

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

**ESTUDO DA VIRAGEM DOS OVOS PROVENIENTES DE MATRIZES  
PESADAS DE DIFERENTES IDADES EM INCUBADORAS DE PEQUENA  
ESCALA**

**BRUNO DELPHINO MEDRADO**

**SALVADOR - BA  
AGOSTO - 2015**



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

**ESTUDO DA VIRAGEM DOS OVOS PROVENIENTES DE MATRIZES  
PESADAS DE DIFERENTES IDADES EM INCUBADORAS DE PEQUENA  
ESCALA**

**BRUNO DELPHINO MEDRADO**  
**Médico Veterinário**

**SALVADOR - BA**  
**AGOSTO – 2015**

**BRUNO DELPHINO MEDRADO**

**ESTUDO DA VIRAGEM DOS OVOS PROVENIENTES DE  
MATRIZES PESADAS DE DIFERENTES IDADES EM  
INCUBADORAS DE PEQUENA ESCALA**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção de monogástricos

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Michalsky Barbosa  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lia Muniz Barretto Fernandes

**SALVADOR - BA  
AGOSTO - 2015**

### **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

BRUNO DELPHINO MEDRADO – Filho de Ibere Vieira Medrado e Maria Silvia Delphino Medrado. Nascido em Salvador-Ba no dia 04/08/1982. Ingressou em Medicina Veterinária na Universidade Federal da Bahia no ano de 2004 e formou-se no ano de 2009. Possui especialização em clínica e cirurgia de equinos pela Faculdade de Jaguariúna no ano de 2011. Ingressou no programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFBA no ano de 2013 e se submeteu a banca examinadora para obtenção do título de mestre no mês de agosto de 2015. Ingressou no serviço público Federal em janeiro de 2010, ocupa atualmente o cargo de médico veterinário do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – Campus Santa Inês.

**Este trabalho é dedicado à minha querida família. Aos meus preciosos filhos Bruninho e Iguito e a minha amada esposa Lorena. Foi por eles que o desafio foi aceito, portanto, nada mais justo de presenteá-los com essa conquista.**

**AMO VOCÊS.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido saúde para a realização deste trabalho.

Aos meus pais queridos, Ibere e Silvia, por terem me educado e proporcionado coisas boas em minha vida. E me transformaram no homem que eu sou.

Minha querida esposa Lorena por estar sempre do meu lado nas horas boas, mas principalmente as horas ruins. E por sempre me dar força para continuar.

Aos meus filhos queridos, Bruninho e Iguito, por sempre me alegrar e me fazer uma pessoa feliz.

A toda a família, minha irmã Heloisa e meus sobrinhos Cacá e Bebel. Por sempre torcerem por mim.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – Campus Santa Inês. Principalmente nas pessoas do professor Clóvis Vaz Sampaio Filho e do professor Nelson Vieira da Silva Filho, pelo apoio e por permitirem o meu aperfeiçoamento profissional.

Em especial, à professora Vanessa Michalsky Barbosa. Em primeiro lugar por ter aceitado a orientação, mas principalmente pelos ensinamentos e por me fazer evoluir dentro da pesquisa e da ciência.

Gostaria de agradecer sinceramente às minhas colegas do NUPIA. Larissa, Isabela, Silvania, Dayanna, Taís, Tayana e Priscila. Vocês foram fundamentais para a execução do trabalho. Foi ótimo trabalhar com vocês.

À professora Lia Fernandes por ser minha co-orientadora, mas principalmente por ser sempre muito solícita e estar sempre disposta a ajudar. Estendo os agradecimentos a toda a equipe do LASAB, à médica veterinária Isabela e à Rebeca por toda a ajuda dispensada.

À toda equipe do Laboratório de Solos, na pessoa do professor Vagner Maximino Leite, e da colega Paula e demais estudantes pela imensa ajuda na realização das análises.

Agradeço a professora Maria Consuelo pela grande ajuda nas análises hematológicas, e pelos ensinamentos de grande valia na elaboração do trabalho. Um agradecimento para as alunas Laís, Ingrid e Silvia por sempre serem muito prestativas e pela ajuda nas análises.

Obrigado ao Laboratório de Alimentos do Senai-Cimatec por abrir suas portas e permitir a execução de análises nas suas instalações.

Ao incubatório da empresa Gujão Alimentos<sup>®</sup> por propiciar a aquisição dos ovos para a realização do trabalho.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b>	Avaliação da densidade dos ovos.....	31
<b>Figura 2.</b>	Medição de altura e diâmetro de albúmen e gema.....	32
<b>Figura 3.</b>	Medição de pH de albúmen.....	33
<b>Figura 4.</b>	Aparelho texturômetro.....	34
<b>Figura 5.</b>	Medição de espessura da casca.....	35
<b>Figura 6.</b>	Espectrofotômetros.....	36
<b>Figura 7.</b>	Máquinas incubadoras Premium Ecológica®.....	37
<b>Figura 8.</b>	Embriodiagnóstico.....	38
<b>Figura 9.</b>	Esfregação sanguíneo.....	40
<b>Figura 10.</b>	Células sanguíneas dos pintinhos.....	41



**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b>	Peso absoluto (g) do ovo e de seus componentes de acordo com os tratamentos.....	44
<b>Tabela 2.</b>	Coeficientes de correlação entre o peso (g) dos componentes do ovo e o peso total (g) do ovo.....	44
<b>Tabela 3.</b>	Peso relativo (%) dos componentes do ovo em relação ao peso total de acordo com os tratamentos.....	45
<b>Tabela 4.</b>	Relação gema/albumen de acordo com os tratamentos.....	46
<b>Tabela 5.</b>	pH do albumen, altura do albumen, unidades Haugh e índice de gema de acordo com os tratamentos.....	47
<b>Tabela 6.</b>	Densidade do ovo, resistência e espessura da casca de acordo com os tratamentos.....	49
<b>Tabela 7.</b>	Coeficientes de correlação (r) entre densidade do ovo, resistência e espessura da casca com o peso do ovo, peso da casca e percentual de casca.....	50
<b>Tabela 8.</b>	Concentração de minerais da casca do ovo de acordo com os tratamentos.....	51
<b>Tabela 9.</b>	Eclodibilidade total e eclodibilidade sobre os ovos férteis (%) de acordo com os tratamentos.....	52
<b>Tabela 10.</b>	Período de mortalidade embrionária em relação ao total de ovos férteis de acordo com os tratamentos.....	54
<b>Tabela 11.</b>	Escore de umbigo e percentual de pintos refugos de acordo com os tratamentos.....	55
<b>Tabela 12.</b>	Momento do nascimento dos pintos (h) de acordo com os tratamentos.....	56
<b>Tabela 13.</b>	Peso (g) total dos pintos ao nascimento de acordo com os tratamentos.....	57
<b>Tabela 14.</b>	Coeficiente de correlação entre o peso (g) do ovo e o peso (g) do pinto ao nascimento.....	58
<b>Tabela 15.</b>	Peso (%) dos pintos em relação ao peso do ovo de acordo com os tratamentos.....	59

<b>Tabela 16.</b>	Peso corporal (g), YFBM (g) e peso do saco vitelino (g) de acordo com os tratamentos.....	60
<b>Tabela 17.</b>	Relação YFBM/Peso corporal e percentual de saco vitelino em relação ao peso corporal de acordo com os tratamentos.....	61
<b>Tabela 18.</b>	Peso coração (g), fígado (g) e pulmão (g) de acordo com os tratamentos.....	63
<b>Tabela 19.</b>	Peso intestino (g) e proventrículo com moela (g) de acordo com os tratamentos.....	64
<b>Tabela 20.</b>	Percentual de coração, fígado e pulmão em relação ao YFBM de acordo com os tratamentos.....	65
<b>Tabela 21.</b>	Percentual de intestino e proventrículo com moela em relação ao YFBM de acordo com os tratamentos.....	66
<b>Tabela 22.</b>	Volume globular (%) dos pintos de acordo com os tratamentos.....	67
<b>Tabela 23.</b>	Glicose (mg/dL), lactato (mg/dL), e ácido úrico (mg/dL) dos pintos de acordo com os tratamentos.....	69
<b>Tabela 24.</b>	Relação Heterófilo/Linfócito (H/L) dos pintos de acordo com os tratamentos.....	71

**LISTA DE SIGLAS**

ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
AcUr CV	Coefficiente de variação do ácido úrico plasmático
ATP	Adenosina tri fosfato
CV	Coefficiente de Variação
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
EPM	Erro padrão da média
FSE	Fluido subembrionário
Glic CV	Coefficiente de variação da glicose plasmática
H/L	Relação heterófilo/linfócito
HHA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IG	Índice de gema
Lac CV	Coefficiente de variação do lactato plasmático
PC CV	Coefficiente de variação do peso corporal
pCO <sub>2</sub>	Pressão parcial de gás carbônico
Pcor CV	Coefficiente de variação do peso do coração
Pfig CV	Coefficiente de variação do peso do fígado
pH	Potencial hidrogeniônico
Pint CV	Coefficiente de variação do peso do intestino
pO <sub>2</sub>	Pressão parcial de oxigênio
Pprm CV	Coefficiente de variação do peso do proventrículo + moela
Ppul CV	Coefficiente de variação do peso do pulmão
Prcor CV	Coefficiente de variação do peso relativo do coração
Prfig CV	Coefficiente de variação do peso relativo do fígado
Print CV	Coefficiente de variação do peso relativo do intestino
Prprm CV	Coefficiente de variação do peso relativo do proventrículo + moela
Prpul CV	Coefficiente de variação do peso relativo do pulmão
RPM	Rotações por minuto
SACV CV	Coefficiente de variação do saco vitelino residual
SAV/PC	Relação entre o saco vitelino residual e o peso corporal

SEM	Semanas
T <sub>3</sub>	Triiodotironina
T <sub>4</sub>	Tiroxina
UH	Unidades Haugh
UR	Umidade relativa
UV	Ultravioleta
VG	Volume globular
YFBM CV	Coefficiente de variação do peso do corpo sem o saco vitelino residual
YFBM	Peso do corpo sem o saco vitelino residual
YFBM/PC	Relação entre o peso corporal sem o saco vitelino e o peso corporal

## SUMÁRIO

### ESTUDO DA VIRAGEM DOS OVOS PROVENIENTES DE MATRIZES PESADAS DE DIFERENTES IDADES EM INCUBADORAS DE PEQUENA ESCALA

	Página
Resumo	
Abstract	
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	2
2.1. Idade da matriz.....	2
2.1.1. Influência da idade da matriz sobre a qualidade dos ovos.....	4
2.1.2. Influência da idade da matriz sobre o rendimento da incubação.....	8
2.1.3. Influência da idade da matriz sobre a fisiologia embrionária.....	10
2.2. Viragem.....	18
2.2.1. Influência da viragem sobre o desenvolvimento embrionário.....	19
2.2.2. Influência da viragem sobre o rendimento da incubação.....	21
2.2.3. Influência da viragem sobre a fisiologia embrionária.....	25
3. Material e métodos.....	29
3.1. Experimento.....	29
3.2. Local.....	30
3.3. Ovos (coleta, seleção e armazenamento).....	30
3.4. Primeira Fase experimental - Qualidade dos ovos incubáveis.....	30
3.4.1. Densidade ou peso específico.....	31
3.4.2. Peso do ovo e seus componentes.....	31
3.4.3. Altura de albúmen e gema, diâmetro de gema.....	32
3.4.3.1. Unidades Haugh.....	33
3.4.3.2. Índice de gema.....	33
3.4.4. pH de albúmen.....	33

3.4.5. Resistência da casca.....	34
3.4.6. Espessura da casca.....	35
3.4.7. Dosagem de cálcio, fósforo e magnésio da casca.....	35
3.5. Segunda fase experimental – Incubação.....	36
3.5.1 Nascimento dos pintinhos.....	38
3.5.2. Taxa de eclosão em relação ao total de ovos incubados e a taxa de eclosão em relação aos ovos férteis (%)......	38
3.5.3. Embriodiagnóstico, mortalidade embrionária e infertilidade.....	38
3.5.4. Análises com os pintinhos.....	39
3.5.4.1. Avaliação dos pintos refugos.....	39
3.5.4.2. Avaliação do escore de umbigo.....	39
3.5.4.3. Coleta de sangue e hematologia.....	40
3.5.4.4. Peso dos órgãos e relação entre peso dos órgãos e peso do pinto.....	42
3.6. Delineamento experimental.....	43
4. Resultados e discussão.....	44
4.1. Fase experimental 1 - Qualidade dos ovos incubáveis.....	44
4.2. Fase experimental 2.....	51
4.2.1. Rendimento da incubação.....	51
4.2.2. Fisiologia embrionária.....	55
5. Conclusões.....	71
6. Referências bibliográficas.....	72

MEDRADO, B. D. **Estudo da viragem dos ovos provenientes de matrizes pesadas de diferentes idades em incubadoras de pequena escala.** Salvador-Ba: Universidade Federal da Bahia – UFBA, 2015. 83p. (Dissertação – Mestrado – Produção de monográficos)

## RESUMO

Objetivou-se estudar os efeitos da duração da viragem e da idade da matriz pesada sobre a qualidade dos ovos, o rendimento da incubação e a fisiologia dos pintos de corte em máquinas incubadoras de pequeno porte. Utilizaram-se ovos de matrizes da linhagem Cobb® com idade de 29 e 62 semanas. 100 ovos de cada idade foram utilizados para as análises de qualidade dos ovos. A incubação ocorreu em três máquinas Premium Ecológica® IP200D, onde se incubaram 200 ovos em cada máquina (100 por idade de matriz). Realizaram-se três períodos de viragem: Incubadora 1- viragem contínua até o 7º dia, Incubadora 2- viragem a cada duas horas até o 7º dia e Incubadora 3- viragem a cada duas horas até o 18º dia. Houve influência da idade sobre o peso do ovo e componentes, densidade do ovo, resistência da casca, teor de magnésio e fósforo da casca, unidades Haugh, altura e pH de albúmen e índice de gema. Não houve influência da viragem sobre a eclodibilidade dos ovos férteis. Os ovos de aves jovens apresentaram maior eclodibilidade sobre os ovos férteis do que os ovos das matrizes velhas. Pintos provenientes de ovos de aves jovens nasceram com média de 504 horas de incubação enquanto os pintos provenientes de ovos de aves velhas obtiveram média de 498 horas. Os pintos virados de forma contínua apresentaram maior duração da incubação (502 h), o menor tempo foi observado nos pintos virados por 18 dias (499 h). O peso ao nascer, peso corporal sem o saco vitelino residual (YFBM) e peso absoluto dos órgãos foram significativamente influenciados pela idade da matriz, enquanto que o peso do saco vitelino e SAV/PC também sofreu efeito da duração da viragem. Os embriões virados por 18 dias apresentaram VG de 30% e aqueles com viragem contínua apresentaram 26%. Pintos de aves novas apresentaram glicemia significativamente superior em comparação com os pintos de aves velhas. A glicemia foi superior nos pintos virados de forma contínua em comparação com os outros períodos de viragem. A relação heterófilo/linfócito não foi influenciada pela idade da matriz, assim como pelo período de viragem. Concluiu-se que a idade da matriz altera a qualidade dos ovos e interfere no rendimento da incubação. A viragem pode ser interrompida no 7º dia sem prejuízo para a eclodibilidade, e o aumento da frequência neste período mostrou-se ser benéfico ao desenvolvimento embrionário.

**Palavras-chave:** desenvolvimento embrionário, eclodibilidade, frangos de corte incubação artificial, metabólitos plasmáticos

MEDRADO, B. D. **Study of turning eggs from broiler breeders of different ages in small scale incubators.** Salvador-Ba: Universidade Federal da Bahia - UFBA, 2015. 83p. (Dissertation – Master of Science in Animal Science – Monogastric production)

### ABSTRACT

The objective was to study the effects of turning period and breeder age on egg quality, incubation yield and physiology of day-old broiler chicks, in small incubators. Eggs produced by Cobb<sup>®</sup> hens aged 29 and 62 weeks were used. 100 eggs of each age were used for the egg's quality analysis. The incubation occurred in three incubators Premium ecológica<sup>®</sup> IP200D, two hundred eggs were incubated in each (100 by hen age). There were three periods of turning: Incubator 1- continuous turning up to the 7th day, Incubator 2- turning every two hours up to the 7th day and Incubator 3- turning every two hours up to the 18th day. There was influence of age on egg weight and components, egg density, resistance, eggshell magnesium and phosphorous content, Haugh units, height and pH of albumen and yolk index. There was no effect from turning on hatchability of fertile eggs. The eggs of young hens showed better fertile hatchability in comparison to eggs of old hens. Chicks of young hen's eggs hatched with an average of 504 hours of incubation while the chicks of old hen's eggs obtained average of 498 hours. The chicks had turned continuously presented longer duration of incubation (502 h), the shorter time was observed in chicks turned for 18 days (499 h). Weight at hatch, YFBM and absolute organ weights were significantly influenced by breeder age, while the weight of yolk sac and SAV/PC also was affected by the length of the turn. Embryos turned for 18 days showed VG of 30% and those with turning still presented 26%. Young hen's chicks exhibited significantly higher blood glucose compared to old hen's chicks. Blood glucose was higher in chicks turned continuously compared with other periods of turning. The heterophil/lymphocyte ratio was not affected by breeder age, as well as the turning period. It was concluded that the age of the hen changes the quality of eggs and interferes with the yield of incubation. The turning can be stopped on the 7th day without impairment to the hatchability, and the increased frequency during this period appears to be beneficial to the developing embryo.

**Keywords:** artificial incubation, broiler, embryonic development, hatchability, plasma metabolites



## 1. INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira no ano de 2014 foi responsável por 1,5% do PIB e gerou cerca de cinco milhões de empregos diretos e indiretos. A alta tecnologia em manejo, nutrição, genética e sanidade fez do Brasil o maior exportador de carne de frango do mundo. Neste contexto de demanda elevada, torna-se necessária a otimização da primeira fase da cadeia, que é a incubação artificial, visando alcançar maiores índices de eclodibilidade e de pintinhos de alta qualidade.

Apesar do advento das máquinas incubadoras com controle computadorizado dos fatores físicos envolvidos no desenvolvimento embrionário dos frangos, melhorias significativas nos índices de eclodibilidade não foram alcançadas. Este fato evidencia que outras variáveis estão envolvidas no processo e que podem interferir no resultado final da incubação. Portanto, é fundamental o entendimento destas e da relação entre elas, a fim de produzir um maior número de pintos para a cadeia produtiva.

As pequenas propriedades do Brasil se caracterizam por diversidade produtiva, a fim de aumentarem a geração de receitas. A incubação artificial em máquinas de pequeno porte por vezes é realizada por esses produtores, com o intuito de produzir os frangos que serão comercializados por eles. Entretanto, poucos estudos são realizados neste tipo de incubadora. Além disso, os mecanismos como os fatores físicos atuam sobre o desenvolvimento embrionário ainda são poucos conhecidos dentro deste contexto.

O desenvolvimento dos embriões na máquina incubadora está na dependência de quatro fatores físicos; temperatura, umidade relativa, viragem e ventilação. Estas quatro variáveis em conjunto irão ditar o ritmo do desenvolvimento, a qualidade dos pintos e as características produtivas dos frangos. Além disso, no decorrer da vida produtiva das matrizes ocorrem mudanças nas características dos ovos incubáveis, tanto externa como internamente. A literatura relata que o manejo dos fatores físicos da incubação deve ser ajustado de acordo com as características dos ovos, determinadas principalmente pela idade da matriz no momento da postura, para que os índices produtivos da incubação sejam melhorados.

Um fator de fundamental importância para o desenvolvimento embrionário é a viragem, principalmente na fase inicial da incubação. Normalmente, em incubatórios

industriais a viragem é realizada até o 18º dia de incubação. Entretanto, em máquinas de pequeno porte, muitas vezes a viragem é realizada de forma manual, necessitando de mão de obra, ou então, de motores elétricos que consomem energia e oneram o produtor.

Porém, o período compreendido entre o 3º e o 7º dia de incubação é tido como o mais importante para a realização da viragem. É nesta fase que ocorre o desenvolvimento da membrana corioalantóidea, responsável pelas trocas gasosas, e a produção do fluido subembrionário (FSE), responsável pela nutrição inicial do embrião. Portanto, a hipótese gerada foi que a viragem pode ser interrompida após a primeira semana de incubação sem prejuízos ao desenvolvimento embrionário e ao rendimento da incubação. Além disso, também é possível que, o aumento da frequência da viragem no período inicial do desenvolvimento embrionário resulte em benefícios ao embrião.

Diante do citado, este trabalho foi executado com o intuito de estudar a influência da viragem e da idade da matriz, no processo de incubação artificial realizado em incubadoras de pequeno porte. Foi dada ênfase à qualidade dos ovos, rendimento da incubação e parâmetros fisiológicos dos pintos eclodidos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Idade da Matriz**

A produção do frango com excelentes índices zootécnicos até a idade de abate é o principal objetivo do avicultor. Alguns fatores, como a nutrição e o ambiente, já foram bem documentados sobre suas influências no desempenho do plantel. Existem outros fatores menos compreendidos, como a idade da matriz, que podem exercer efeito sobre o período embrionário e, conseqüentemente, na qualidade do pinto e no seu potencial de desenvolvimento durante a criação (TONA *et al.*, 2004).

