

RUIZ J.; LUNAM C.A. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. **British Poultry Science**, v. 43, n.3, p.374-383, 2002.

SALAZAR, A. I. Retrospectiva de la incubación artificial y su futuro inmediato. **Industria Avícola**, v. 50, n. 2, p. 36–41, febrero 2003.

SAS Institute Inc. **SAS User's Guide: Statistics**, Version 8, 1999.

SCHMIDT, G. S.; FIGUEIREDO, E. A. P.; ÁVILA, V. S. Incubação: características dos ovos incubados. **Circular Técnica Embrapa**, n. 35, 12p., 2003. ISSN 0102-3713.

SCHMIDT, G. S.; FIGUEIREDO, E. A. P.; ÁVILA, V. S. Incubação: estocagem dos ovos férteis. **Comunicado Técnico Embrapa**, n. 303, p. 1-5, 2002a.

SCHMIDT, G. S.; FIGUEIREDO, E. A. P.; ÁVILA, V. S. Fatores que afetam a qualidade do pinto de corte. **Avicultura Industrial**, n. 9, ed. 1105, p. 14-18, 2002b.

SCOTT, T. A.; MACKENZIE, C. J. Incidence and classification of early embryonic mortality in broiler breeder chicken. **British Poultry Science**, v. 34, p. 459-470, 1993.

SHANAWANY, M. M. Hatching weight in relation to egg weight in domestic birds. **World's Poultry Science Journal**, v. 43, p. 107-115, 1987.

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

SITTMANN, K.; ABPLANALP, H.; ABOTT, U. K. Extended storage of quail, chicken and turkey eggs. 2. Embryonic abnormalities and the inheritance of twining in quail. **Poultry Science**, v. 50, p. 714-722, 1971.

SPARKS, N. H. Shell formation and function and its role in incubation. In: DEEMING, D. C. **Practical aspects of commercial incubation in poultry**. Ratite Conference Books: Oxford, UK, 2002. p. 11-16.

TAYLOR, G. High-yield breeds require special incubation. **World Poultry**, v. 3, n. 15, p. 27-29, 1999.

TAZAWA, H.; WHITTOW, G. C. Incubation physiology. In: **Sturkie's avian physiology**. Academic Press, London, p. 617-634, 2000.

TAZAWA, H. et al. Ontogenic study of thermoregulation in birds. **Journal of Thermal Biology** v. 26, p.281-286, 2001.

TONA, K. **Effects of age of broiler breeders, incubating egg storage duration and turning duration during incubation on embryo physiology and broiler production parameters**. 2003. 176 f. Tese (Doutorado) – Faculdade Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Katholieke Universiteit Leuven, K. U. Leuven, 2003.

TULLETT, S. G. Theoretical and practical aspects of eggshell porosity. **Turkeys**, v. 29, p. 24-28, 1981.

VICK, S. V.; BRAKE, J.; WALS, T. J. Relationship of incubation humidity and flock age to hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 72, p. 251-258, 1993.

VIEIRA, S. L.; MORAN JÚNIOR, E. T. Effects of egg of origin and chick post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, p. 125-142, 1999.

YANNAKOPOULOS, A. L.; TSERVENI-GOUSHI, A. S. Research note: effect of breeder quail age and egg weight on chick weight. **Poultry Science**, v. 66, p. 1558-1560, 1987.

WHITEHEAD, C. C. et al. Influence of egg storage on hatchability, embryonic development and vitamin status in hatching broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 26, p. 221-228, 1985.

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, 1987.

WILSON, H.R. Physiological requirements of the developing embryo: temperature and turning. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. Butterworths, London, 1991. p.145-156.

ZAFRIRA N.G. et al., Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v. 32, p.515-523, 1991.