De acordo com O'Dea *et al.* (2004), Hamidu *et al.* 2007, Hullet *et al.* (2007), Traldi *et al.* (2011) e Barbosa *et al.* (2012), o ciclo de produção das matrizes se inicia por volta da 22ª semana, atingindo seu pico aproximadamente na 33ª semana e se estende até 68 a 70 semanas. A idade das matrizes é um fator de extrema importância

que afeta tanto a qualidade dos ovos, a fisiologia embrionária, o rendimento da incubação e o desempenho da progênie.

No decorrer do ciclo de produção das matrizes ocorrem mudanças nas características dos ovos incubáveis, tanto na qualidade externa como nas propriedades dos componentes internos. O peso do ovo se eleva do início para o final do ciclo de produção, e este é correlacionado com o peso do pintinho. À medida que a ave envelhece, o percentual de gema aumenta e o de albúmen e casca diminui em relação ao peso do ovo. O albúmen perde qualidade à medida que a idade se eleva, e a característica da casca é também bastante influenciada pela idade da matriz, havendo uma perda de qualidade com o envelhecimento das aves (BENTON & BRAKE, 1996; SILVERSIDES & SCOTT, 2001; JOSEPH & MORAN, 2005; CHERIAN, 2008; NANGSUAY *et al.*, 2011; BARBOSA *et al.*, 2012).

Os parâmetros fisiológicos durante o desenvolvimento embrionário sofrem influência da idade da matriz. Embriões de matrizes mais velhas têm maior produção de calor, consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> em relação aos embriões de aves jovens, o que significa um metabolismo mais acelerado, refletindo em menor tempo de incubação (O'DEA *et al.*, 2004; LOURENS *et al.*, 2005; ULMER-FRANCO *et al.*, 2010). Nangsuay *et al.* (2011) e Nangsuay *et al.* (2013) afirmaram que o comprimento do pinto, peso do corpo sem a gema, consumo de gema, peso da gema residual, taxa de conversão da gema em massa corporal e a eficiência de utilização da energia dos nutrientes são aspectos do desenvolvimento que se modificam dependendo da idade da matriz. Os autores argumentaram também, que os pintos provenientes de matrizes velhas eclodem mais pesados do que aqueles nascidos dos ovos de galinhas jovens.

O rendimento da incubação é de extrema importância para a indústria avícola. Fertilidade, eclodibilidade total e eclodibilidade dos ovos férteis, mortalidade embrionária e qualidade dos pintos eclodidos são algumas variáveis que estão sob influência da idade das matrizes. A fertilidade e a eclodibilidade diminuem ao longo do ciclo de vida das reprodutoras. Além disso, matrizes jovens produzem maior percentual de pintos de primeira qualidade, que são aqueles saudáveis e livres de deformações, quando comparadas às matrizes velhas (TONA *et al.*, 2001a; ELIBOL *et al.*, 2002; TONA *et al.*, 2004; ALSOBAYEL & ALBADRY, 2012; BARBOSA *et al.*, 2013).

### 2.1.1. INFLUÊNCIA DA IDADE DA MATRIZ SOBRE A QUALIDADE DOS OVOS

As características dos ovos estão intimamente correlacionadas com a idade das matrizes. As galinhas jovens produzem ovos que se diferenciam, na qualidade da casca e do albúmen, por exemplo, dos ovos postos por aves velhas (TONA *et al.*, 2001b). As matrizes avícolas com o decorrer da vida produtiva produzem folículos maiores, este fato resulta na postura de ovos maiores, assim como no aumento da relação entre o peso da gema e o peso do ovo (SILVERSIDES & SCOTT, 2001; VIEIRA, 2001). Joseph & Moran (2005) trabalharam com aves de 32 e 41 semanas e analisaram as características dos ovos destas galinhas. O peso dos ovos das aves jovens foi significativamente menor que o peso das aves mais velhas. Além disso, o percentual de gema aumentou e o de albúmen diminuiu com o aumento da idade das aves e não houve alteração significativa no que diz respeito à casca entre os tratamentos. A gema aumentou seu peso em cerca de 40% da 30<sup>a</sup> semana para a 50<sup>a</sup> semana, enquanto o albúmen elevou sua massa em apenas 13%. Nangsuay *et al.* (2011) também observaram um aumento na relação gema:albúmen à medida que a ave envelhece.

A influência da idade nos componentes internos do ovo, além de acarretar mudanças quantitativas, também provoca modificações na qualidade destes, evidenciada por alterações nos teores de sólidos da gema e do albúmen em relação ao peso do ovo (NANGSUAY *et al.*, 2013). No experimento destes pesquisadores, os ovos provenientes das matrizes velhas apresentaram níveis de sólidos da gema somada ao albúmen, estatisticamente superior aos ovos das aves jovens, entretanto quando se comparou cada componente isoladamente, o teor de sólidos da gema foi superior para os ovos de galinhas velhas, ocorrendo o inverso quando o albúmen foi avaliado. Além disso, o conteúdo energético dos componentes também foi estudado e observou-se maior energia no albúmen dos ovos das aves jovens (29 semanas) e maior energia na gema dos ovos das aves velhas (53 semanas). Porém, de acordo com os autores, a contribuição energética do albúmen é mínima em relação à gema, e como a relação gema:albúmen foi superior nas aves velhas, os ovos destas apresentaram significativamente mais energia do que os ovos das matrizes novas.

Traldi *et al.* (2011) realizaram dois experimentos com o objetivo de avaliar o efeito da idade da matriz e do peso do ovo sobre o peso dos componentes. No primeiro

ensaio os autores incubaram ovos de matrizes Ross<sup>®</sup> com 29 e 55 semanas e analisaram o peso do ovo e de seus componentes. Os resultados demonstraram que os ovos das matrizes velhas foram estatisticamente mais pesados (68,76g) do que os ovos de aves jovens (57,84g). Com relação ao peso absoluto dos componentes, os ovos das aves velhas foram significativamente superiores aos das aves jovens. Entretanto, aves jovens apresentaram maior percentual de albúmen e casca, enquanto o percentual de gema foi inferior, quando comparados aos ovos de aves velhas. No segundo ensaio foram incubados ovos de matrizes das mesmas idades citadas, porém com pesos semelhantes, e média de 62g. Todavia, o peso relativo dos componentes se apresentou de forma semelhante ao primeiro ensaio, para ovos de aves jovens e velhas. De acordo com os resultados dos dois experimentos, os autores concluíram que a relação entre os componentes e o peso total do ovo é dependente da idade das matrizes.

Peso específico e unidades Haugh, também estão sob influência da idade da matriz. Tumova & Gous (2012) avaliaram ovos de matrizes Cobb<sup>®</sup> 500 (36 e 64 semanas), e Lohmann<sup>®</sup> Brown (22 e 83 semanas). O peso do ovo foi significativamente maior nas aves velhas (69,3g) em comparação com as aves jovens, que apresentaram peso de 59,4g. Os pesos relativos dos componentes não diferiram entre as idades de matrizes. Os ovos de galinhas novas apresentaram peso específico e unidades Haugh estatisticamente superiores aos ovos de aves velhas (1,082 vs. 1076; 79,8UH vs. 66,7UH, respectivamente). De acordo com os autores, com o avanço da idade, ocorre uma redução da qualidade da casca devido a uma menor espessura desta, o que reduz sua densidade. Além disso, os pesquisadores explanaram que ocorre uma diminuição na altura do albúmen devido à perda de proteínas, fazendo com que haja diminuição das UH.

Benton & Brake (1996) estudaram as características de albúmen de ovos de matrizes de 30 e 50 semanas e não observaram influência da idade das matrizes no pH deste componente. Por outro lado, a altura do albúmen foi significativamente maior em ovos de matrizes jovens em comparação aos das aves mais velhas, e isto pode estar relacionado a um fenômeno de desnaturação da estrutura terciária das proteínas do albúmen, que resulta de um fenômeno de exaustão em decorrência da idade e da alta demanda para uma produção contínua. Segundo Tumova & Gous (2012), a quantidade de ovomucina no ovo diminui com a idade da matriz, e este fato explica porque a altura

do albúmen diminui com o decorrer do envelhecimento das aves. Esta diferença na altura do albúmen entre as idades irá influenciar o tempo ideal de armazenamento antes da incubação, podendo os ovos provenientes de aves jovens, serem armazenados por mais tempo. Segundo os autores, um albúmen mais denso, evidenciado por maior altura, protege o embrião contra perda excessiva de água no período que antecede a incubação.

Semelhante aos autores citados anteriormente, Lapão *et al.* (1999) avaliaram a interação entre idade e período de armazenamento e o efeito destes na qualidade do albúmen e na eclodibilidade. Foram utilizados ovos de matrizes com 32, 42, 54 e 59 semanas que foram armazenados por 0, 1, 4 e 8 dias antes de serem incubados. O pH do albúmen no dia da postura foi crescendo de forma significativa com o aumento da idade das aves, entretanto no quarto dia de armazenamento esta diferença entre as idades não permaneceu. De acordo com os autores, aves mais velhas põe ovos com embriões em estágio de desenvolvimento mais avançado e com maior taxa metabólica, aliado a uma casca mais fina com maior condutância, que promove maior liberação de dióxido de carbono para o meio externo, o que eleva o pH do albúmen. A altura do albúmen foi estatisticamente maior para os ovos das aves jovens (32 semanas) comparando às aves com 59 semanas. Os pesquisadores concluíram que se for necessária uma estocagem prolongada dos ovos, deve-se optar por ovos de matrizes jovens aos ovos de galinhas velhas.

Ngoka *et al.* (1983) avaliaram a influência da idade da matriz sobre o índice de gema. Foram estudados ovos postos por matrizes da linhagem White Leghorn com 26 e 56 semanas. Os ovos das matrizes jovens apresentaram índice de gema de 0,59, que foi significativamente superior ao índice de gema dos ovos das matrizes velhas (0,51). De acordo com os autores, os ovos de aves jovens possuem membrana vitelina mais resistente quando comparados aos ovos de aves velhas. Aliado a isso, Fromm & Matrone (1962), Fromm (1964) e Kirunda & Mckee (2000) afirmaram que o índice de gema (IG) é positivamente correlacionado com a força da membrana vitelina. Consequentemente, embriões de ovos com menor índice de gema podem sofrer algum prejuízo na fase inicial do desenvolvimento, devido ao enfraquecimento da membrana vitelina, pois esta é a responsável por proteger o embrião e mantê-lo separado do albúmen no início da incubação, até que o âmnio esteja completamente formado (SADLER, 1955; REIJRINK *et al.*, 2008).

O tamanho do ovo aumenta com a idade da matriz, do mesmo modo que o peso da casca também aumenta ou pode se manter estável. Entretanto, o aumento no peso do ovo não é proporcionalmente acompanhado pela elevação do peso da casca, de forma que o percentual de casca se reduz com o avançar da idade (ROBERTS, 2004). Barbosa *et al.* (2012) analisaram diversas características da casca dos ovos de matrizes de 33 e 63 semanas. O peso específico, a espessura da casca, das membranas e a resistência da casca foram significativamente superiores nos ovos de matrizes novas, enquanto o número de poros da casca foi superior nos ovos das aves velhas. Os ovos de matrizes velhas possuíam menos casca relativamente ao peso do ovo, em decorrência de uma menor deposição de carbonato de cálcio por unidade de área. A condutância da casca aumenta nos ovos de matrizes velhas e conseqüentemente estes perdem mais água para o meio externo, fato evidenciado no experimento de Barbosa *et al.* (2013), no qual foram incubados ovos de matrizes com 33 e 63 semanas. A taxa de perda de peso foi de 9,9% para os ovos de aves jovens, significativamente menor do que os 11,1% dos ovos das galinhas velhas. De acordo com estes resultados os autores concluíram que as matrizes novas possuem ovos com uma melhor qualidade de casca quando comparados as matrizes velhas.

Cusack *et al.* (2003) analisaram ovos de um mesmo lote de matrizes pesadas em diferentes idades do período de produção, especificamente as idades de 28, 42 e 56 semanas, com o objetivo de avaliar a influência da idade da matriz na distribuição de cálcio, fósforo e magnésio na casca do ovo. Os resultados demonstraram que as concentrações de magnésio e fósforo não são constantes na casca do ovo, e dependem da idade da matriz. Neste experimento houve um aumento significativo na concentração de magnésio e fósforo à medida que as aves envelheceram. A concentração de cálcio se manteve constante durante todo o ciclo de produção. Os autores explicaram que os padrões de deposição do magnésio e fósforo podem estar interligados. Estes dois minerais aumentam sua deposição na fase final de permanência do ovo no útero, fazendo com que nas aves velhas, por apresentarem maior tempo para a ovoposição, ocorra aumento na concentração de fósforo e magnésio (OGAWA *et al.*, 2004). Além disso, as concentrações destes minerais estão correlacionadas com o teor de matéria orgânica da casca, e as cascas dos ovos de matrizes velhas possuem mais matéria orgânica quando comparados aos ovos de matrizes jovens. Siske *et al.* (2007) também

afirmaram que à medida que a idade aumenta, a quantidade de cálcio depositada não se altera.

A concentração de minerais (cálcio, magnésio e fósforo) na casca do ovo, de matrizes Lohmann® Brown com 22 e 83 semanas e Cobb® com 36 e 64 semanas de idade, foi estudada por Tumova *et al.* (2014). Neste mesmo experimento foram avaliadas algumas características inerentes à qualidade da casca como a espessura e a resistência. Ovos provenientes de matrizes velhas apresentaram significativamente maior concentração de magnésio (0,37%) em comparação aos ovos de aves jovens (0,35%). O teor de cálcio (média de 34%) e fósforo na casca (média de 0,12%) não foi influenciado pela idade das matrizes. No que diz respeito à espessura da casca, não houve diferença estatística entre as idades. Entretanto, houve diferença estatística na resistência, sendo os ovos de aves jovens, os que possuíam a casca mais resistente. Os autores afirmaram que, os principais fatores envolvidos na deposição de cálcio e fósforo são a temperatura ambiental em que as matrizes são criadas e o momento da ovoposição. Os pesquisadores argumentaram também, que o magnésio pode ser importante para manter a espessura da casca, haja vista a semelhança desta característica nos ovos de aves jovens e velhas.

#### 2.1.2. INFLUÊNCIA DA IDADE DA MATRIZ SOBRE O RENDIMENTO DA INCUBAÇÃO

Alguns índices relativos à incubação são influenciados pela idade das matrizes, dentre eles se encontram a fertilidade e a eclodibilidade dos ovos. Tona *et al.* (2001a) estudaram 260 incubações contendo ovos de matrizes com idade entre 27 e 75 semanas e concluíram que a idade das aves exerce efeito sobre a eclodibilidade, mortalidade e quantidade de pintinhos refugos, que são aqueles impróprios para serem comercializados. Os autores demonstraram que a idade entre 31 e 40 semanas foi a que significativamente apresentou maiores índices de eclodibilidade e menores índices de mortalidade e de pintos refugos. Elibol *et al.* (2002) incubaram ovos de matrizes com 31 semanas e 52 semanas. A eclodibilidade foi significativamente superior para os ovos provenientes das aves mais novas, e foi afetada principalmente pela maior mortalidade tardia nos ovos postos pelas aves velhas. Em outro experimento, Alsobayel & Albadry



(2012) avaliaram a influência da idade em alguns índices relacionados ao rendimento da incubação. Os ovos incubados foram provenientes de aves que iniciaram o experimento com 20 semanas e foram utilizadas até as 52 semanas. Os resultados mostraram que a idade influenciou na eclodibilidade total e fertilidade dos ovos e que estes parâmetros diminuíram com o decorrer da idade das aves. Entretanto, a eclodibilidade dos ovos férteis e a mortalidade embrionária não foram afetadas por esta variável e se mantiveram constante durante todo o ciclo de produção.

O declínio da eclodibilidade, que ocorre com o decorrer da idade das aves, é causado pelo aumento da mortalidade, que por sua vez está fortemente relacionado ao aumento da perda de peso dos ovos das matrizes velhas durante a incubação (TONA *et al.*, 2001b). Estes autores acompanharam 36000 ovos de matrizes da linhagem Cobb®, entre 25 e 65 semanas de idade, e avaliaram a influência da idade sobre parâmetros como eclodibilidade, mortalidade embrionária e mal posicionamento dos embriões. Os resultados demonstraram uma função quadrática, sendo que a maior eclodibilidade, a menor mortalidade embrionária e o menor número de mal posicionamento foram atingidos na 42ª semana de vida. Os pesquisadores argumentaram que antes da 40ª semana, os ovos são menores, com menos poros e casca mais espessa, dificultando as trocas respiratórias. Além disso, após a 40ª semana, os ovos se tornam maiores, o que prejudica a ventilação e aumenta a produção de calor embrionário. Portanto, os ovos de matrizes muito jovens e velhas estão sujeitos a maior mortalidade embrionária em comparação com aquelas aves que estão em uma idade média do ciclo de produção.

A forma como o processo de incubação deve ser realizado, isto é, a aplicação dos fatores físicos de modo a melhorar os resultados deve ser feita levando em consideração as diferenças existentes nos ovos devido à idade das matrizes (Elibol *et al.*, 2002; Tona *et al.*, 2004). Elibol & Brake (2006a) incubaram ovos de matrizes novas e velhas e submeteram a duas frequências de viragem, 24 e 96 vezes por dia. A eclodibilidade dos ovos férteis foi significativamente superior para as aves jovens, entretanto a eclodibilidade dos ovos provenientes das matrizes velhas foi melhorada devido ao aumento da frequência de viragem. Isto ocorreu, segundo os autores, pois os ovos das aves com idade superior são de pior qualidade, e que a viragem diferenciada deste grupo ajudou a minimizar esta característica. Neste mesmo trabalho outros parâmetros foram estatisticamente diferentes entre os ovos das duas idades, a

mortalidade embrionária, precoce e tardia, foi menor para os embriões de aves jovens e a fertilidade dos ovos destas foi superior em comparação aos das aves velhas.

Ylmaz-Dikmen & Sahan (2009) avaliaram índices de incubação dos ovos de matrizes com 28, 45 e 65 semanas. A eclodibilidade apresentou um decréscimo significativo com o aumento da idade. As aves mais jovens apresentaram maior eclodibilidade 92%, seguida por 83% e 62% para as matrizes com 45 e 65 semanas, respectivamente. Estes índices ocorreram principalmente pelo aumento na mortalidade embrionária inicial que aumentou à medida que as aves envelheceram (2%, 4% e 8% para matrizes de 28, 45 e 65 semanas, respectivamente). O experimento de Abudabos (2010), utilizando ovos de matrizes Cobb<sup>®</sup> (26 e 44 semanas) e Ross<sup>®</sup> (32 e 36 semanas), apresentou uma redução na eclodibilidade com o avanço da idade das matrizes. Segundo o autor os principais fatores responsáveis por este resultado são o maior tamanho dos ovos das matrizes velhas, o aumento na mortalidade embrionária, a redução na qualidade de casca, que permite excesso de perda de peso, e uma redução nas propriedades do albúmen.

Barbosa *et al.* (2013) demonstraram que a fertilidade dos ovos é influenciada pela idade das matrizes. Estes autores avaliaram ovos de matrizes Cobb<sup>®</sup> com 33 e 63 semanas. A fertilidade foi significativamente superior para as aves jovens, com 98%, enquanto que as aves velhas apresentaram fertilidade de 93%, comprovando a correlação positiva entre idade e infertilidade. No mesmo trabalho a eclodibilidade total também foi afetada pela idade das aves, sendo estatisticamente superior nos ovos de galinhas novas (87%) em comparação com 82% nos ovos de matrizes velhas.

### 2.1.3. INFLUÊNCIA DA IDADE DA MATRIZ SOBRE A FISIOLOGIA EMBRIONÁRIA

Peebles *et al.* (2001) incubaram ovos de matrizes Arbor Acres<sup>®</sup> com 27 e 36 semanas e avaliaram a perda de peso nos dias 6, 12 e 18 de incubação. O percentual de perda de peso dos ovos das matrizes mais velhas (4,1%, 8,1% e 11,5% para cada dia de mensuração, respectivamente) foi significativamente superior em comparação com a perda dos ovos de matrizes jovens (3,3%, 6,5% e 10,0%). De acordo com os pesquisadores, este resultado ocorreu devido principalmente a uma menor espessura e

percentual da casca nas aves mais velhas, que propicia uma maior taxa de perda de água e consequentemente maior perda de peso. Além disso, o metabolismo embrionário das linhagens modernas de frango de corte aumenta com o decorrer da idade da matriz, o que aumenta a produção de vapor de água (O'DEA *et al.*, 2004).

O efeito da idade da matriz sobre a fisiologia embrionária foi demonstrado no trabalho de Joseph & Moran (2005). Neste estudo os autores incubaram ovos de matrizes de 32 e 41 semanas. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa na eclodibilidade entre os dois tratamentos, entretanto o tempo de incubação foi influenciado pela idade do plantel. O tratamento com ovos de aves mais jovens apresentou um maior percentual de pintos nascidos tardiamente (acima de 506h), enquanto que o tratamento com ovos de aves velhas obteve maior percentual de pintos nascidos mais precocemente (até 504h). Portanto, o período de incubação se tornou menor com o decorrer da idade da matriz. Os autores explicaram que este fato ocorreu devido à soma de uma maior taxa metabólica dos embriões com uma maior condutância da casca dos ovos de matrizes velhas, que fez com que estes se desenvolvessem mais rapidamente, e consequentemente tivessem que eclodir mais precocemente.

Barbosa *et al.* (2013) incubaram ovos de matrizes velhas e novas, com 63 e 33 semanas respectivamente, e verificaram que 24 horas antes do dia estipulado para a eclosão o percentual de pintos eclodidos dos ovos de aves jovens foi significativamente menor (33,4%) em comparação com o percentual de pintos eclodidos dos ovos de matrizes velhas, que foi de 40,3%. Entretanto, faltando dez horas para finalizar os 21 dias de incubação esta diferença na eclosão não mais existiu. Os autores justificaram este resultado argumentando que os ovos de aves velhas possuem maior capacidade de troca gasosa durante a incubação, e que isto pode ser o responsável pelo início antecipado dos nascimentos.

O trabalho de Ulmer-franco *et al.* (2010) demonstrou que existe diferença entre o metabolismo e desenvolvimento dos embriões de frango de corte da linhagem Cobb® postos por matrizes com 29 e 59 semanas. Os embriões provenientes das aves jovens apresentaram tempo para bicagem externa (494,4h) e eclosão (503,8h) significativamente superior aos embriões das aves velhas, que apresentaram 490,2h e 500,4h, respectivamente. Segundo os autores estes resultados demonstram que os embriões de aves jovens possuem um metabolismo mais lento em relação aos embriões

de aves velhas. Ainda de acordo com os pesquisadores estes dados são importantes para tomadas de decisões quanto ao momento correto, a depender da idade da matriz, de se retirar os embriões do nascedouro.

O comportamento do embrião no que diz respeito ao seu metabolismo, isto é, consumo de O<sub>2</sub>, produção de CO<sub>2</sub>, produção de calor e concentração de glicogênio hepático, sofre influência da idade da matriz, como demonstrado no trabalho de O'Dea *et al.* (2004). Foram incubados em câmaras metabólicas, ovos de aves com idades de 33 e 38 semanas. Os embriões provenientes das aves mais velhas apresentaram significativamente maior consumo de O<sub>2</sub>, produção de CO<sub>2</sub> e calor e maior temperatura da casca durante a incubação. Além disso, os pintos nascidos destes ovos apresentaram menor teor de glicogênio hepático em relação ao outro tratamento. Os autores explicaram que a principal fonte de energia para a eclosão é o glicogênio, e que este é mais demandado sob estresse térmico. Deste modo, os resultados demonstrados acima indicaram um maior metabolismo dos embriões de aves velhas em relação aos de matrizes novas.

Lourens *et al.* (2005) incubaram ovos de matrizes de 28 e 60 semanas e avaliaram a relação entre a temperatura da máquina de incubação e a temperatura embrionária, por meio da temperatura da casca. Os ovos foram incubados de forma a manter a temperatura da casca em 36,8°C ou 37,8°C na primeira semana e 37,8°C ou 38,9°C na terceira semana. Durante a segunda semana todos os ovos foram mantidos a 37,8°C. Os resultados encontrados mostraram que a idade das aves influenciou na produção de calor do embrião e conseqüentemente na temperatura da casca dos ovos. A incubadora dos ovos de aves velhas teve sua temperatura reduzida mais precocemente quando comparada com a máquina dos ovos de matrizes novas para que a mesma temperatura da casca fosse alcançada. Aliado a este fato, durante toda a incubação, a diferença entre a temperatura da máquina e a temperatura da casca foi menor nos ovos de aves jovens, principalmente nos tratamentos com maior temperatura da casca, evidenciando que estes ovos produziram menos calor e, portanto, maior temperatura deveria ser transferida a partir da máquina para o embrião.

Morita *et al.* (2009) incubaram ovos de matrizes da linhagem Cobb 500<sup>®</sup> com 29 e 60 semanas e avaliaram alguns parâmetros fisiológicos sanguíneos nos pintinhos, entre eles a glicemia, a relação heterófilos/linfócitos (H/L) e o volume globular (VG)

(hematócrito). A idade das matrizes não exerceu efeito sobre a glicemia dos pintos, não havendo diferença estatística entre esta variável nos pintinhos provenientes de aves jovens (290 mg/dL) e dos pintos provenientes de aves velhas (280 mg/dL). Entretanto, foi observada uma correlação ( $r=0,87$ ) entre glicose plasmática e peso corporal durante o desenvolvimento embrionário. O hematócrito e a H/L também foram semelhantes entre os pintos das aves velhas e jovens. Os autores concluíram neste experimento, que o metabolismo energético e a citologia sanguínea dos pintos não podem ser associados com a idade das matrizes. De forma semelhante, Christensen et al. (2001) também não observaram diferença na glicemia de pintos de um dia provenientes de matrizes com 24 e 53 semanas.

A influência da idade da matriz (33 e 62 semanas) sobre a glicemia, teor de lactato plasmático e o VG foi estudada no experimento de Barbosa (2011). Foram realizadas coletas de sangue no 15°, 17°, 19°, 20° dia e logo após a eclosão. A idade da matriz não influenciou a glicemia dos embriões em nenhuma das coletas, assim como não houve diferença entre os tratamentos na taxa de glicose dos pintinhos de um dia, com valores variando entre 221mg/Dl e 225mg/Dl. O lactato plasmático também não foi influenciado, em nenhuma dos momentos de coleta, pela idade das matrizes neste experimento. O hematócrito dos pintos de um dia também foram semelhantes tanto para aqueles nascidos de aves jovens, assim como os nascidos de aves velhas. O trabalho de Luquetti *et al.* (2004), estudando a hematologia de pintos provenientes de matrizes com 30, 45 e 60 semanas, encontrou resultados semelhantes aos descritos pelo autor citado acima, no que diz respeito ao hematócrito. Neste último trabalho, o VG foi 34%, 36% e 35% para as três idades citadas, respectivamente, sem que houvesse diferença estatística entre elas.

Molenaar *et al.* (2010a) analisaram a concentração de glicose, lactato e ácido úrico plasmático de pintos de um dia proveniente de ovos de matrizes da linhagem Dekalb® White com 40 semanas. A glicemia média foi de 222 mg/dL. O teor de lactato e ácido úrico foram 27,6 mg/dL e 2,7 mg/dL, respectivamente. Investigando as mesmas variáveis do trabalho citado anteriormente, com pintos da linhagem Hybro® provenientes de matrizes com 50 semanas, Molenaar *et al.* (2011) encontraram os seguintes valores para glicose, lactato e ácido úrico plasmático: 211 mg/dL, 29,3 mg/dL e 3,2 mg/dL, respectivamente. Van de Ven *et al.* (2013) observaram que pintos da

linhagem Cobb 500<sup>®</sup> nascidos de matrizes com 40 semanas apresentaram glicemia de 214 mg/dL, enquanto Willemsen *et al.* (2010), estudando pintos de um dia da última linhagem citada, encontraram teor de lactato plasmático de 36 mg/dL.

A contagem de heterófilos e linfócitos tem sido utilizada como um indicativo de estresse em galinhas, existindo uma relação normal entre essas duas células para uma ave saudável. A H/L é de um para dois, respectivamente (GROSS & SIEGEL, 1983; MAXWELL *et al.*, 1992; MAXWELL, 1993; PRIETO & CAMPO, 2010). Todavia, em decorrência da elevada concentração de corticosterona plasmática que ocorre na fase final da incubação, pode ocorrer uma linfopenia associada com heterofilia nos pintos recém-eclodidos. Consequentemente, a H/L pode ser pouco específica para pintos de um dia (ZULKIFLI & SIEGEL, 1994). Zulkifli & Siegel (1994) encontraram relação de 1,77 nos pintos recém-eclodidos de matrizes White Plymouth Rock com 60 semanas. Gonzales *et al.* (2003) encontraram H/L de 1,25 para pintos de um dia provenientes de matrizes Avian Farm<sup>®</sup> com 52 semanas de idade. A H/L dos pintos eclodidos no trabalho de Morita *et al.* (2009) foi 0,45 para aqueles provenientes de matrizes com 29 semanas, e 1,02 para os pintos nascidos de matrizes com 60 semanas. Em outro trabalho, Morita *et al.* (2010) encontraram valor de 0,2 para H/L, trabalhando com pintos de um dia da linhagem Cobb<sup>®</sup>, eclodidos de matrizes com 29 semanas. Estes dados demonstram a grande variação deste parâmetro entre os pintos de matrizes de diversas idades.

Yadgary *et al.* (2010) estudaram as características, as modificações e a utilização dos nutrientes do conteúdo da gema, membrana do saco da gema e ambos, de ovos de matrizes com idades de 30 e 50 semanas. As análises foram realizadas a partir do 13<sup>o</sup> dia de incubação e repetidas no 17<sup>o</sup>, 19<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dia (eclosão). O peso do saco da gema, do conteúdo e da membrana foi significativamente superior nos ovos das matrizes velhas durante todo o período. O teor de proteína e gordura do saco da gema foi estatisticamente superior em todas as análises nos ovos de aves velhas, entretanto nenhuma diferença foi encontrada quanto ao teor de carboidrato. Segundo os autores estes resultados demonstram que os pintos nascidos de aves jovens possuem menor reserva energética no momento da eclosão e que embriões provenientes de ovos de matrizes jovens e velhas possuem diferentes padrões de absorção dos nutrientes da gema, principalmente gordura.

Alguns parâmetros relacionados ao desenvolvimento embrionário, entre eles comprimento do pinto, peso do pinto sem o saco vitelino, consumo do saco vitelino, peso do saco vitelino residual e taxa de conversão da gema em massa corporal foram analisados no trabalho de Nangsuay *et al.* (2011), com o objetivo de avaliar o efeito da idade das aves sobre estas variáveis. Os autores incubaram ovos de tamanho pequeno (57 a 61g) e grande (66 a 70g), postos por matrizes com 29 e 53 semanas de idade. O peso corporal livre de gema e o comprimento do pinto à eclosão foram semelhantes entre as idades de matrizes, porém o consumo de gema em relação ao seu peso inicial foi significativamente superior para os embriões nascidos dos ovos de matrizes velhas, que conseguiram converter melhor os nutrientes da gema em massa corporal, já que a taxa de conversão da gema foi estatisticamente superior para estes pintos. Por outro lado, embriões provenientes de ovos pequenos apresentaram menor peso corporal livre da gema e comprimento, entretanto, apresentaram significativamente maior absorção de gema em comparação aos embriões de ovos grandes. Os autores concluíram que independentemente da idade da matriz, o tamanho do ovo tem grande importância no desenvolvimento embrionário e absorção dos nutrientes da gema.

Tona *et al.* (2004) avaliaram a influência da idade das matrizes sobre parâmetros produtivos durante a incubação. Foram incubados ovos da linhagem Cobb<sup>®</sup>, de matrizes com 35 e 45 semanas. Os pintos que eclodiram com maior peso (49,05g) foram provenientes das aves velhas, enquanto que as aves jovens produziram pintos com 45g. Segundo os autores, este fato ocorreu devido ao maior peso dos ovos das matrizes velhas no início da incubação. Da mesma forma, Joseph & Moran (2005) incubaram ovos de matrizes Ross<sup>®</sup> de 32 e 41 semanas. Os pintos provenientes das aves mais velhas nasceram com peso significativamente maior do que aqueles vindos das aves jovens. Além disso, o peso absoluto do saco vitelino destes também foi mais pesado.

Entretanto, Peebles *et al.* (2001) incubaram ovos de matrizes Arbor Acres<sup>®</sup> com 27 e 36 semanas e observaram que os pintos das aves mais jovens absorveram significativamente maior quantidade de gema e apresentaram maior peso corporal livre do saco vitelino residual. Resultados semelhantes foram encontrados por Hamidu *et al.* (2007), trabalhando com ovos da linhagem Ross<sup>®</sup> e Cobb<sup>®</sup>, postos por matrizes com 29 e 55 semanas. Os pintos das aves novas apresentaram maior percentual de peso corporal sem o saco vitelino em relação ao peso corporal, e um menor percentual de saco vitelino

em relação ao peso corporal, quando comparados aos pintos de aves velhas. Em outro trabalho, Barbosa (2011), também observou que o peso absoluto médio do saco vitelino residual (6,47g) e o percentual deste em relação ao peso corporal (13,5%) foram significativamente superiores em pintos nascidos de matrizes pesadas com 63 semanas, em comparação com os pintos de nascidos de aves com 33 semanas, que apresentaram peso absoluto de saco vitelino com média de 5,28g e 12,5% em relação ao peso do corpo. Segundo Burnham *et al.* (2001) pintos descendentes de matrizes novas têm maior absorção de saco vitelino do que aqueles originados de matrizes mais velhas, provavelmente para compensar possíveis deficiências de nutrientes na gema ou uma ineficiência na transferência de lipídios ou utilização destes nutrientes pelo embrião.

Almeida *et al.* (2006) estudaram as características da incubação de ovos de matrizes Cobb 500<sup>®</sup> com idade de 32, 43 e 60 semanas. Os ovos foram incubados em incubadoras Premium Ecológica<sup>®</sup>. O peso dos pintos ao nascimento aumentou significativamente com o avançar da idade das matrizes. De acordo com os autores o peso dos pintos à eclosão é fortemente influenciado pela idade da matriz e à medida que a ave envelhece passa a produzir ovos com maior proporção de gema em relação ao peso do ovo. Sendo assim, ovos de matriz velha com o mesmo peso que ovos de matriz nova possuem gema maior, e desta maneira produzem pintos mais pesados ao nascimento. De forma semelhante, Barbosa *et al.* (2013) demonstraram que pintos provenientes de matrizes com 33 semanas são significativamente mais leves que os pintos provenientes de aves de 63 semanas (42,1g e 47,5g respectivamente).

O estudo de Barbosa (2011) demonstrou que o peso do coração de pintos de matrizes novas e velhas apresentou o mesmo padrão do peso corporal. O peso médio absoluto dos corações dos pintos nascidos de matrizes Cobb<sup>®</sup> com 63 semanas foi significativamente maior (0,40g) quando comparados ao peso médio absoluto dos corações dos pintos nascidos das aves de 33 semanas (0,36g). Entretanto, neste experimento, não houve diferença estatística no percentual do coração em relação ao peso corporal entre os pintos das aves de ambas as idades. Luquetti *et al.* (2004) corroboraram estes resultados. No estudo destes autores, pintos nascidos de matrizes pesadas com 30 semanas de idade, apresentaram peso médio de coração (0,21g) e de pulmão (0,28g) significativamente inferiores ao peso médio de coração (0,23g) e de pulmão (0,30g) dos pintos provenientes de matrizes com 60 semanas de idade. Todavia,



Morita *et al.* (2009) não encontraram diferença significativa no peso absoluto médio e no percentual médio em relação ao peso corporal do coração e do fígado dos pintos nascidos de matrizes Cobb<sup>®</sup> com 29 e 60 semanas de idade.

Ovos da linhagem Cobb<sup>®</sup>, provenientes de matrizes com 30 e 60 semanas de idade foram incubados por Maiorka *et al.* (2004), com a finalidade de avaliar a ação da idade sobre parâmetros como peso ao nascer e peso dos órgãos. Os pintos vindos dos ovos postos por aves mais velhas nasceram significativamente mais pesados (45g) em comparação com os pintos das aves de 30 semanas (41g). O peso médio absoluto do saco vitelino e seu peso médio relativo ao peso corporal foram estatisticamente inferiores nos pintos das aves jovens. Enquanto que, o peso médio relativo do trato gastrointestinal (moela + proventrículo + intestino) foi maior nos pintos das aves com 30 semanas. Não houve diferença no peso médio absoluto desses órgãos entre os tratamentos. Os fígados dos pintos das aves de 60 semanas foram significativamente mais pesados (0,89g), quando comparados aos pintos das aves jovens (0,76g). O peso médio relativo do fígado foi semelhante entre os dois grupos. Com o mesmo objetivo do trabalho anterior, Sabry *et al.* (2013) incubaram ovos de matrizes Ross<sup>®</sup> com idade de 32 e 49 semanas. Os resultados relacionados ao peso ao nascer e peso de saco vitelino foram semelhantes ao trabalho de Maiorka *et al.* (2004). Entretanto, não houve diferença no peso relativo do trato gastrointestinal (média de 9,4%) e no peso relativo do coração (média de 0,8%) entre os tratamentos.

Molenaar *et al.* (2010a) estudaram o desenvolvimento dos órgãos de pintos de um dia proveniente de ovos de matrizes leves da linhagem Dekalb<sup>®</sup> White com 40 semanas. Os órgãos foram avaliados com base no seu peso em relação ao corpo livre do saco vitelino. O coração representou uma relação de 0,9%, o pulmão 0,7%, o fígado 2,6% e o intestino 3,8% do peso corporal sem o saco vitelino. Pesquisando as mesmas variáveis do trabalho citado anteriormente, com pintos da linhagem Hybro<sup>®</sup> provenientes de matrizes com 50 semanas, Molenaar *et al.* (2011) encontraram os seguintes valores: peso relativo do coração 0,7%, pulmão 0,9%, fígado 2,6% e intestino 4,1%. Van de Ven *et al.* (2013) observaram que pintos da linhagem Cobb 500<sup>®</sup> nascidos de matrizes com 40 semanas apresentaram percentual médio de coração em relação ao corpo sem a gema de 0,7%, o pulmão foi 0,6%, o fígado 2,3% e o intestino 3,1%.

## 2.2. Viragem

A necessidade da viragem para atingir bons índices de eclodibilidade foi reconhecida desde o início do processo de incubação artificial, ainda nos precoces fornos incubatórios, onde os ovos eram virados manualmente para mimetizar o comportamento das aves na natureza (BAGGOTT *et al.*, 2002). A prática adotada nos incubatórios comerciais é mover os ovos em um ângulo de 90°, a cada hora, sendo 45° de cada lado em relação à linha horizontal. Entretanto, nas máquinas de pequeno porte, os ovos são colocados na posição horizontal e são girados em torno do seu eixo longitudinal. Geralmente quando os ovos são transferidos para o nascedouro, a viragem não se faz mais necessária, porém, é de extenso conhecimento que a eclodibilidade e a qualidade dos pintos são prejudicadas quando a viragem não é realizada antes da transferência, principalmente na primeira semana de incubação (DEEMING, 2009).

De acordo com Tazawa (1980), Baggott *et al.* (2002), Tona *et al.* (2005), Cutchin *et al.* (2009) e Deeming (2009), os ovos que são virados durante a incubação experimentam alguns benefícios inerentes desta prática: os embriões são capazes de utilizar mais eficientemente o albúmen através da total dissolução de suas proteínas no âmnio, transformam de maneira mais satisfatória os nutrientes da gema em massa corporal, apresentam melhor desenvolvimento da área vascular e da membrana corioalantóideia melhorando as trocas gasosas e produzem maior volume de fluido subembrionário.

O processo de viragem dos ovos durante a incubação artificial exerce efeito sobre algumas variáveis importantes, dentre as quais estão o rendimento de incubação, desenvolvimento embrionário e parâmetros fisiológicos. Entretanto, a influência da movimentação dos ovos no interior da máquina sobre estas variáveis, é dependente de alguns pontos, entre eles estão o momento em que a viragem é aplicada, a frequência, a duração e o ângulo da viragem, a qualidade dos ovos incubados, a idade e a linhagem das matrizes, o período de armazenamento antes da incubação. Além disso, o tipo de máquina incubadora é extremamente importante, devido ao controle ambiental e posicionamento dos ovos, que nas máquinas de pequeno porte são diferenciados em relação às máquinas industriais (NEW, 1957; TONA *et al.*, 2001a; ELIBOL & BRAKE, 2003; ELIBOL & BRAKE, 2006b; ELIBOL & BRAKE, 2008; CUTCHIN *et al.*, 2009).

### 2.2.1. INFLUÊNCIA DA VIRAGEM SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

O estudo da influência da viragem sobre os ovos incubados deve se basear na sua importância em determinados estágios no período de incubação. O conhecimento de como determinada fase de desenvolvimento embrionário é sensível à viragem ajuda a entender sua atuação sobre o embrião ou ao menos estreita as possíveis explicações sobre este fator (NEW, 1957). Segundo este pesquisador, a disposição dos componentes internos do ovo sugere que o período crítico para a viragem dos ovos é a metade final da primeira semana de incubação. Neste período o córion está muito próximo da membrana interna da casca, e entre eles se encontra uma camada de albúmen, que já está reduzida devido à perda de água para a gema. Portanto, neste estágio podem ocorrer aderências anormais entre o córion e a membrana interna da casca se não houver uma movimentação periódica destes componentes, isto é, se não houver a viragem. Desta forma, a viragem dos ovos entre o 4º e 7º dia diminui a resistência à movimentação entre o córion e a membrana interna da casca por meio do fornecimento constante de camadas frescas e umedecidas de albúmen para as regiões secas da membrana.

Tona *et al.* (2005) submeteram ovos a cinco durações de viragem (sem viragem, até 9, 12, 15 e 18 dias) durante a incubação, e analisaram o peso do embrião e o consumo de albúmen no 12º, 15º e 18º dia de incubação. O peso do embrião foi significativamente maior, nos três períodos analisados, nos ovos que foram submetidos à viragem em comparação ao grupo que não foi virado. O inverso ocorreu em relação ao peso do albúmen remanescente. Além disso, ocorreu uma relação linear negativa entre peso embrionário e consumo de albúmen, independente dos tratamentos. Segundo os autores, o processo de viragem parece fornecer um estímulo adicional para aumentar o consumo do albúmen. Neste mesmo trabalho, de acordo com a comparação entre os grupos que receberam a viragem, concluiu-se que virar os ovos até o décimo oitavo dia não produz aumento significativo no peso embrionário e consumo de albúmen, podendo a viragem ser interrompida no 15º dia.

O volume do FSE, o desenvolvimento da área vascular, a utilização do albúmen e o peso do pinto eclodido são variáveis do desenvolvimento embrionário que estão sob influência da viragem dos ovos durante a incubação (DEEMING, 2009). Os

embriões não submetidos à viragem durante a incubação apresentam uma organização de seus componentes internos (embrião, gema e albúmen) diferente dos ovos virados. Nos ovos que não são virados, os embriões possuem menor fluuabilidade na gema e o albúmen repousa abaixo, na parte inferior do ovo. Desta maneira o albúmen não consegue penetrar na conexão seroamniótica e dissolver suas proteínas no âmnio, onde seria consumido via trato gastrintestinal e também penetraria no saco da gema (CUTCHIN *et al.*, 2009).

O pequeno período de incubação dos ovos de espécies domésticas como galinhas e codornas exige que o conteúdo de água do albúmen seja eficientemente transferido para dentro da gema. Neste sentido o processo de viragem tem a capacidade de dissolver camadas firmes de albúmen e melhorar a difusão da água para a formação do FSE (DEEMING, 2009). Além disso, a viragem permite uma completa transferência das proteínas do albúmen para o líquido amniótico. Portanto, a utilização do albúmen está correlacionada com a viragem, e conseqüentemente, espécies que possuem muito albúmen, devem ter seus ovos frequentemente virados (BAGGOTT *et al.*, 2002; CUTCHIN *et al.*, 2009).

A angulação na qual os ovos são virados durante a incubação também afeta o desenvolvimento da área vascular, a formação do FSE e a utilização do albúmen pelo embrião, como foi demonstrado no trabalho de Cutchin *et al.* (2009). Este experimento consistiu na viragem com dois ângulos em relação à linha horizontal, 15° e 45°, e frequência de uma vez a cada hora. No sexto dia da incubação, o tamanho da área vascular e o volume do FSE foram significativamente maiores (17 ml) para os embriões submetidos à maior angulação, e 15 ml para o outro tratamento, enquanto que o percentual de embriões com albúmen residual no 18° dia foi estatisticamente superior para os ovos virados a 15° (20,88%) em comparação com 0,88% nos ovos virados a 45°. Os autores argumentaram que a área vascular tem papel na formação do FSE. A área vascular não se desenvolve normalmente nos ovos com viragem a 15°, e este fato reduziu a síntese do FSE. Além disso, a diminuição do FSE no início da incubação se correlaciona com o aumento do albúmen residual, o que prejudica a utilização de nutrientes do FSE por parte do embrião. Estes resultados demonstraram que o ângulo de viragem influencia a capacidade de produção de FSE e consumo de albúmen.

A densidade da gema, do albúmen e do FSE, foram investigadas no trabalho de Baggott *et al.* (2002). Segundo os pesquisadores, os ovos incubados de forma estática apresentam densidade da gema maior em comparação com ovos que são virados, ocorrendo o inverso para a densidade do albúmen. Deste modo, as gemas de ovos que não são virados apresentam uma força de flutuação menor e por isso se movem com mais dificuldade no albúmen, produzindo camadas grossas entre este e a casca. Este processo faz com que o blastoderma fique mais longe da membrana corioalantóidea dificultando as trocas gasosas. De acordo com estes pesquisadores a falta de viragem tem a sua maior influência sobre o blastoderma durante a produção de FSE, que ocorre, principalmente por volta do segundo e terceiro dia, período em que, uma incubação estática provoca uma ausência de mistura do albúmen, mantendo próximo ao embrião as camadas com menor concentração de sódio. Além disso, provoca uma redução da expansão da área vascularizada nesta fase.

Segundo Latter & Baggott (2002), a movimentação do albúmen auxilia a dissipar as camadas com depleção de sódio e assim, permite máxima transferência de sódio e água para dentro do FSE. Portanto, o resultado da falta de viragem é uma diminuição no suprimento de sódio, conseqüentemente, ocorrendo menor secreção de FSE, pois a mesma é dependente de um transporte ativo deste íon pelas células endodermis do blastoderma. Os autores também afirmaram que, outro efeito que ocorre é o atraso na mudança de concentração de glicose e proteína no FSE. Nos ovos não virados a concentração de glicose mantém-se elevada em comparação com os ovos que sofrem viragem, demonstrando que os embriões de ovos virados utilizam melhor este nutriente, que é um dos responsáveis pelo desenvolvimento embrionário e crescimento da área vascularizada. O teor de proteína do FSE se eleva mais precocemente nos embriões submetidos à viragem, quando comparados àqueles que são incubados de forma estática.

### 2.2.2. INFLUÊNCIA DA VIRAGEM SOBRE O RENDIMENTO DA INCUBAÇÃO

New (1957) realizou um experimento para testar os efeitos da viragem durante determinados períodos da incubação. Os ovos incubados foram virados do 4º ao 7º dia, do 8º ao 11º, do 1º até o 18º dia e o último tratamento foi sem viragem dos ovos. Os

resultados demonstraram que os efeitos na eclodibilidade para os ovos virados do 4° ao 7° dia foram similares àqueles que foram virados até o 18° dia, e que virar os ovos apenas entre o 8° e 11° dia não foi diferente de não virar os ovos. Com base nos resultados, o autor concluiu que, sob as condições da época, isto é, tipo de máquina e característica do embrião, o período fundamental para garantir boa eclodibilidade é a primeira semana da incubação.

Ovos da linhagem Hy-Line® W-36 e Cobb® foram incubados por Wilson & Wilmering (1988), com o objetivo de estudar os efeitos da viragem sobre a eclodibilidade. A viragem foi interrompida no 10°, 13°, 16° e 19° dia de incubação. Houve significativa redução na eclodibilidade dos ovos quando a viragem foi interrompida no 10° dia, em comparação com ovos que foram virados por 13, 16 e 19 dias. Estes autores atribuíram este resultado ao fato do fechamento da membrana corioalantóidea na extremidade apical do ovo só ocorrer por volta do 12° ou 13° dia de incubação. Portanto interromper a viragem antes desse período pode ter prejudicado o desenvolvimento embrionário.

Tona *et al.* (2001a) incubaram ovos de matrizes de três linhagens diferentes, Cobb®, Hybro® e Ross®, e avaliaram a influência do momento de transferência para o nascedouro (dia 15, 16, 17 e 18), ou seja, momento em que estes ovos deixaram de ser virados, sobre parâmetros da incubação. A eclodibilidade dos ovos foi significativamente maior quando a interrupção da viragem ocorreu no 18° dia (92,3%) em comparação com os ovos virados até os dias 15, 16 e 17 (89,14%, 89,37% e 90,14%, respectivamente), que não diferiram entre si. Na comparação entre linhagens, as taxas de eclosão também foram significativamente maiores nos tratamentos onde a viragem ocorreu até o 18° dia, porém, a magnitude do efeito do dia de transferência foi diferente para cada uma delas, mostrando que a ação da duração da viragem sobre os ovos depende também da genética da matriz. Neste mesmo trabalho, o efeito da duração da viragem sobre a eclodibilidade de matrizes de idades diferentes foi avaliado, e o resultado mais expressivo foi para o grupo de matrizes mais velhas, no qual a maior duração da viragem melhorou significativamente o índice de eclosão dos ovos. Portanto, a menor eclodibilidade dos ovos das aves mais velhas em relação aos ovos de aves jovens, é ainda mais acentuada quanto mais curto for o período de viragem. Segundo os autores, a duração da viragem exerce efeito sobre o rendimento da incubação.

Entretanto, esta influência depende da interação com outros fatores, dentre os quais se destacam a idade da matriz e a sua linhagem. Os pesquisadores concluíram que, a duração do período em que os ovos devem ser virados deve ser considerado para otimizar a eclodibilidade e qualidade dos pintos, principalmente se os ovos forem provenientes de matrizes velhas.

Elibol & Brake (2003) submeteram os ovos, do 3º ao 11º dia de incubação, a três frequências de viragem (24, 48 e 96 vezes por dia). Os embriões que foram submetidos a mais viragens por dia apresentaram taxa de eclosão (89,47%) significativamente maior, quando comparados aos ovos virados 24 e 48 vezes, que apresentaram 88,28% e 88,10%, respectivamente. Este resultado foi devido principalmente, a uma menor mortalidade embrionária tardia no grupo submetido a quatro viragens por hora.

O período crítico para a realização da viragem dos ovos na incubação foi estudado por Elibol & Brake (2004). O período da incubação foi dividido em três fases: 0-7 dias, 8-14 dias e 15-18 dias. Em cada uma dessas fases, unicamente ou combinadas entre elas, a viragem foi aplicada. Todos os tratamentos onde a viragem foi realizada ao menos na primeira semana, apresentaram os maiores índices de eclodibilidade (média de 85%), independentemente se a viragem prosseguiu ou não até o final da incubação, quando comparadas com os tratamentos onde a viragem não ocorreu na primeira semana (média de 55%). Apenas entre os tratamentos que receberam a viragem de 0 a 7 dias não houve diferença estatística no momento da mortalidade embrionária (inicial, média ou tardia). Na comparação entre todos os tratamentos, os ovos que permaneceram sem viragem na primeira semana foram os que apresentaram significativamente maior percentual de mortalidade, seja ela inicial, média ou tardia. Os autores afirmaram que a viragem pode ser interrompida após o sétimo dia sem prejuízo para a eclodibilidade. Os mesmos argumentaram que a primeira semana da incubação é a mais importante em se tratando de viragem dos ovos. Isto ocorre porque a ausência da viragem nesse período acarreta aderências do embrião ou das membranas extraembrionárias às membranas da casca, restringindo o desenvolvimento da membrana corioalantóidea juntamente com o suprimento sanguíneo do embrião, devido à presença de camadas mais viscosas de albúmen. Este albúmen mais viscoso ocasionado pela falta de viragem entre 0 e 7 dias causa, também, uma redução do FSE, importante para a nutrição do embrião.

O ângulo de viragem (35°, 40° e 45°) dos ovos durante a incubação, no trabalho de Elibol & Brake (2006a), que utilizou frequência de viragem de 24 vezes por dia, não influenciou a eclodibilidade nos ovos férteis dos três tratamentos. Entretanto, a mortalidade inicial foi significativamente maior para os ovos submetidos ao ângulo de viragem de 35° e 45°, sem, no entanto, ter efeito sobre a mortalidade média e tardia. O número de embriões mal posicionados foi estatisticamente superior para o tratamento com angulação de viragem de 35° (1,7%) em comparação com os ovos com viragem em 45° (0,3%). Neste mesmo trabalho, em um segundo experimento, os autores aumentaram a frequência da viragem para 96 vezes por dia para o tratamento de 35°, além de outros dois tratamentos: frequência de 24 vezes por dia e angulação de 35° e 45°. Os resultados mostraram que o percentual de pintos mal posicionados não diferiu estatisticamente entre os tratamentos 96 vezes a 35° e 24 vezes a 45°, sendo 0,38% e 0,23%, respectivamente. O tratamento 24 vezes a 35° foi o que obteve maior percentual de mal posicionamento (1,4%). Os autores concluíram que, o posicionamento ideal do embrião pode ser conseguido através de um ângulo de viragem reduzido associado a um aumento da frequência.

Elibol & Brake (2006b) estudaram a relação entre a idade da matriz nova (34-37 semanas) e velha (59-61 semanas), a duração da viragem (até 8, 10, 12 e 14 dias) e a frequência desta (24 ou 96 vezes por dia). Os ovos virados 96 vezes apresentaram eclodibilidade (89,6%) estatisticamente superior aos que foram virados por 24 vezes no dia (88,5%). Os ovos das matrizes velhas foram os mais beneficiados pelo aumento da frequência de viragem, evidenciado por um aumento significativo da eclodibilidade (87,7%), enquanto que os ovos virados 24 vezes obtiveram apenas 86,0%. Isto se deveu a uma redução estatisticamente comprovada na mortalidade embrionária tardia, 4,0% e 5,3% para os ovos virados 96 e 24 vezes, respectivamente. Os autores afirmaram que os ovos de qualidade inferior são mais sensíveis às alterações nos parâmetros da viragem e que a viragem pode ser descontinuada aos oito dias de incubação sem prejuízo para a eclodibilidade dos ovos férteis, independente da frequência e da idade da matriz. Em outro trabalho, Elibol & Brake (2008) incubaram ovos de matrizes velhas (62 semanas) e impuseram dois regimes de viragem (24 e 96 vezes por dia). O resultado deste trabalho mostrou significativo aumento na eclodibilidade dos ovos férteis (74,1%) no tratamento com maior frequência de viragens diárias em comparação com o outro grupo



(71%). Esta melhora foi influenciada principalmente por uma redução na mortalidade inicial dos embriões submetidos a 96 viragens diárias.

Trabalhando com ângulo de viragem de 15° e 45° e frequência de 24 vezes por dia, Cutchin *et al.* (2009) apresentaram resultados para eclodibilidade de ovos férteis de 91,41% no tratamento em que os embriões foram submetidos a 45°, enquanto que para o tratamento com 15° a eclodibilidade foi 50,91%. Segundo os autores, a menor eclodibilidade dos ovos com viragem a 15° ocorreu principalmente pela maior incidência de mortalidade média e tardia, além de maior albúmen residual, que possivelmente causou mal posicionamento dos embriões.

Barbosa *et al.* (2013) incubaram ovos da linhagem Cobb® com o intuito de avaliar a influência da viragem sobre o rendimento de incubação. Foram utilizados três períodos de viragem (até 15, até 17 e até 19 dias). Não houve diferença estatística entre os tratamentos no que diz respeito aos períodos de mortalidade embrionária (0-7 dias, 8-18 dias e 19 a 21 dias). A eclodibilidade também foi semelhante entre os tratamentos, com média de 84%. Segundo os autores, estes resultados demonstram que a viragem não atuou de forma determinante sobre este parâmetro.

### 2.2.3. INFLUÊNCIA DA VIRAGEM SOBRE A FISIOLOGIA EMBRIONÁRIA

Alguns aspectos fisiológicos e físicos relacionados ao desenvolvimento embrionário podem ser influenciados pela viragem dos ovos, tanto pela duração, frequência ou pelo período da incubação em que ela ocorre. Dentre estes aspectos estão os níveis séricos de hormônios tireoidianos e corticosterona, a pressão parcial de gases (CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>) na câmara de ar, os metabólitos plasmáticos (glicose, lactato e ácido úrico), VG, tempo necessário do início da incubação até a eclosão e o peso dos pintos ao nascimento (TONA *et al.* 2003; TONA *et al.*, 2005; BARBOSA, 2011; BARBOSA *et al.*, 2013).

Tazawa (1980) afirmou que a não realização do processo de viragem durante a incubação tem influência sobre as trocas gasosas entre a membrana corioalantóideia e o ambiente. O pesquisador incubou dois grupos de ovos, sendo um deles submetido a três viragens diárias até o 16° dia, enquanto o outro grupo não foi movimentado neste período. A pO<sub>2</sub> sanguínea foi significativamente maior nos ovos virados, entretanto

nenhuma alteração significativa ocorreu para a  $p\text{CO}_2$ . De acordo com o autor, a não viragem dos ovos provoca uma menor oxigenação através da membrana corioalantóideia e isto ocorre, pois a incubação estática provoca um menor consumo do albúmen pelo embrião fazendo com que este se deposite entre o alantocórion e a membrana interna da casca, reduzindo a área para trocas gasosas. Aliado a este fato, a ausência de viragem retarda o crescimento dos vasos sanguíneos na membrana alantoideana. Neste mesmo ensaio, o hematócrito dos embriões sofreu efeito dos tratamentos, sendo significativamente menor nos ovos que foram virados. As alterações no hematócrito foram negativamente correlacionadas com a  $p\text{O}_2$  sanguínea dos embriões, assim a hipóxia que ocorreu nos ovos não virados resultou em maior VG neste grupo. Segundo o autor, este aumento no VG pode ser devido a maior produção eritrocitária ou por maior volume da hemácia em resposta a diminuição de oxigênio. O pesquisador concluiu que o processo de viragem dos ovos durante a incubação exerce efeito sobre as trocas gasosas entre o embrião e o meio através da membrana corioalantóideia, principalmente em relação ao oxigênio, e estes efeitos aparecem anteriormente ao 16º dia de incubação, quando o albúmen residual se interpõe entre o alantocórion e a membrana interna da casca.

Pearson *et al.* (1996) avaliaram o efeito da viragem dos ovos na segunda metade do desenvolvimento embrionário sobre os parâmetros fisiológicos consumo de oxigênio e frequência cardíaca. Um grupo de ovos recebeu oito viragens por dia a partir do segundo dia, enquanto o outro grupo permaneceu sem viragem durante toda a incubação. As medições se iniciaram a partir do décimo segundo dia. A taxa de consumo de oxigênio foi significativamente menor para os ovos não virados, e esta diferença foi pequena no início, mas foi aumentando com o decorrer dos dias de mensurações. O aumento de desvios na circulação sanguínea através da membrana corioalantóideia é uma das explicações para essa redução no consumo de oxigênio. Os autores afirmaram que, nos ovos que são incubados de forma estática, a membrana corioalantóideia se desenvolve de maneira anormal. Esta situação é responsável por prejuízos nas trocas gasosas entre o embrião e o meio externo.

O trabalho de Tona *et al.* (2003) evidenciou a influência da duração do período de viragem dos ovos sobre os níveis séricos dos hormônios tireoidianos triiodotironina ( $T_3$ ) e tiroxina ( $T_4$ ). Os ovos foram submetidos a três tratamentos: com viragem até o

12° dia, até o 15° dia e até o 18° dia. As coletas de sangue para estas análises foram feitas no momento da bicagem interna e no dia da eclosão. No primeiro momento de coleta, os níveis séricos de ambos os hormônios foram significativamente maiores para os ovos que foram virados durante dezoito dias, em comparação com os outros dois tratamentos. Entretanto, no momento da eclosão apenas o T<sub>4</sub> obteve nível estatisticamente superior para este grupo. Os autores relataram que o aumento dos níveis de hormônios tireoidianos pode ser relacionado a uma maior taxa metabólica. No mesmo experimento os autores mensuraram a pressão parcial de gases na câmara de ar, no 18° dia de incubação e no momento da bicagem interna. A pressão de CO<sub>2</sub> aumentou e a de O<sub>2</sub> diminuiu entre estes dois períodos. Na comparação entre os tratamentos, a pressão parcial destes dois gases apresentou resultados inversos durante o segundo momento avaliado: os ovos virados até o décimo oitavo dia apresentaram diferença estatística em relação aos demais tratamentos, sendo a pressão parcial de O<sub>2</sub> menor e a de CO<sub>2</sub> maior para este tratamento. Segundo os autores, o comportamento da pressão parcial dos gases quando os ovos foram virados além do 15° dia pode significar um aumento no metabolismo dos embriões.

O processo de viragem dos ovos influencia a regulação do estresse e o funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) em embriões em crescimento. Tona *et al.* (2005) submetem ovos a cinco períodos de viragem (0, até 9, 12, 15, 18 dias) durante a incubação e avaliaram a resposta dos embriões à estimulação com hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Esta avaliação foi realizada através da dosagem dos níveis séricos de corticosterona, 60 e 150 minutos após a administração de ACTH, no 12°, 15° e 18° dia de incubação. Os embriões submetidos à viragem até o décimo oitavo dia obtiveram melhor resposta, pois apresentaram os níveis séricos de corticosterona semelhantes aos valores mensurados antes da estimulação. Os autores argumentaram que mesmo após o estabelecimento do eixo HHA, a viragem capacita o desenvolvimento de resposta de controle a corticosterona. Além disso, a interrupção da viragem enquanto o eixo HHA ainda está se estabelecendo, funciona como um agente estressor adicional que pode guiar para um *imprinting* fisiológico e uma responsividade ao estresse alterada, e conseqüentemente, podendo repercutir na vida pós-eclosão dos pintos.

Alguns parâmetros fisiológicos sanguíneos foram estudados no trabalho de Barbosa (2011). Hemogasometria, VG, pH e metabólitos como glicose e lactato fizeram parte da investigação. Foram incubados ovos da linhagem Cobb<sup>®</sup> submetidos a três tratamentos: viragem até o 15<sup>o</sup> dia, até o 17<sup>o</sup> dia e até o 19<sup>o</sup> dia. A coleta de sangue foi realizada no 20<sup>o</sup> dia de incubação, um dia antes da eclosão. A pressão parcial de CO<sub>2</sub> e de O<sub>2</sub> foi superior e inferior, respectivamente para os embriões com viragem até o 19<sup>o</sup> dia em comparação com aqueles virados até o 15<sup>o</sup> dia. O pH dos embriões virados até o 19<sup>o</sup> dia foi inferior quando comparados aos embriões virados por quinze dias. O VG significativamente mais elevado foi observado nos embriões virados por 17 e 19 dias (23,8% e 22,5%, respectivamente), enquanto que os embriões virados até o 15<sup>o</sup> dia apresentaram volume globular de 20,4%. O autor argumentou que o maior período de viragem propiciou uma maior taxa metabólica, evidenciada pela maior produção de CO<sub>2</sub>. Aliado a isso, o pesquisador explicou que os embriões virados por mais tempo foram expostos a uma situação de hipóxia antes da eclosão, o que gerou um aumento compensatório do hematócrito. Não houve diferença estatística entre os tratamentos, no que diz respeito aos valores de glicose (média de 225 mg/dL) e lactato plasmáticos (média de 12mg/dL). As coletas de lactato e glicose ocorreram nos pintos de um dia, portanto, todos já praticavam a respiração pulmonar. Com a retomada do suprimento de oxigênio ocorreu uma reciclagem do lactato, o que explicaria a semelhança nos resultados.

No estudo de Tona *et al.* (2003), três tratamentos de viragem foram executados. Os ovos foram virados por 12, 15 e 18 dias. Não houve efeito dos tratamentos sobre a duração da incubação. Entretanto, o tempo de eclosão (da bicagem interna até o nascimento) do tratamento com viragem até o 12<sup>o</sup> dia obteve significativamente o menor tempo (21,22 horas) em relação aos demais (23,70 e 23,28 horas, para os tratamentos com viragem até o 15<sup>o</sup> e 18<sup>o</sup> dia, respectivamente, que foram semelhantes entre si). Além disso, o tratamento com maior duração da viragem apresentou significativamente maior percentual (91,81%) de pintos de primeira qualidade, enquanto que os ovos virados por 15 dias apresentaram o menor percentual (87,31%). Neste mesmo experimento, não houve diferença no peso ao nascer dos pintos entre os tratamentos, o que segundo o autor, indica que a viragem não afetou o desenvolvimento do embrião.

Barbosa *et al.* (2013) incubaram ovos da linhagem Cobb® e delineararam três tratamentos: viragem até o 15º dia, até o 17º dia e até o 19º dia. Os resultados mostraram diferenças no tempo total de incubação. Os embriões que foram virados por 17 ou 19 dias eclodiram mais precocemente quando comparados àqueles virados somente por 15 dias. Os pesquisadores explicaram que os embriões que eclodiram primeiro apresentaram hipercarnia e hipóxia na fase final da incubação, devido ao maior período de viragem. Fato este, que é um grande estímulo para a eclosão. Os pintos nasceram com pesos semelhantes independente da duração da viragem. Além disso, no trabalho de Barbosa (2011), os pintos que foram virados por 15, 17 ou 19 dias, apresentaram peso médio absoluto do coração sem diferença estatística (0,39g; 0,38g e 0,37g, respectivamente). O mesmo ocorrendo para o percentual médio do coração em relação ao peso corporal, no qual os três tratamentos apresentaram um percentual médio de 0,85% do coração em relação ao peso corporal. Neste experimento, a duração do período de viragem não influenciou o peso absoluto do saco vitelino residual e a sua relação com o peso corporal ao nascimento (média entre os tratamentos de 5,8g e 13%, respectivamente). Segundo os autores, este fato mostra que apesar de interferir no tempo total da incubação, a viragem não foi capaz de influenciar no desenvolvimento do pinto.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Experimento

O estudo foi dividido em duas fases experimentais, para avaliar o efeito da idade das matrizes (29 semanas e 62 semanas) e do período de viragem (até o 7º dia de forma contínua (a cada dois minutos), até o 7º dia a cada duas horas e até o 18º dia a cada duas horas) sobre a qualidade dos ovos incubáveis, rendimento da incubação e parâmetros fisiológicos dos pintos. O experimento foi compreendido no período entre 14 de novembro e 5 de dezembro de 2014. Todos os protocolos de bem estar animal e ética na experimentação foram seguidos de acordo com as diretrizes da Universidade Federal da Bahia e da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da UFBA

### **3.2. Local**

As avaliações da qualidade dos ovos e as análises nos pintos de um dia foram realizadas no Laboratório Multiuso, no Laboratório de Solos e no Laboratório de Hematologia e Bioquímica Clínica da Escola de Medicina Veterinária (EMEV) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). A avaliação da resistência da casca foi realizada no Laboratório de Análise de Alimentos do Senai-Cimatec. A incubação ocorreu no Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB-UFBA).

### **3.3. Ovos (coleta, seleção e armazenamento)**

Foram utilizados 800 ovos, sendo 400 de cada idade de matriz. Cem ovos de cada idade de matriz foram utilizados para as análises referentes à qualidade dos ovos e trezentos ovos foram incubados.

Os ovos foram provenientes do incubatório da empresa Gujão Alimentos<sup>®</sup>, localizado no município de Água Fria-BA. A linhagem utilizada foi a Cobb 500<sup>®</sup>. Os ovos foram retirados da segunda coleta do dia e selecionados no próprio incubatório, excluindo-se aqueles com defeitos, como casca quebrada, trincada, ovos muito pequenos ou muito grandes, sujos, entre outras imperfeições.

O armazenamento ocorreu em sala climatizada, com a temperatura média ambiente de 18°C, durante três dias.

### **3.4. Primeira Fase experimental - Qualidade dos ovos incubáveis**

Nesta fase experimental os tratamentos foram as duas idades de matrizes (29 semanas e 62 semanas).

Dos cem ovos separados para as análises de qualidade, 50 foram submetidos às análises de resistência e espessura. A outra parte foi utilizada para as análises de densidade, peso do ovo e componentes, altura de albúmen e gema, diâmetro de gema, unidades Haugh e pH de albúmen. Estes ovos também foram utilizados para a dosagem de cálcio, fósforo e magnésio da casca.

### 3.4.1. Densidade ou peso específico

Figura 1- Avaliação da densidade dos ovos



Fonte: Arquivo pessoal

As densidades dos ovos foram aferidas através do método da flutuação, de acordo com Olsson (1934) e Hamilton (1982). No preparo das soluções foram utilizados cinco baldes graduados com 10,00 L de água a temperatura ambiente (figura 1). Em cada um destes baldes foram adicionados 1090g, 1180g, 1270g, 1360g e 1450g de cloreto de sódio, quantidades estas suficientes para se obter as soluções com as densidades de 1,070, 1,075, 1,080, 1,085 e 1,090, respectivamente. As densidades das soluções foram confirmadas com um densímetro de massa específica (Incoterm®, 1,000/1100:0,001g/ml) e monitoradas a cada 10 minutos. Os ovos foram colocados de dez em dez dentro dos baldes, iniciando pela densidade 1,070. Aqueles ovos que flutuaram, se enquadraram neste peso específico, os que afundaram, passaram para o balde seguinte. Os demais ovos foram colocados sequencialmente até que sua densidade fosse encontrada.

### 3.4.2. Peso do ovo e seus componentes

Utilizaram-se os mesmos ovos da análise de densidade. Anteriormente à análise de peso específico, os ovos foram pesados individualmente em balança analítica digital (Marte®, AY220) com precisão de 0,0001g. Posteriormente à análise de peso específico, cada ovo foi quebrado em uma placa de vidro. As gemas foram separadas do albúmen através de um separador de gema. As mesmas foram secas em papel toalha para retirar o

albúmen e a chalaza, e colocadas em um copo plástico tarado e identificado com o mesmo número do ovo, sendo imediatamente pesadas. As cascas foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos das membranas e albúmen e acondicionadas em local próprio, devidamente identificado para posterior pesagem. Após 24 horas as cascas foram pesadas individualmente. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo inteiro e o peso da gema mais o peso da casca, de acordo com a fórmula:

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

### 3.4.3. Altura de albúmen e gema, diâmetro de gema

Após a quebra dos ovos, e anteriormente à separação da gema e albúmen, os ovos foram mantidos em uma forma redonda de 10 cm de diâmetro (figura 2). Mensurou-se a altura do albúmen denso, em local fixo definido próximo à gema. Também foram analisadas a altura e o diâmetro da gema. Estas análises foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital (Digimess<sup>®</sup> 300mm/0,001mm).

Figura 2- Medição de diâmetro de gema (esq.) e altura de albúmen (dir.)



Fonte: Arquivo pessoal



### 3.4.3.1. Unidades Haugh

A unidade Haugh é uma medida da qualidade interna do ovo, determinada por uma função entre o peso do ovo e altura do albúmen, e foi aferida através da fórmula baseada no cálculo de Haugh (1937):

$$UH = 100 \log \left[ H - \frac{\sqrt{G(30W^{0,37} - 100)}}{100} + 1,9 \right]$$

Onde: H.U: unidades Haugh

H: altura do albúmen (mm)

G: constante gravitacional 32,2

W: peso do ovo (g)

### 3.4.3.2. Índice de gema

O índice da gema é uma medida também utilizada para avaliação de qualidade interna, e tem a capacidade de mensurar a força da membrana vitelina e da camada chalazífera. Seu valor foi obtido através da relação entre altura e diâmetro da gema.

### 3.4.4. pH de albúmen

Figura 3- Medição de pH de albúmen



Fonte: Arquivo pessoal

Após a separação da gema e albúmen, os dois componentes foram recolhidos em copos plásticos devidamente identificados com a mesma numeração do ovo. As gemas

foram encaminhadas para pesagem, enquanto o albúmen para a aferição do Ph. A análise de pH (figura 3) foi realizado através de phmetro (Phmetro portátil pH/orp/mv Mod 8651 AZ Instrument®). Entre uma análise e outra a sonda do aparelho foi lavada com água destilada.

### 3.4.5. Resistência da casca

A mensuração da resistência da casca foi realizada por meio do aparelho texturômetro TexturePro CT V1.4 Builds 17 (Brookfield Engineering Labs, Inc.) (figura 4). Foi utilizada ponta de prova TA 44 cilíndrica de 4 mm de diâmetro com distância de 6 mm e velocidade pré, durante e pós teste de 3,0; 0,5; e 5,0; mm/s respectivamente. A força de gatilho da sonda foi 3,0g. Realizou-se o teste de fratura por compressão, com o ovo colocado de forma horizontal no interior de um cadinho de porcelana segundo Rodriguez-Navarro *et al.* (2002). A força necessária para que a sonda penetre no interior do ovo é representativa da resistência da casca.

Figura 4- Aparelho texturômetro



Fonte: Arquivo pessoal

### 3.4.6. Espessura da casca

Após a análise de resistência da casca, procedeu-se a avaliação da espessura da casca (figura 5). Para esta análise foi utilizado um micrômetro digital (Eletronic outsider micrometer Digimess<sup>®</sup>, 0-25mm/0,0001mm). Estas cascas foram separadas com auxílio de uma tesoura em três partes, correspondentes às regiões apical (extremidade afilada), equatorial e basal (extremidade alargada que contém a câmara de ar). Foi medida a espessura de cada região e a espessura média da casca do ovo foi calculada através da média das três regiões.

Figura 5- Medição de espessura da casca



Fonte: Arquivo pessoal

### 3.4.7. Dosagem de cálcio, fósforo e magnésio da casca

Após a pesagem, as cascas foram trituradas individualmente de forma manual com o uso de um pilão, e peneiradas em malha de 0,25mm, formando um pó fino. 500mg deste pó foi pesado em balança analítica (Marte<sup>®</sup>, AY220) com precisão de 0,0001g. O passo subsequente foi a queima das amostras na mufla a 550°C por 6 horas. O método descrito por Englmaierová *et al.* (2013) foi utilizado para a abertura das amostras. Após a retirada da mufla, o cadinho com o material foi preenchido com 10 ml de ácido clorídrico (HCL) a 3 molar (M) e levado para chapa aquecedora a 80°C por 10 minutos. Posteriormente, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL. O cadinho foi novamente preenchido, desta vez, com água deionizada e retornou

para a chapa aquecedora (80°C por 10 minutos), transferindo-se novamente o conteúdo para o balão. Por fim completou-se o volume do balão com água deionizada para a formação da solução estoque.

Figura 6- Espectrofotômetros



Fonte: Arquivo pessoal

Para a dosagem do cálcio e magnésio foram necessárias duas diluições de 1ml/9ml da solução estoque em água deionizada e uma diluição de 1ml/4ml em solução de lantânio a 0,1%. Esta solução final foi analisada em aparelho de espectrofotometria de absorção atômica (Ice 3000 series – Thermo Scientific®) (figura 6 esquerda).

A concentração de fósforo foi realizada em espectrofotômetro (Biospectro®) (figura 6 direita) através de método colorimétrico, com comprimento de onda de 650nm. A solução estoque foi diluída diretamente em uma solução de molibdato de amônia na proporção de 2,5ml/5ml, respectivamente. Uma pequena quantidade de corante (ácido ascórbico) foi adicionada à diluição para propiciar a coloração azulada. Uma alíquota da diluição foi transferida para uma cubeta e encaminhada ao aparelho para a realização da leitura.

### 3.5. Segunda fase experimental - Incubação

Nesta fase experimental os tratamentos foram formados através da associação entre a duração da viragem e a idade da matriz, totalizando seis tratamentos.

A incubação ocorreu em três incubadoras da marca Premium Ecológica® modelo IP 200D (figura 7), com controle digital de temperatura, umidade e viragem e capacidade para duzentos ovos. Com ovos de cada idade de matriz foram colocados em

cada máquina, totalizando 600 ovos. As máquinas estavam divididas ao meio por uma tela metálica que evitava a passagem dos pintinhos no momento do nascimento, mas não alterava o ambiente interno da máquina.

Antes do início da incubação, com o objetivo de realizar um pré-aquecimento, os ovos foram mantidos por oito horas em uma temperatura ambiente média de 28°C.

Figura 7- Máquinas incubadoras Premium Ecológica®



Fonte: Arquivo pessoal

Diferentemente do que acontece nos incubatórios industriais, onde os ovos são posicionados verticalmente e são virados 45° a cada hora, em relação a linha horizontal, nesse trabalho, a viragem ocorreu em relação ao eixo longitudinal do ovo, já que os mesmos estavam dispostos horizontalmente nas máquinas. A cada movimentação, os ovos giravam cerca de 180° em relação a esse eixo. Cada máquina teve uma duração do período da viragem dos ovos, que caracterizou os tratamentos. Na primeira máquina, os ovos foram virados até o sétimo dia de incubação a cada dois minutos. Na segunda, a viragem se estendeu também até o 7° dia, porém a viragem ocorreu a cada duas horas. Na terceira, a viragem ocorreu até o 18° dia, a cada duas horas, considerada a máquina com o tratamento controle. A frequência de viragem a cada duas horas foi devido à programação de fábrica para este tipo de incubadora, e que geralmente é utilizado pelos produtores. Em cada máquina o motor da viragem possui alimentação individual, por isso para interromper a movimentação dos ovos, a fonte de energia dos motores era

desligada. A temperatura média de incubação foi de 37,8°C e a umidade relativa média foi 53% durante todo o processo nas três máquinas. Estas variáveis foram monitoradas três vezes ao dia, e não houve diferença estatística entre as máquinas.

### **3.5.1. Nascimento dos pintinhos**

O momento em que os ovos foram colocados na incubadora foi denominado hora zero. A partir de 480 horas de incubação, com intervalo de seis em seis horas, até 516 horas, todos os nascimentos foram registrados. Os pintinhos foram marcados com pincel atóxico em cores diferentes, referentes a cada horário de nascimento. A retirada ocorreu com 21,5 dias de incubação (516 horas). A frequência em cada intervalo de nascimento foi obtida dividindo-se o número de pintos eclodidos em cada momento pelo total de aves nascidas.

### **3.5.2. Taxa de eclosão em relação ao total de ovos incubados e a taxa de eclosão em relação aos ovos férteis (%)**

Foi calculada a taxa de eclosão total, que incluiu os pintos machos e fêmeas em relação ao número total de ovos incubados. Foi calculada a taxa de eclosão dos ovos férteis que incluiu os pintos machos e fêmeas em relação ao número de ovos férteis.

### **3.5.3. Embriodiagnóstico, mortalidade embrionária e infertilidade**

Figura 8- Embriodiagnóstico



Fonte: Arquivo pessoal

A determinação das idades em que ocorreram as mortes dos embriões e a identificação dos ovos inférteis foi realizada ao final do período de incubação, em todos os ovos não eclodidos de cada tratamento. Estas avaliações foram feitas de acordo com os critérios utilizados por Barbosa (2011) (figura 8). A caracterização dos ovos não eclodidos foi a seguinte: Ovos inférteis, ovos com embriões mortos no início da incubação (0 a 7 dias), ovos com embriões mortos entre 8 a 14 dias de incubação, ovos com embriões mortos entre 15 a 18 dias de incubação, ovos com embriões que morreram entre 19 a 21 dias, ovos bicados e ovos contaminados (ovos nos quais os embriões morreram devido à contaminação microbiana).

#### **3.5.4. Análises com os pintinhos**

Após o nascimento, todos os pintinhos nascidos (n=334) foram acondicionados em caixas individualizadas por tratamento, e conduzidos ao Laboratório Multiuso da EMEV-UFBA. Realizou-se a pesagem individual em balança analítica com precisão de 0,001g (Marte<sup>®</sup>, AY220).

##### **3.5.4.1. Avaliação dos pintos refugos**

Posteriormente, foi realizada a classificação dos pintos como normais ou refugos. O pinto de um dia considerado de boa qualidade foi aquele que se apresentou limpo, seco, com olhos “vivos”, livres de deformidades, com o umbigo totalmente fechado sem protruções do saco vitelino ou membranas. Os pintos que não se enquadraram nessas características foram considerados refugos (DECUYPERE & BRUGGEMAN, 2007). Esta variável foi expressa em percentual em relação aos pintos nascidos.

##### **3.5.4.2. Avaliação do escore de umbigo**

Todos os pintos também foram classificados quanto à condição do umbigo, se cicatrizado ou não e receberam escores: escore 1- Fechado e área do umbigo limpa;

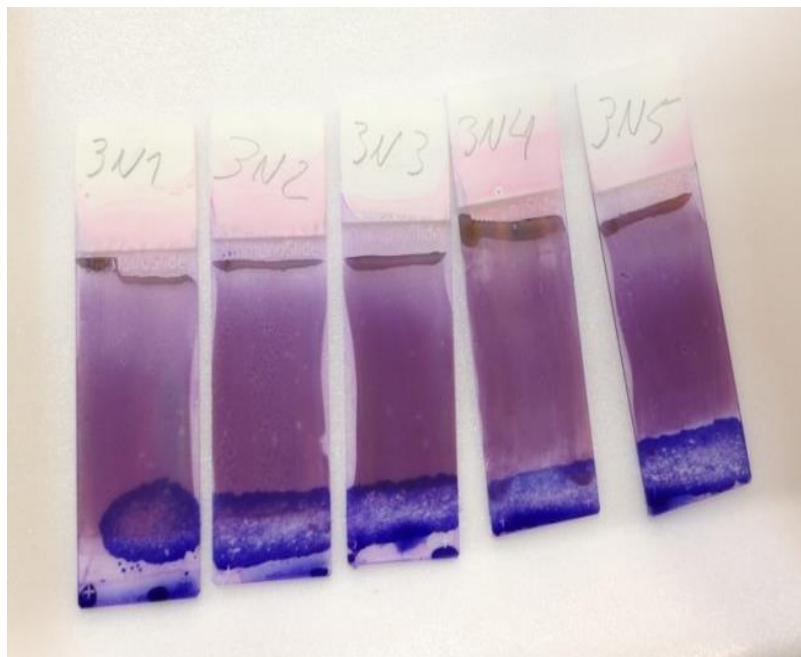
escore 2- botão negro até 2 mm no umbigo ou presença de fio negro; escore 3- botão negro maior que 2 mm ou umbigo aberto.

### 3.5.4.3. Coleta de sangue e hematologia

Doze aves por tratamento, nascidas nos momentos 498 e 504 horas, foram submetidas à eutanásia através do deslocamento cervical. Estes dois momentos foram escolhidos devido a maior frequência de nascimento. Após a eutanásia os pintinhos foram decapitados e o sangue coletado em tubos com anticoagulante (EDTA). As análises realizadas com o sangue coletado foram: volume globular, contagem diferencial de leucócitos para estipular a relação entre heterófilos e linfócitos e bioquímica plasmática, com dosagem de glicose, lactato e ácido úrico.

O volume globular foi aferido através da técnica do micro hematócrito. Um tubo capilar foi inserido na amostra de sangue, e preenchido até dois terços de seu comprimento. O tubo foi selado com massa de modelar (Acrilex<sup>®</sup>) e centrifugado por 5 minutos a 10.000 rpm em micro centrífuga (Microspin Aker<sup>®</sup>). O teste do hematócrito foi realizado em duplicata para cada ave, e a média foi considerada.

Figura 9- Esfregaço sanguíneo



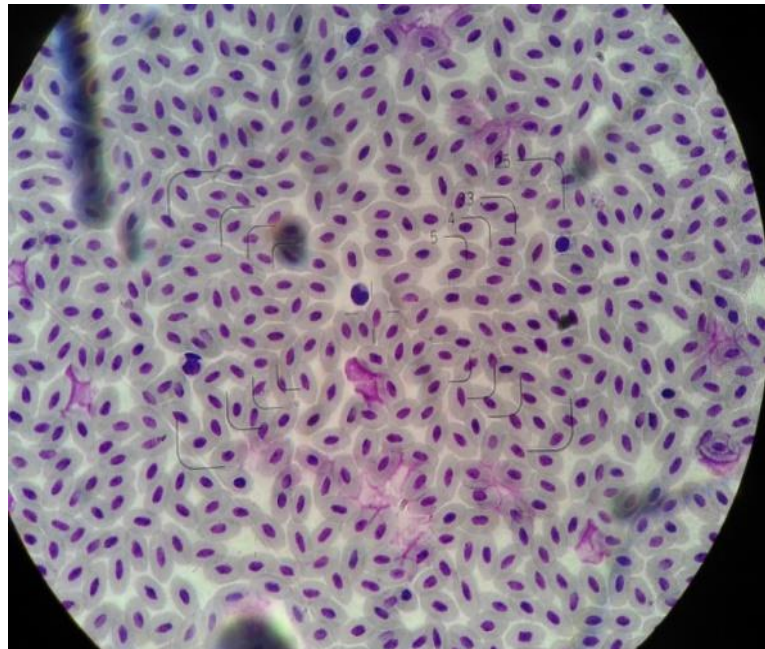
Fonte: Arquivo pessoal



Para a contagem diferencial de leucócitos, foram confeccionadas duas lâminas com esfregaços sanguíneos para cada ave (LUCAS & JAMROZ, 1961). Para a produção dos esfregaços uma gota do sangue do tubo coletor foi colocada em uma placa de Petri. Posteriormente uma lâmina extensora foi levada até a gota e suavemente colocada em contato com o sangue para que o mesmo se unisse a lâmina. A lâmina extensora foi conduzida até a lâmina onde foi feito o esfregaço e posicionada em contato até que o sangue formasse uma linha única entre as duas. Formou-se um ângulo de 30° entre as duas lâminas e então a extensora foi impulsionada para frente em um movimento leve e único para que uma camada delgada de sangue se formasse sobre a lâmina. Os esfregaços foram secos ao ar e corados com panótico rápido (figura 9).

Os esfregaços depois de prontos foram encaminhados ao Laboratório de Hematologia e Bioquímica Clínica da Escola de Medicina Veterinária da UFBA onde foram lidos em microscópio óptico (Olympus®), na objetiva de 100X, com o auxílio de óleo de imersão. Observaram-se as células leucocitárias, Heterófilos, Linfócitos, Eosinófilos, Basófilos e Monócitos, até completar o número de cem células (figura 10).

Figura 10- Células sanguíneas dos pintinhos



Fonte: Arquivo pessoal

O resultado encontrado significou o percentual de cada célula no sangue periférico da ave. A relação Heterófilo/Linfócito foi medida através da divisão entre estas duas classes celulares de acordo com Gross & Siegel (1983).

Para as análises bioquímicas, primeiramente, os tubos coletores contendo o sangue total dos pintinhos foram centrifugados (centrífuga 80-2B-15ML - Centribio<sup>®</sup>) por 6 minutos a 2300 x g para obtenção do plasma, que posteriormente foram transferidos para tubos Eppendorfs com capacidade para 1 ml e estocados a -20°C para futuras análises.

Para determinação da glicose foi utilizado o método da glicose oxidase através de kit comercial (glicose enzimática líquida Doles<sup>®</sup>), com leitura de absorbância em 510nm de comprimento de onda. O lactato foi determinado através de metodologia UV enzimático utilizando a lactato desidrogenase (Lactato Bioclin<sup>®</sup>), com leitura da absorbância em 340nm. O ácido úrico foi dosado através de teste Enzimático colorimétrico (UOD-PAP) (Ácido úrico monorreagente Bioclin<sup>®</sup>) com a absorbância lida em 505nm. Todas as análises foram realizadas no analisador bioquímico semiautomático (Bio-2000 - Bioplus<sup>®</sup>).

#### **3.5.4.4. Peso dos órgãos e relação entre peso dos órgãos e peso do pintinho**

Os mesmos doze pintinhos por tratamento utilizados para as análises de hematologia, antes de serem eutanasiados foram pesados individualmente. Após a coleta de sangue, as aves foram necropsiadas para a retirada dos órgãos.

A abertura da cavidade abdominal se iniciou pelo orifício umbilical com exposição de todos os órgãos. Primeiramente se retirou o saco residual da gema. Os órgãos abdominais foram retirados em conjunto e depois separados, sendo coletado o fígado, o proventrículo + moela e depois os intestinos. O coração também foi coletado e para finalizar foram retirados os pulmões. Esses órgãos foram expressos de forma absoluta e também de forma relativa em relação ao peso do corpo sem o saco residual de gema (YFBM), que foi obtido pela subtração entre o peso do pinto ao nascer e o peso do saco vitelino residual. O percentual de saco vitelino residual foi obtido em relação ao peso corporal.

### 3.6. Delineamento experimental

Na primeira fase experimental (qualidade dos ovos incubáveis) apenas dois tratamentos foram utilizados: matriz nova e matriz velha. Na segunda fase experimental (incubação) foram utilizadas duas idades de matrizes e três períodos de viragem, em um delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdivididas, onde o período de viragem foi a parcela e cada idade da matriz a sub-parcela. Cada máquina foi dividida ao meio, onde foram incubados 100 ovos de cada idade de matriz. Os períodos de viragem foram os seguintes: Viragem 1- Contínua (a cada dois minutos) até o 7° dia, Viragem 2- até o 7° dia (a cada duas horas), Viragem 3- até o 18° dia (a cada duas horas). Seis tratamentos fizeram parte do experimento:

T1: matriz nova x viragem 1- Contínua (a cada dois minutos) até o 7° dia

T2: matriz nova x viragem 2- até o 7° dia (a cada duas horas)

T3: matriz nova x viragem 3- até o 18° dia (a cada duas horas)

T4: matriz velha x viragem 1- Contínua (a cada dois minutos) até o 7° dia

T5: matriz velha x viragem 2- até o 7° dia (a cada duas horas)

T6: matriz velha x viragem 3- até o 18° dia (a cada duas horas)

Na primeira fase, a unidade experimental foi o ovo incubável, e os dois tratamentos foram comparados através do teste F com 5% de significância, através do proc GLM do SAS® versão 9.0.

Na segunda fase, a unidade experimental foi o pinto eclodido. Os dados relativos a momento do nascimento, peso ao nascer, peso corporal sem o saco vitelino residual, peso dos órgãos (absoluto e relativo), volume globular, glicose, lactato e ácido úrico plasmáticos, além da relação heterófilo/linfócito foram submetidos à análise de variância com 5% de significância, e quando foi observada diferença, os tratamentos foram comparados através do teste Tukey, também com 5% de significância através do proc GLM do SAS®.

Os dados de eclodibilidade, mortalidade embrionária e qualidade dos pintos foram analisados através do teste de Qui-quadrado com o proc FREQ do SAS® versão 9.0.

As análises de correlação foram realizadas através do proc CORR do SAS® versão 9.0

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Fase experimental 1 - Qualidade dos ovos incubáveis

Os resultados das análises de qualidade dos ovos estão demonstrados nas tabelas 1 a 8.

Tabela 1 – Peso absoluto (g) do ovo e de seus componentes de acordo com os tratamentos

	Peso (g)			
	Ovo	Gema	Albúmen	Casca
Idade da Matriz				
29 sem	57,91±0,45B	15,20±0,14B	37,44±0,35B	5,19±0,05B
62 sem	72,48±0,64A	22,57±0,24A	43,57±0,49A	6,31±0,08A
C. V.(%)	6,06	7,25	7,33	8,75
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

Os ovos das matrizes velhas foram significativamente mais pesados em comparação com aqueles das aves com 29 semanas, além disso, o peso absoluto dos três componentes também foi estatisticamente diferente entre as idades, sendo inferior nos ovos das aves jovens (tabela 1). Estes resultados estão de acordo com Silversides & Scott (2001), Joseph & Moran (2005) e Shaw (2010), que também observaram a mesma influência da idade no peso do ovo e componentes.

Tabela 2 – Coeficientes de correlação entre o peso (g) dos componentes do ovo e o peso total (g) do ovo.

	Gema	Albúmen	Casca
Geral	0,93 (p≤0,0001)	0,94 (p≤0,0001)	0,86 (p≤0,0001)
Idade da Matriz			
29 sem	0,59 (p≤0,0001)	0,94 (p≤0,0001)	0,61 (p≤0,0001)
62 sem	0,65 (p≤0,0001)	0,92 (p≤0,0001)	0,67 (p≤0,0001)

Coeficientes de correlação acompanhados pelo p-valor

Observa-se na tabela 2 que a gema e o albúmen são os maiores responsáveis pelo aumento do peso do ovo, sendo que o albúmen tem maior participação no peso dos ovos de matrizes jovens enquanto a gema exerce maior efeito no peso dos ovos de matrizes velhas, resultados que estão de acordo com Silversides & Scott (2001). Segundo Nangsuay *et al.* (2011), os ovos de matrizes velhas são mais pesados, principalmente, devido ao menor número de folículos que maturam durante a sequência de postura. Este fato faz com que ocorra maior deposição de gema. Além disso, ocorre uma importante associação entre o peso da gema e o peso do ovo à medida que aumenta a idade da matriz (tabela 3).

Tabela 3 – Peso relativo (%) dos componentes do ovo em relação ao peso total de acordo com os tratamentos

	Gema (%)	Albúmen (%)	Casca (%)
Idade da Matriz			
29 sem	26,30±0,21B	64,70±0,24A	8,99±0,07A
62 sem	31,18±0,26A	60,10±0,26B	8,71±0,09B
C. V.(%)	5,69	2,63	6,45
p-valor	<0,0001	<0,0001	0,018

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

De acordo com a tabela 3, no decorrer da vida produtiva ocorre uma diferenciação nas proporções entre os componentes internos em relação ao peso total do ovo. O percentual de gema foi significativamente superior nos ovos de aves com 62 semanas, enquanto que aqueles provenientes de aves jovens apresentaram maior quantidade relativa de albúmen e casca. Vieira (2001) salientou que, as matrizes avícolas ao longo do período produtivo produzem folículos maiores, este fato resulta na postura de ovos maiores, assim como no aumento da relação entre o peso da gema e o peso do ovo.

Diversos autores encontraram em seus estudos resultados semelhantes ao deste experimento, no que diz respeito às relações entre os componentes do ovo e seu peso absoluto. À medida que a idade avança, o peso dos três componentes se eleva, entretanto a gema tem uma taxa de crescimento maior, fazendo que o seu percentual seja maior em ovos de matrizes velhas (SILVERSIDES & SCOTT, 2001; ROBERTS, 2004; SHAW *et al.*, 2010; TRALDI *et al.*, 2011 e BARBOSA *et al.*, 2012). Segundo

Yadgary *et al.* (2010) e Tumova & Gous (2012), a massa de gema sofre uma elevação de 40%, e o albúmen aumenta seu peso em 13% entre a trigésima e quinquagésima semana. No presente experimento ocorreu um aumento significativo na relação gema/albúmen nos ovos das aves com 62 semanas (tabela 4), corroborando também os resultados de Ahn *et al.* (1997). Ulmer-Franco *et al.* (2010) e Nangsuay *et al.* (2013) afirmaram que esta característica proporcionará maior energia para os embriões provenientes de matrizes velhas. Barbosa *et al.* (2012) explicaram que a redução no percentual de casca nos ovos de matrizes velhas é em decorrência de uma menor deposição de cálcio por unidade de área. Segundo Siske *et al.* (2007), a deposição de cálcio não se altera com a idade da ave (como será demonstrado na tabela 8), enquanto que o ovo torna-se maior a medida que a ave envelhece, explicação que corrobora os resultados da tabela 3.

Tabela 4 – Relação gema/albúmen de acordo com os tratamentos

	Gema/Albúmen
Idade da Matriz	
29 sem	0,40±0,004B
62 sem	0,51±0,006A
C. V.(%)	8,33
p-valor	<0,0001

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

As medidas de qualidade interna do ovo estão demonstradas na tabela 5. Houve influência da idade da matriz sobre as variáveis avaliadas. Altura do albúmen, unidades Haugh e índice de gema foram significativamente superiores nos ovos das aves mais jovens, enquanto que o pH do albúmen foi significativamente inferior nos ovos de aves jovens quando comparados aos ovos de aves velhas. Benton & Brake (1996) e Silversides & Scott (2001) encontraram resultados semelhantes aos descritos neste trabalho.

Lapão *et al.* (1999) observaram diferença estatística no pH do albúmen de matrizes com 32, 42, 54 e 59 semanas. Esta variável elevou-se com o aumento da idade. Segundo os autores, aves velhas põe ovos com maior condutância da casca que os ovos de aves jovens, o que pode permitir uma liberação mais rápida de dióxido de carbono e

consequente elevação do pH. Em adição a este fato, de acordo com Reijrink *et al.* (2008), aves velhas apresentam maior incidência de primeiros ovos na sequência de postura, e estes ovos possuem embriões em estágio de desenvolvimento mais avançado do que os ovos intermediários na sequência, devido ao maior tempo de permanência no útero dos primeiros ovos na sequência, ou pelo envelhecimento do folículo no ovário durante a pausa de postura, o que gera maior atividade metabólica desses embriões, com maior liberação de CO<sub>2</sub> para o ambiente, deste modo alcalinizando o albúmen.

Tabela 5 – pH de albúmen, altura do albúmen, unidades Haugh e índice de gema de acordo com os tratamentos

	pH de albúmen	Altura de albúmen (mm)	Unidades Haugh	Índice de gema
Idade da Matriz				
29 sem	8,64±0,02B	8,12±0,11A	82,22±0,70A	0,36±0,003A
62 sem	8,84±0,01A	7,18±0,08B	71,61±0,65B	0,32±0,003B
C. V.(%)	1,39	9,07	6,13	7,66
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

No que diz respeito à altura do albúmen, no decorrer da vida produtiva e com a alta demanda para uma produção contínua, ocorre um processo de exaustão da matriz, o que resulta em um fenômeno de desnaturação da estrutura terciária das proteínas do albúmen. Concomitantemente, acontece uma diminuição da quantidade de ovomucina, que é a principal responsável por determinar a altura do albúmen. Além disso, existe uma correlação negativa entre pH e altura do albúmen (BENTON & BRAKE, 1996; KIRUNDA & MCKEE, 2000; SILVERSIDES & BUDGELL, 2004; TUMOVA & GOUS, 2012). Afirmarções que corroboram os resultados deste experimento.

A unidade Haugh (UH) é uma das principais medidas de qualidade interna do ovo, sendo uma função entre o peso do ovo e a altura do albúmen (IZAT *et al.*, 1986; TUMOVA & GOUS, 2012). No presente experimento os ovos provenientes de aves com 29 semanas apresentaram 82,2 UH, enquanto que os ovos de matrizes de 62 semanas apresentaram 71,6 UH (tabela 5). Estes resultados estão de acordo com Izat *et al.* (1986) e Silversides *et al.* (1993) que também encontraram maior valor de unidade Haugh para ovos provenientes de aves jovens quando comparados aos ovos de aves

velhas. Os autores explicaram que o principal fator que influencia na UH é a altura do albúmen, e que ovos de aves jovens possuem albúmens mais elevados.

Com relação ao índice de gema, os resultados do presente experimento estão de acordo com Ngoka *et al.* (1983). Estes autores observaram diferença significativa no índice de gema, sendo 0,59 em ovos de matrizes com 26 semanas, e 0,51 em matrizes com 56 semanas de idade. O IG é positivamente correlacionado com a força da membrana vitelina, e esta por sua vez está relacionada com a quantidade e integridade da membrana chalazífera que a circunda. Portanto, os mesmos fatores que provocam a diminuição da altura do albúmen e enfraquecimento das chalazas são responsáveis pela perda de força da membrana vitelina, conseqüentemente reduzindo o IG em matrizes velhas (FROMM & MATRONE, 1962; FROMM, 1964; KIRUNDA & MCKEE, 2000). Os resultados deste experimento demonstraram que os ovos de aves jovens apresentaram pH de albúmen menor quando comparados aos ovos de aves velhas (tabela 5). Aliado a este dado, Fromm (1966) afirmou que o pH do albúmen é o principal fator que afeta a rigidez e a força da membrana vitelina. O autor explicou que o albúmen e as chalazas são géis proteicos de ovomucina delimitados por água, e que quanto mais alcalino for o pH, ocorre maior liberação de água. Conseqüentemente, o gel perde o seu arranjo estrutural, resultando em flacidez, fraqueza da membrana vitelina e achatamento da gema, podendo traduzir-se na diminuição do índice de gema apresentado pelos ovos de aves velhas (tabela 5). Portanto, embriões de aves velhas podem ter seu desenvolvimento afetado precocemente, devido a diminuição da função protetora da membrana vitelina e chalazas no início da incubação (REIJRINK *et al.*, 2008), pois a membrana vitelina e a camada chalazífera são as responsáveis por proteger o embrião e mantê-lo separado do albúmen no início da incubação, até que o âmnio esteja completamente formado. Deste modo, a perda destas duas camadas pode expor o embrião ao ambiente alcalino do albúmen, e ser uma das primeiras causas de mortalidade do embrião (SADLER, 1955).

As tabelas 6 e 7 indicam os resultados relacionados à qualidade da casca e suas correlações com algumas características dos ovos. As variáveis densidade e resistência da casca sofreram influência da idade da matriz ( $p \leq 0,05$ ), enquanto a espessura não foi afetada (tabela 6). À medida que as aves envelheceram houve uma redução significativa da densidade e da resistência. Portanto, observando os dados desta tabela pode-se



concluir que o envelhecimento da ave produz perda de qualidade à casca. Barbosa *et al.* (2012) encontraram resultados semelhantes, exceto pela espessura da casca que foi significativamente maior em ovos de matrizes novas, enquanto que Rodriguez-Navarro *et al.* (2002) observaram diferença significativa entre ovos de matrizes novas e velhas apenas para resistência da casca, que foi superior nos ovos de aves jovens. Sabry *et al.* (2013) analisando ovos de matrizes com 32 e 49 semanas não encontraram diferença significativa na espessura da casca, o mesmo ocorrendo no trabalho de Tumova *et al.* (2014) com ovos de matrizes de 22, 24, 64 e 83 semanas.

Tabela 6 - Densidade do ovo, resistência e espessura da casca de acordo com os tratamentos

	Densidade (g/mL H <sub>2</sub> O)	Resistência (g)	Espessura (mm)
Idade da Matriz			
29 sem	1,081±0,0005A	2348±94A	0,42±0,007
62 sem	1,076±0,0007B	2019±108B	0,43±0,007
C. V.(%)	0,44	31,41	12,33
p-valor	<0,0001	0,02	0,348

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

No presente experimento observou-se que ovos de matrizes novas apresentam melhor qualidade de casca, tendo em vista que um dos requisitos praticados nos incubatórios é que mais de 60% dos ovos incubáveis apresentem densidade acima de 1,080 (ROQUE & SOARES, 1994). Além disso, os ovos de matrizes novas apresentaram maior percentual de casca em relação ao seu peso total quando comparados aos ovos de matrizes velhas (tabela 3), e devido à alta correlação entre o peso específico e percentual de casca observado neste experimento (tabela 7), pode-se afirmar que a maior densidade da casca dos ovos das matrizes novas é em decorrência da maior proporção deste componente.

A espessura da casca não foi significativamente correlacionada com o peso da casca (tabela 7). Este resultado é diferente de Wolansky *et al.* (2007), que encontraram alta correlação ( $r=0,78$ ) entre a espessura e o peso absoluto da casca.

Tumova & Ledvinka (2009) encontraram correlação positiva ( $r=0,40$ ) entre resistência e peso da casca para ovos de matrizes com 20, 38 e 56 semanas, o que diferiu deste experimento, onde a correlação foi baixa e negativa ( $r=-0,27$ ).

Tabela 7 – Coeficientes de correlação (r) entre densidade do ovo, resistência e espessura da casca com o peso do ovo, peso da casca e percentual de casca

	Peso do ovo	Peso da casca	(%) Casca
Densidade	-0,40 ( $p<0,0001$ )	NS	0,78 ( $p<0,0001$ )
Resistência	-0,27 ( $p=0,009$ )	-0,27 ( $p=0,026$ )	NS
Espessura	NS	NS	NS

Coeficientes de correlação acompanhados pelo p-valor. NS = Não significativo.

A literatura relata que outros fatores atuam mais incisivamente sobre a resistência da casca. Como por exemplo, a textura cristalográfica, ou seja, o tamanho, formato e orientação dos grânulos de calcita, são fatores preponderantes para determinar a resistência. Ovos de matrizes jovens apresentam cristais menores, possuem uma maior área de limite entre os grânulos e, além disso, possuem um padrão aleatório de organização dos cristais, o que promove maior dificuldade a propagação da fratura, tornando-os mais resistentes à quebra (RODRIGUEZ-NAVARRO *et al.*, 2002; AHMED, 2005). A espessura das membranas da casca é outro fator importante para a sua resistência. Segundo Barbosa *et al.* (2012), quanto maior a espessura das membranas mais resistente é a casca.

Na tabela 8 estão discriminadas as concentrações de cálcio, fósforo e magnésio encontrados nas cascas. Houve influência da idade das aves nos teores de fósforo e magnésio. Ovos de matrizes com 62 semanas apresentaram concentrações superiores destes dois minerais quando comparados aos ovos de aves jovens, entretanto o nível de cálcio foi semelhante nas cascas dos ovos de matrizes jovens e velhas. Siske *et al.* (2007) afirmaram que à medida que a idade aumenta, a quantidade de cálcio depositada não se altera.

Tabela 8 – Concentração de minerais da casca do ovo de acordo com os tratamentos

	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Magnésio (%)
Idade da Matriz			
29 sem	44,40±0,39	0,23±0,006B	0,31±0,009B
62 sem	44,60±0,72	0,29±0,006A	0,37±0,013A
C. V.(%)	8,41	16,24	21,43
p-valor	0,829	<0,0001	<0,0001

Médias ± EPM seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente através do teste F

Os resultados do presente experimento estão de acordo com Cusack *et al.* (2003), que avaliaram ovos de matrizes com 28, 42 e 56 semanas, e observaram que as concentrações de magnésio e fósforo se elevam a medida que a ave envelhece, porém, o cálcio não se altera. Tumova *et al.* (2014) encontraram resultados semelhantes para ovos de matrizes de 22, 24, 64 e 83 semanas, entretanto, estes autores não encontraram diferença na concentração de fósforo da casca com o envelhecimento da matriz.

É relatado na literatura que os padrões de deposição destes três minerais na casca são diferentes. A deposição de cálcio não se eleva significativamente depois de 14 horas de permanência do ovo no útero, em contrapartida, o magnésio e o fósforo têm sua precipitação na casca aumentada nas horas que antecedem a postura (OGAWA *et al.*, 2004). Aliado a este fato, as matrizes velhas despendem maior tempo para a ovoposição em comparação com matrizes novas, este fato prolonga o período de deposição do fósforo e magnésio nos ovos das aves mais velhas (ZAKARIA *et al.*, 2005). Cusack *et al.* (2003) explicaram que o modo de deposição de Mg e P estão de certa forma interligados, e é correlacionado com o teor de matéria orgânica da casca, que é superior nos ovos de matrizes velhas. Portanto os resultados do presente experimento estão de acordo com as informações relatadas pelos pesquisadores citados.

## 4.2. Fase experimental 2

### 4.2.1. Rendimento da incubação

A eclodibilidade total e a eclodibilidade sobre os ovos férteis sofreram efeito significativo da idade das matrizes (tabela 9). Houve maior eclodibilidade entre os ovos

de matrizes jovens quando comparados aos ovos de matrizes velhas. Os períodos de duração da viragem não influenciaram na eclodibilidade dos ovos.

No que diz respeito à idade das matrizes, os resultados do presente experimento estão de acordo com diversos autores (TONA *et al.*, 2001b; ELIBOL *et al.*, 2002; YLMAZ-DIKMEN & SAHAN, 2009; BARBOSA *et al.*, 2013). O maior tamanho dos ovos das matrizes velhas, que prejudica a ventilação, aumenta a produção de calor e a temperatura, proporcionando aumento na mortalidade embrionária. Aliados a estes fatores, a pobre qualidade de casca e uma deterioração do albúmen causam o declínio na eclodibilidade com o envelhecimento das matrizes, de acordo com os autores citados acima.

Tabela 9 – Eclodibilidade total e eclodibilidade sobre os ovos férteis (%) de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade das matrizes <sup>2</sup>					
Eclodibilidade total	29 sem	58 (58/100)	61,62 (61/99)	64 (64/100)	61,20A (183/299)
	62 sem	50,51 (50/99)	50,51 (50/99)	51 (51/100)	50,67B (151/298)
	Média	54,27 (108/199)	56,06 (111/199)	57,50 (115/200)	
Eclodibilidade ovos férteis	29 sem	58,59 (58/99)	62,24 (61/98)	64 (64/100)	61,62A (183/297)
	62 sem	51,02 (50/98)	52,63 (50/95)	52,04 (51/98)	51,89B (151/291)
	Média	54,82 (108/197)	57,51 (111/193)	58,08 (115/198)	

Letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado

Eclodibilidade total: 1(p=0,80); 2(p=0,0095)

Eclodibilidade ovos férteis: 1(p=0,78); 2(p=0,017)

Os trabalhos de New (1957), Elibol & Brake (2004) e Elibol & Brake (2006b) confirmam os resultados encontrados neste experimento com relação ao período de

duração da viragem. Estes autores incubaram ovos com a viragem sendo interrompida no 7º, 14º e 18º dia, e afirmaram em suas conclusões que a viragem pode ser interrompida no 7º dia sem prejuízo para a eclodibilidade. Segundo os mesmos pesquisadores o período inicial da incubação é o mais importante para se realizar a viragem dos ovos, devido ao desenvolvimento da área vasculosa e membrana corioalantóidea, além de evitar aderências embrionárias às membranas internas da casca.

Wilson & Wilmering (1988) em seu experimento não observaram diferença estatística na eclodibilidade para ovos virados por 13, 16 e 19 dias. Estes autores explicaram que após o fechamento da membrana corioalantóidea na extremidade apical do ovo por volta do 12º dia, a interrupção da viragem não acarreta prejuízo para o desenvolvimento embrionário. De maneira semelhante, Barbosa *et al.* (2013) viraram os ovos por 15, 17 e 18 dias, e também não encontraram diferença na eclodibilidade. Estes autores concluíram que a viragem não atuou de forma determinante sobre este parâmetro.

A tabela 10 evidencia os períodos de mortalidade embrionária durante a incubação. Não houve diferença entre os períodos de viragem. A idade da matriz influenciou significativamente no período de mortalidade embrionária, evidenciado pela maior mortalidade dos embriões de aves velhas no período de 19-21 dias, quando comparados aos embriões de matrizes jovens. Não houve diferença para os outros estágios do desenvolvimento embrionário.

Os resultados do presente experimento estão de acordo com o trabalho de Elibol & Brake (2002), Elibol & Brake (2003) e Elibol & Brake (2006a). Estes autores observaram em seus resultados que os ovos de matrizes velhas apresentaram maior incidência de embriões mortos na fase final de incubação, em comparação aos ovos de matrizes jovens. Os mesmos afirmaram que este fato é um dos maiores responsáveis pela maior eclodibilidade dos ovos de aves novas, o que está de acordo com os resultados de eclodibilidade do presente experimento (tabela 9). Segundo Lourens *et al.* (2005), o aumento da mortalidade tardia nos embriões de matrizes velhas, pode estar relacionado a uma maior produção de calor, o que aumenta a temperatura interna do ovo a níveis deletérios ao embrião. Outra possível explicação para a maior mortalidade embrionária na fase de 19-21 dias nos ovos de aves velhas pode ter sido a menor

absorção de saco vitelino (como será demonstrado na tabela 17), que poderia ter resultado em menor disponibilidade de energia para realização do processo de eclosão nos embriões das matrizes com 62 semanas.

Tabela 10 – Período de mortalidade embrionária em relação ao total de ovos férteis de acordo com os tratamentos

		Mortalidade				
		0-7 dias	8-14 dias	15-18 dias	19-21 dias	Bicados
Idade	29 sem	7,74 (23/297)	1,35 (4/297)	3,70 (11/297)	16,84B (50/297)	8,75 (26/297)
	62 sem	8,25 (24/291)	1,03 (3/291)	3,09 (9/291)	24,05A (70/291)	9,62 (28/291)
Período de viragem	Contínua (7dias)	8,12 (16/197)	1,02 (2/197)	4,57 (9/197)	20,30 (40/197)	9,64 (19/197)
	7 dias	7,77 (15/193)	0 (0/193)	3,63 (7/193)	20,73 (40/193)	9,84 (19/193)
	18 dias	8,08 (16/198)	2,53 (5/198)	2,02 (4/198)	20,20 (40/198)	8,08 (16/198)

Letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado

Mortalidade 19-21 dias ( $p=0,02$ )

Período de viragem ( $p=0,64$ )

Quanto ao período de viragem, Barbosa *et al.* (2013) não encontraram diferenças estatísticas para estes períodos de mortalidades quando compararam ovos de matrizes Cobb<sup>®</sup> que foram virados por 15, 17 e 19 dias. Elibol & Brake (2004) também encontraram resultados semelhantes ao do presente trabalho, quando viraram ovos até o 7°, 14° ou 18° dia, e não observaram diferença no período de mortalidade embrionária entre os tratamentos.

Os parâmetros de qualidade dos pintos eclodidos estão demonstrados na tabela 11. Observa-se que apesar de influenciarem na duração da incubação (como será apresentado na tabela 12), não houve efeito significativo ( $p>0,05$ ) de nenhuma das variáveis analisadas sobre o escore de umbigo dos pintinhos e o percentual de pintos refugos. Ulmer-Franco *et al.* (2010) também não encontraram diferenças significativas no percentual de refugos entre pintos de matrizes com 29 e 59 semanas, entretanto,

Tona *et al.* (2004) observaram maior percentual de pintos de primeira qualidade para ovos provenientes de matrizes com 35 semanas em comparação com aqueles de matrizes com 45 semanas. Com relação ao período de viragem, o resultado do presente experimento difere de Tona *et al.* (2003), no qual os autores encontraram diferença significativa no percentual de pintos de primeira qualidade quando submeteram os ovos a três diferentes períodos de viragem 12, 15 e 18 dias. No trabalho destes autores, a viragem até o 18º dia foi a que obteve maior percentual de pintos de primeira qualidade.

Tabela 11 – Escore de umbigo e percentual de pintos refugos de acordo com os tratamentos

		Período de viragem			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade					
Escore de umbigo <sup>1</sup>	29 sem	1,94±0,12	2,11±0,12	2,02±0,11	2,02±0,06
	62 sem	2,17±0,12	2,00±0,11	2,14±0,12	2,10±0,06
	Média	2,05±0,08	2,05±0,08	2,08±0,08	
% de pintos refugo <sup>2</sup>	29 sem	2,86 (1/35)	2,78 (1/36)	2,56 (1/39)	2,66 (3/110)
	62 sem	8,57 (3/35)	8,11 (3/37)	0 (0/35)	5,53 (6/107)
	Média	5,66 (4/70)	5,4 (4/73)	1,25 (1/74)	

1- Médias ± EPM não seguidas por letras distintas, não diferem através do teste F (p>0,73)

2-Teste Qui-quadrado (p=0,38)

#### 4.2.2. Fisiologia embrionária

O momento do nascimento e o tempo de eclosão são principalmente regulados pela fisiologia embrionária, hormônios tireoidianos e adrenocorticais são exemplos (TONG *et al.*, 2013). Os embriões provenientes das matrizes com 62 semanas apresentaram duração média da incubação significativamente menor quando comparados aos das matrizes jovens. O período de viragem também influenciou o tempo necessário para eclosão. Nos ovos virados por dezoito dias a eclosão iniciou-se

em menor tempo quando comparados àqueles que foram virados apenas por sete dias, inclusive quando a viragem foi realizada de forma contínua neste período (tabela 12). A interação entre a idade e o período da viragem não foi significativa, podendo as duas variáveis, desta maneira, serem analisadas de forma independente.

Tabela 12 - Momento do nascimento dos pintos (h) de acordo com os tratamentos

	Período de viragem <sup>1</sup>			Média
	Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	
Idade da matriz <sup>2</sup>				
29 sem	505,17±1,25	507,18±1,00	501,42±1,26	504,59±0,71B
62 sem	500,25±1,45	498,58±1,22	497,52±1,48	498,78±0,80A
Média	502,71±0,99a	502,88±0,90a	499,47±0,98b	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey. C.V.=1,82%

Momento do nascimento: 1(p=0,01); 2(p<0,0001)

Joseph & Moran (2005), Ulmer-Franco *et al.* (2010) e Barbosa *et al.* (2013) encontraram resultados semelhantes ao deste trabalho, no que diz respeito a influência da idade da matriz no tempo de incubação. Entretanto, Almeida *et al.* (2006) não observaram diferença entre o tempo de eclosão dos pintos provenientes de matrizes com 32, 43 e 60 semanas, enquanto Sabry *et al.* (2013) verificaram que pintos provenientes de matrizes com 32 semanas eclodiram mais precocemente (até 485 horas de incubação), em comparação com pintos de matrizes com 49 semanas que eclodiram, em sua maioria, após 495 horas.

Nos dois primeiros trabalhos citados anteriormente, que corroboraram o presente trabalho, os pintos das matrizes jovens eclodiram em média com 505 horas de incubação, em comparação às 500 horas dos embriões de matrizes velhas. A explicação para estes resultados está na maior taxa metabólica dos embriões de matrizes velhas, que faz com que estes consumam mais oxigênio e produzam mais gás carbônico. Em adição, a maior condutância da casca dos ovos de aves mais senis proporciona maior troca gasosa e possibilita maior desenvolvimento do embrião, conseqüentemente antecipando seus nascimentos.



Diversos autores sugerem que, modificações fisiológicas que interferem no desenvolvimento embrionário sofrem efeito da viragem e podem influenciar o período perinatal. Pearson *et al.* (1996) mostraram que a falta de viragem diminui o consumo de oxigênio na fase final da incubação. Tiroxina (T<sub>4</sub>), triiodotironina (T<sub>3</sub>) e corticosterona são os mais importantes estimulantes para o processo de nascimento, e ambos têm suas concentrações aumentadas durante a hipóxia. Embriões virados até o 18° dia possuem concentrações de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> mais elevadas, maior pressão parcial de CO<sub>2</sub> e menor pressão de O<sub>2</sub> quando comparados aos embriões virados apenas até o 12° ou 15° dia, o que demonstra que aqueles virados por mais tempo sofrem um maior estímulo para a eclosão, além de sugerir um maior metabolismo (TONA *et al.*, 2003; TONG *et al.*, 2013; BLACKER *et al.*, 2004; MOLENAAR *et al.*, 2010c). Este conjunto de fatores pode explicar o menor tempo para eclosão que ocorreu neste experimento quando os ovos foram virados até o décimo oitavo dia (tabela 12).

É bem conhecido que o peso dos pintos ao nascer é altamente correlacionado com a idade das matrizes, o que pode ser evidenciado na tabela 13, na qual foram pesados todos os pintos nascidos (n=334).

Tabela 13 – Peso (g) total dos pintos ao nascimento de acordo com os tratamentos

	Período de viragem <sup>1</sup>			Média
	Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	
Idade da matriz <sup>2</sup>				
29 sem	39,45±0,47	40,42±0,46	40,21±0,33	40,03±0,24B
62 sem	48,61±0,56	48,00±0,59	48,97±0,53	48,53±0,32A
Média	44,03±0,60	44,21±0,53	44,59±0,54	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey. C.V.=7,73%. n=334 pintos

Peso corporal: 1(p=0,52); 2(p<0,0001)

Dentre as variáveis analisadas, apenas a idade influenciou significativamente o peso ao nascer dos pintinhos. Não houve efeito da viragem e não houve interação entre idade e viragem sobre este parâmetro. De forma semelhante, Tona *et al.* (2003) viraram os ovos por 12, 15 e 18 dias e não encontraram diferença estatística no peso ao nascer

entre os tratamentos. No presente experimento, o peso dos ovos no dia zero da incubação era semelhante ( $p>0,05$ ) nas três máquinas com viragens diferentes, o que pode ter sido o motivo para não haver diferença no peso ao nascer dos pintos em decorrência da duração da viragem. Esta mesma explicação foi utilizada por Barbosa *et al.* (2013), já que estes autores também não encontraram diferença estatística no peso do pinto ao nascer, quando viraram ovos por 15, 17 ou 19 dias.

Em relação à idade das matrizes, pintos provenientes de aves velhas foram significativamente mais pesados. Este resultado está de acordo com Almeida *et al.* (2006) que encontraram pesos a eclosão significativamente crescentes entre pintos de matrizes com 32, 43 e 60 semanas. Tona *et al.* (2004), Ulmer-Franco *et al.* (2010) e Barbosa *et al.* (2013) também encontraram pintos provenientes de aves mais velhas significativamente mais pesados do que os de aves jovens à eclosão. Os resultados do presente experimento eram de certa forma esperados e estão dentro da normalidade, já que o peso do pinto é proporcional ao peso do ovo (BARBOSA *et al.*, 2008). Este fato pode ser evidenciado na tabela 14, através do alto coeficiente de correlação entre estas variáveis.

Tabela 14 – Coeficiente de correlação entre o peso (g) do ovo e o peso (g) do pinto ao nascimento

	Peso do pinto	Relação peso do pinto/peso do ovo
Peso do ovo	0,67 ( $p<0,0001$ )	-0,47 ( $p<0,0001$ )

Coeficientes de correlação acompanhados pelo p-valor

Entretanto, a tabela 15 mostra que percentualmente em relação ao peso do ovo, os pintos provenientes de matrizes jovens foram significativamente maiores em relação aos pintos nascidos de aves velhas, e que também neste quesito não houve influência do período de viragem e não houve interação entre as duas variáveis.

Com relação à idade das matrizes, estes resultados estão de acordo com os resultados de Barbosa (2011). Este autor trabalhou com pintos provenientes de matrizes Cobb® com 33 e 63 semanas de idade e encontrou 70% e 67% para a relação entre peso do pinto com o peso do ovo, nos pintos de matrizes jovens e velhas, respectivamente. Entretanto, Almeida *et al.* (2006) observaram semelhança na relação peso do pinto com

o peso do ovo entre matrizes de 32, 43 e 60 semanas, com o peso do pinto representando cerca de 72% do peso inicial do ovo.

Tabela 15 – Peso (%) dos pintos em relação ao peso do ovo de acordo com os tratamentos

	Período de viragem <sup>1</sup>			
	Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>				
29 sem	69,98±1,15	70,40±0,95	69,67±0,79	70,02±0,55A
62 sem	67,53±1,03	67,62±1,13	67,17±1,01	67,44±0,61B
Média	68,75±0,78	69,01±0,75	68,42±0,64	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey. C.V.=10,16%. n=334 pintos

Peso percentual do pinto em relação ao peso do ovo: 1(p=0,84); 2(p=0,002)

Washburn & Guill (1974) argumentaram que o peso do embrião é mais constante entre as diversas idades de matrizes quando comparados à variação no peso dos ovos de matrizes novas e velhas. No seu trabalho os autores encontraram correlação negativa ( $r = -0,46$ ) entre o percentual de peso do pinto e o peso do ovo. O mesmo ocorreu neste experimento, onde a correlação entre as duas variáveis foi de ( $r = -0,47$ ) (tabela 14). Ao contrário do experimento de Almeida *et al.* (2006), no presente estudo houve uma maior amplitude de variação no peso dos ovos incubáveis (72,48 – 57,91g) (tabela 1) quando comparados com o peso ao nascer dos pintinhos (48,53 – 40,03g) (tabela 13), fato que explica este resultado.

De acordo com a tabela 16, o peso corporal sem o saco residual da gema (*yolk free body mass* - YFBM) sofreu influência da idade da matriz, enquanto que o período de viragem não exerceu efeito significativo. Entretanto, houve influência da idade da matriz e da duração da viragem sobre o peso absoluto do saco vitelino. Não houve interação entre a idade das matrizes e o período de viragem sobre estas duas variáveis.

Os pintos provenientes das matrizes velhas apresentaram significativamente maiores pesos de YFBM e saco vitelino residual em comparação com os embriões das aves de 29 semanas.

Os resultados encontrados foram semelhante ao trabalho de Maiorka *et al.* (2004), no qual pintos nascidos de matrizes com 60 semanas apresentaram peso médio de saco vitelino de 10,86g, enquanto que os nascidos de matrizes com 30 semanas tiveram peso médio de 7,53g. Barbosa (2011), também encontrou maior peso médio de saco vitelino (6,47g) em pintos provenientes de matrizes Cobb® com 63 semanas em comparação com pintos provenientes de matrizes com 33 semanas, cujo peso médio de saco vitelino foi 5,28 gramas. Entretanto, Nangsuay *et al.* (2011) não encontraram diferença significativa para o YFBM e a gema residual de embriões de matrizes com 29 e 53 semanas. Neste último experimento, os autores utilizaram ovos com a mesma faixa de peso entre as idades, o que explica o resultado alcançado por eles.

Tabela 16 – Peso corporal (g), YFBM (g) e peso do saco vitelino (g) de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Peso corporal	29 sem	40,70±0,83	41,17±0,71	41,09±0,92	40,99±0,46B
	62 sem	49,95±0,90	49,30±0,92	50,49±0,87	49,91±0,51A
	Média	45,33±1,15	45,24±1,04	45,79±1,16	
YFBM	29 sem	37,03±0,60	36,72±0,61	36,60±0,64	36,78±0,35B
	62 sem	44,56±0,87	43,66±0,85	43,26±0,92	43,82±0,50A
	Média	40,79±0,95	40,19±0,90	39,93±0,88	
Saco vitelino	29 sem	3,66±0,28	4,45±0,34	4,49±0,38	4,20±0,20B
	62 sem	5,39±0,62	5,64±0,37	7,23±0,75	6,09±0,36A
	Média	4,53±0,39b	5,04±0,27ab	5,86±0,50a	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. PC C.V. = 6,85%, YFBM C.V. = 6,54%, SACV C.V. = 32,99%. n=72 pintos

Peso corporal: 1(p=0,78); 2(p<0,0001)

YFBM: 1(p=0,51); 2(p<0,0001)

SACV: 1(p=0,03); 2(p<0,0001)

Em relação ao período de viragem, os ovos que foram virados de forma contínua por sete dias produziram pintos com peso de saco vitelino residual significativamente

inferior aos embriões que foram virados normalmente até o 18º dia (tabela 16). No trabalho de Barbosa (2011), a viragem dos ovos por 15, 17 ou 19 dias não influenciou o peso do saco vitelino.

A tabela 17 mostra a relação entre o YFBM/peso corporal (YFBM/PC), além do percentual (%) entre saco vitelino residual/peso corporal (SAV/PC). Houve influência da idade da matriz e da viragem sobre as variáveis. Não houve interação significativa entre idade das matrizes e período de viragem sobre YFBMPC e SAV/PC. Quanto à idade das matrizes, os embriões de aves jovens apresentaram significativamente maior YFBM/PC e menor SAV/PC. Peebles *et al.* (2001), Hamidu *et al.* (2007), Yalçin *et al.* (2008) e Sabry *et al.* (2013) encontraram resultados semelhantes quanto a influência da idade na YFBM/PC e no SAV/PC.

Tabela 17 – Relação YFBM/Peso corporal e percentual de saco vitelino em relação ao peso corporal de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
YFBM/ Peso corporal	29 sem	0,91±0,005	0,89±0,007	0,89±0,007	0,89±0,004A
	62 sem	0,89±0,011	0,88±0,006	0,86±0,015	0,87±0,007B
	Média	0,90±0,006a	0,89±0,005ab	0,87±0,009b	
Saco vitelino (%)	29 sem	8,92±0,54	10,77±0,76	10,79±0,75	10,16±0,42B
	62 sem	10,74±1,15	11,43±0,69	14,26±1,51	12,14±0,70A
	Média	9,83±0,67b	11,10±0,50ab	12,52±0,90a	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. YFBM/PC C.V. = 3,7%, SAV/PC C.V. = 29,87%. n=72 pintos

YFBM/PC: 1(p=0,04); 2(p=0,01)

SAV/PC: 1(p=0,02); 2(p=0,01)

A maior relação de YFBM aliada a um menor percentual de saco vitelino residual é sugestiva de uma capacidade superior dos embriões de aves jovens de absorver e converter os nutrientes da gema em tecido corporal (PEEBLES *et al.*, 2001).

Este fato seria para compensar possíveis deficiências de nutrientes na gema, uma ineficiência na transferência de lipídios ou utilização destes nutrientes pelo embrião (BURNHAM *et al.*, 2001). Além disso, embriões de ovos pequenos tem maior capacidade de absorção de gema em comparação com embriões provenientes de ovos grandes (NANGSUAY *et al.*, 2011).

Em relação ao período de viragem, os embriões que foram virados até o 18º dia apresentaram estatisticamente menor YFBM/PC e maior SAV/PC em comparação com os embriões que foram virados de forma contínua por sete dias. O outro tratamento não diferiu dos demais (tabela 17). Este resultado diferiu do trabalho de Barbosa (2011), no qual o percentual de saco vitelino residual em relação ao peso corporal foi semelhante para ovos virados por 15, 17 ou 19 dias. Conseqüentemente, comparando estes dois trabalhos pode-se inferir que o aumento na frequência de viragem na primeira semana de incubação foi o responsável pela maior utilização do saco vitelino.

New (1957) e Elibol & Brake (2004) afirmaram que a viragem dos ovos durante o período entre o terceiro e o sétimo dia de incubação é suficiente para um crescimento normal do embrião mesmo que esta seja interrompida após este tempo. A viragem durante este período é responsável pelo crescimento da área vasculosa do saco vitelino, e da membrana corioalantóidea, que é o principal meio de troca gasosa do embrião, e que surge por volta do quarto dia (TAZAWA, 1980; DEEMING, 2009). Desta forma o aumento na frequência de viragem até o sétimo dia pode ter melhorado o desenvolvimento destas estruturas e colaborado para um maior aporte de oxigênio para o embrião neste período, permitindo que este pudesse utilizar em maior quantidade os lipídios da gema. Segundo Tona *et al.* (2003) a frequência elevada de viragem pode levar a uma rápida utilização da gema. Este fato explicaria o percentual maior de YFBM e menor de saco vitelino dos pintos que foram virados de forma contínua até o sétimo dia (tabela 17), evidenciando o maior aproveitamento dos nutrientes da gema.

Os dados relativos aos pesos dos órgãos vitais e do sistema digestivo estão apresentados nas tabelas 18 e 19. A idade da matriz influenciou ( $p \leq 0,05$ ) significativamente o peso dos órgãos vitais e do sistema digestivo dos pintos, enquanto não houve efeito da viragem. Não existiu interação entre a idade e a viragem. Os pesos de todos os órgãos analisados foram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) superiores nos pintos das matrizes com 62 semanas em comparação aos embriões de matrizes jovens.

Os resultados do presente experimento estão de acordo com Barbosa (2011), que observou que os pintos nascidos de matrizes com 33 semanas apresentaram peso médio absoluto do coração de 0,36 gramas, estatisticamente inferior as 0,40 gramas de peso médio absoluto do coração dos pintos provenientes de matrizes pesadas com 63 semanas. Além disso, corroboram os resultados de Luquetti *et al.* (2004), que encontraram peso médio absoluto de coração (0,23g) e pulmão (0,30g) de pintos provenientes de aves Cobb® com 60 semanas, significativamente maiores quando comparados com o peso médio do coração (0,21g) e do pulmão (0,28g) dos pintos nascidos de matrizes com 30 semanas. Entretanto, Morita *et al.* (2009) não encontraram diferença no peso absoluto de coração e pulmão entre pintos nascidos de matrizes Cobb® com 29 e 60 semanas de idade.

Tabela 18 – Peso coração (g), pulmão (g) e fígado (g) de acordo com os tratamentos.

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Coração	29 sem	0,37±0,010	0,35±0,011	0,36±0,014	0,36±0,007B
	62 sem	0,42±0,013	0,41±0,013	0,47±0,068	0,43±0,023A
	Média	0,40±0,01	0,38±0,01	0,42±0,03	
Pulmão	29 sem	0,32±0,015	0,30±0,017	0,33±0,014	0,32±0,009B
	62 sem	0,40±0,027	0,40±0,011	0,47±0,069	0,42±0,025A
	Média	0,36±0,017	0,35±0,014	0,40±0,037	
Fígado	29 sem	1,09±0,025	1,04±0,036	1,05±0,023	1,06±0,01B
	62 sem	1,34±0,034	1,40±0,024	1,40±0,091	1,38±0,03A
	Média	1,21±0,03	1,22±0,04	1,22±0,05	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. PCor C.V.= 26,2%, PPul C.V.= 30,19%, PFig C.V.= 13%. n=72 pintos

Coração: 1(p=0,47); 2(p=0,0043)

Pulmão: 1(p=0,20); 2(p=0,0002)

Fígado: 1(p=0,95); 2(p<0,0001)

Com relação ao fígado, Maiorka *et al.* (2004) encontraram estes órgãos estatisticamente mais pesados (0,89g) em pintos de corte de um dia nascidos de matrizes com 60 semanas, em comparação com o peso dos fígados (0,76g) dos pintos provenientes de aves com 30 semanas. Entretanto, estes autores não encontraram diferença no peso do trato gastrointestinal.

Os dados do presente estudo, de certa forma, foram esperados devido ao maior peso ao nascimento dos pintos de matrizes velhas, fazendo com que estes apresentassem maior peso absoluto dos órgãos. Estes resultados encontram respaldo no trabalho de Molenaar & Reijrink (2011), que demonstraram que órgãos como coração, fígado e baço são maiores em pintos de maior tamanho, e que o tamanho do pinto é altamente correlacionado com o peso do pinto.

Não houve influência do período da viragem sobre os pesos absolutos dos órgãos (tabela 18 e 19). Resultados semelhantes foram encontrados por Barbosa (2011). Este autor virou os ovos por 15, 17 ou 19 dias, e não observou diferença no peso médio do coração entre os tratamentos.

Tabela 19 – Peso intestino (g) e proventrículo com moela (g) de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Intestino	29 sem	2,00±0,06	1,83±0,05	1,88±0,05	1,90±0,03B
	62 sem	2,33±0,11	2,38±0,10	2,29±0,08	2,33±0,05A
	Média	2,17±0,07	2,10±0,08	2,09±0,06	
Proventrículo e moela	29 sem	2,77±0,08	2,58±0,06	2,63±0,10	2,66±0,04B
	62 sem	2,91±0,09	2,84±0,10	3,00±0,14	2,92±0,06A
	Média	2,84±0,06	2,71±0,06	2,82±0,09	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. PInt C.V. = 13,3%, PPrM C.V. = 12,6%. n=72 pintos

Intestino: 1(p=0,62); 2(p<0,0001)

Proventrículo + moela: 1(p=0,42); 2(p=0,0026)



As tabelas 20 e 21 apresentam os dados relacionados aos percentuais dos órgãos vitais (coração, pulmão e fígado) e dos órgãos do trato gastrointestinal (proventrículo + moela e intestinos), respectivamente. Não houve interação significativa entre a idade e a viragem sobre nenhuma das variáveis.

Tabela 20 – Percentual de coração, pulmão e fígado em relação ao YFBM de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Coração	29 sem	1,00±0,025	0,96±0,038	0,99±0,044	0,98±0,021
	62 sem	0,96±0,031	0,94±0,028	1,08±0,139	0,99±0,048
	Média	0,98±0,020	0,95±0,023	1,04±0,072	
Pulmão	29 sem	0,88±0,035	0,83±0,050	0,92±0,029	0,87±0,022
	62 sem	0,90±0,057	0,93±0,033	1,10±0,141	0,98±0,052
	Média	0,89±0,033	0,88±0,030	1,01±0,072	
Fígado	29 sem	2,95±0,065	2,86±0,093	2,88±0,067	2,90±0,042B
	62 sem	3,00±0,055	3,22±0,058	3,22±0,173	3,15±0,064A
	Média	2,98±0,042	3,04±0,065	3,05±0,097	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. PrCor C.V. = 22,8%, PrPul C.V. = 25,98%, PrFig C.V. = 10,8%. n=72 pintos

Coração: 1(p=0,39); 2(p=0,86)

Pulmão: 1(p=0,13); 2(p=0,08)

Fígado: 1(p=0,66); 2(p=0,0021)

Com relação à idade das matrizes, os pintos das aves jovens apresentaram significativamente menor percentual de fígado e maior percentual de proventrículo + moela em comparação com os embriões das aves com 62 semanas. Os percentuais de coração, pulmão e intestino dos pintos não diferiram entre as idades de matrizes.

No que diz respeito ao coração e pulmão, os resultados do presente experimento foram semelhantes ao trabalho de Morita *et al.* (2009), Barbosa (2011) e Sabry *et al.*

(2013) que não relataram diferença no percentual destes órgãos em relação ao peso corporal.

Os dados relativos ao fígado estão de acordo com os resultados de Peebles *et al.* (2001), que trabalhando com matrizes com 27 e 36 semanas observaram que o peso relativo deste órgão foi estatisticamente superior para os embriões das aves mais velhas. Segundo De Oliveira *et al.* (2008), entre os dias 17 e 18 da incubação, ocorre acúmulo de glicogênio no fígado para ser utilizado durante a eclosão. No presente trabalho os pintos de matrizes com 62 semanas apresentaram menor glicemia do que os pintos das aves jovens (será mostrado na tabela 23). Esta hipoglicemia dos pintos provenientes de aves velhas em relação aos pintos vindos das matrizes novas pode ser sugestiva que, de alguma maneira os pintinhos provenientes das matrizes senis não foram capazes de liberar o glicogênio armazenado no fígado e elevar a glicemia para o processo de eclosão, resultando em um órgão mais pesado.

Em relação ao peso médio relativo dos órgãos do trato gastrointestinal, os resultados foram similares ao experimento de Maiorka *et al.* (2004), no qual o peso médio relativo destes órgãos (proventrículo + moela + intestinos) foi superior nos embriões nascidos de matrizes com 30 semanas (8,9%) em comparação com os de 60 semanas, cujo percentual médio foi 6,9%.

Tabela 21 – Percentual de intestino e proventrículo com moela em relação ao YFBM de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Intestino	29 sem	5,40±0,13	5,04±0,15	5,15±0,14	5,20±0,08
	62 sem	5,23±0,19	5,47±0,26	5,33±0,20	5,34±0,12
	Média	5,31±0,11	5,25±0,16	5,24±0,12	
Proventrículo e moela	29 sem	7,47±0,17	6,97±0,17	7,19±0,21	7,21±0,11A
	62 sem	6,53±0,14	6,53±0,20	6,94±0,27	6,66±0,12B
	Média	7,00±0,15	6,75±0,13	7,07±0,17	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si, dentro de cada variável, pelo teste de Tukey. PrInt C.V. = 12,3%, PrPrM C.V. = 10,03%. n=72 pintos

Intestino: 1(p=0,93); 2(p=0,34). Proventriculo + moela: 1(p=0,27); 2(p=0,0017)

Independentemente da idade da matriz, embriões submetidos aos três diferentes períodos de viragem apresentaram semelhança estatística quanto ao percentual de seus órgãos em relação ao YFBM (tabela 20 e 21). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Barbosa (2011), que não encontraram diferença estatística no percentual do coração dos pintos de corte que foram submetidos à viragem por 15, 17 ou 19 dias. Deste modo pode-se afirmar que a organogênese, destes embriões não foi alterada pelos tratamentos relacionados à viragem, no que diz respeito aos órgãos avaliados.

O resultado do volume globular (VG) dos pintos no momento da eclosão está disposto na tabela 22. Não houve influência da idade e também não houve interação entre idade e viragem sobre o hematócrito. Entretanto a frequência de viragem foi capaz de exercer efeito ( $p \leq 0,05$ ) sobre o hematócrito.

No que diz respeito à influência da idade da matriz no hematócrito dos pintos, estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Luqueti *et al.* (2004), Morita *et al.* (2009) e Barbosa (2011). Estes pesquisadores compararam pintos de matrizes jovens e velhas com idades entre 30 e 60 semanas, e não encontraram diferença significativa no VG das aves recém-eclodidas, com o VG médio entre as idades correspondendo a 35%, 25% e 23% respectivamente para os trabalhos citados.

Tabela 22 – Volume globular (%) dos pintos de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Volume globular	29 sem	26,11±0,61	26,33±0,61	31,66±0,61	28,03±0,65
	62 sem	26,66±1,30	28,33±0,90	29,41±0,51	28,13±0,57
	Média	26,38±0,77b	27,33±0,66b	30,54±0,46a	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey. C.V.=10,2%. n=72 pintos

Volume globular: 1( $p=0,0007$ ); 2( $p=0,63$ )

Os ovos virados por dezoito dias produziram pintos com VG significativamente maior em relação aos que foram virados por apenas sete dias, inclusive àqueles virados de forma contínua.

A diminuição do pH sanguíneo (acidose respiratória) acarretada pela hipóxia ou hipercarpnia, tem a capacidade de elevar o hematócrito dos embriões de frangos, devido ao aumento na eritropoese (ANDREWARTHA *et al.*, 2011; BURGGREN *et al.*, 2012; TAZAWA *et al.*, 2012). Durante a transição entre a respiração corioalantóidea e a pulmonar, os embriões são submetidos a uma situação de elevação na concentração de gás carbônico. No trabalho de Tona *et al.* (2003), os embriões que foram virados até o 18º dia apresentam maior pressão parcial de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) e menor de O<sub>2</sub> (pO<sub>2</sub>) em comparação com aqueles virados por doze ou quinze dias apenas. No presente experimento, os pintos que foram virados por 18 dias apresentaram maior percentual de saco vitelino residual (tabela 17) e um menor teor de glicose plasmática (será mostrado na tabela 23). Deste modo, pode-se inferir que estes embriões foram submetidos a uma menor pO<sub>2</sub>, que os levaram a utilizar menos gema e lançar mão da glicólise anaeróbica para a geração de energia. Aliado a isso, Tazawa (1980) afirmou que existe correlação negativa e significativa ( $r=-0,67$ ) entre hematócrito e pO<sub>2</sub>. Portanto, apesar de não ter sido avaliado neste experimento, os embriões virados até o décimo oitavo dia podem ter sofrido uma acidose respiratória devido a hipercarpnia, juntamente com a diminuição da pO<sub>2</sub> e conseqüentemente, elevação de seu volume globular, na tentativa de suprir suas demandas energéticas.

A tabela 23 evidencia os resultados dos metabólitos plasmáticos, glicose, lactato e ácido úrico. Os embriões provenientes de matrizes jovens apresentaram glicemia significativamente ( $p\leq 0,05$ ) elevada em comparação com os pintos de aves de 62 semanas, assim como, aqueles que foram virados continuamente até o sétimo dia em comparação com os outros dois períodos de viragem. Entretanto não houve efeito significativo ( $p>0,05$ ) dos tratamentos sobre as concentrações de lactato e ácido úrico plasmático. Também não houve interação entre idade das matrizes e viragem para nenhuma das variáveis.

Barbosa (2011) não encontrou influência da idade da matriz (33 e 62 semanas) na glicemia e teor de lactato dos pintos de um dia, o mesmo ocorrendo no trabalho de Morita *et al.* (2009), no qual a concentração de glicose não foi influenciada pela idade das matrizes (29 e 60 semanas).

De acordo com Yadgary & Uni (2012), um dos locais de produção da glicose para liberação na corrente sanguínea é na membrana do saco vitelino, através da

gliconeogênese. No presente experimento, os embriões virados de forma contínua e aqueles provenientes de matrizes jovens foram os que melhor aproveitaram o saco vitelino, evidenciado pelo menor peso relativo deste órgão (tabela 17), e segundo os autores, a maior absorção de gema durante o desenvolvimento pode ser a responsável pela alta concentração plasmática de glicose desses embriões.

Tabela 23 – Glicose (mg/dL), lactato (mg/dL), e ácido úrico (mg/dL) dos pintos de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade da matriz <sup>2</sup>					
Glicose	29 sem	302,12±6,46	291,18±5,51	290,16±5,28	294,50±3,33A
	62 sem	297,75±5,79	278,66±4,01	277,08±3,71	284,52±3,04B
	Média	299,90±4,17a	284,92±3,81b	283,61±3,73b	
Lactato	29 sem	19,66±1,30	22,98±1,46	22,05±1,33	21,56±0,85
	62 sem	20,87±1,19	21,92±1,61	22,29±1,34	21,69±0,79
	Média	20,26±0,86	22,45±1,07	22,17±0,92	
Ácido úrico	29 sem	1,60±0,10	1,74±0,16	1,76±0,17	1,70±0,09
	62 sem	1,70±0,08	1,45±0,08	1,71±0,09	1,62±0,05
	Média	1,65±0,06	1,59±0,10	1,74±0,09	

Médias ± EPM seguidas por letras distintas, minúscula na linha e maiúscula na coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey. Glic. C.V.= 6,3%, Lac. C.V.= 21,2%, Ac Ur. C.V.= 24,4%. n=72 pintos

Glicose: 1(p=0,0095); 2(p=0,03)

Lactato: 1(p=0,31); 2(p=0,90)

Ácido úrico: 1(p=0,56); 2(p=0,51)

Além disso, os pintos de matrizes velhas apresentam maiores taxas metabólicas em comparação aos pintos de matrizes novas (O'DEA *et al.*, 2004). Consequentemente, o menor teor de glicose plasmática dos pintos de aves velhas, pode ter sido em decorrência de uma maior utilização devido ao seu metabolismo, ou de uma maior necessidade de glicose para o processo de eclosão. Outra explicação pode estar no fato

que, os embriões de matrizes com 62 semanas foram ineficientes em liberar a glicose estocada no fígado sob a forma de glicogênio, evidenciada por uma maior percentual deste órgão nestes pintos.

O lactato é produzido através da glicólise anaeróbica, e sua concentração plasmática nos embriões de frangos se eleva nos momentos que antecedem a eclosão devido a hipóxia e aumento na demanda energética deste período (HOIBY *et al.*, 1987; DE OLIVEIRA *et al.*, 2008). A partir do momento em que o embrião começa a respiração pulmonar e a normóxia se reestabelece, este utiliza o metabolismo aeróbico para obtenção de energia e o lactato é reciclado a glicose (YADGARY & UNI, 2012; VAN DE VEN *et al.*, 2013). No presente trabalho, no momento da coleta, os embriões tinham entre 12 e 18 horas de vida, isto sugere que a semelhança entre os níveis de lactato dos tratamentos seja devido à estabilização da respiração pulmonar por parte dos pintos (BARBOSA, 2011).

O estresse oxidativo e o catabolismo proteico, principalmente a utilização de aminoácidos para a gliconeogênese, são avaliados através do ácido úrico plasmático (ARTACHO *et al.*, 2007; MOLENAAR *et al.*, 2010b; MOLENAAR *et al.*, 2011). De acordo com Molenaar *et al.* (2013), embriões de frango podem deaminar aminoácidos gliconeogênicos para serem oxidados diretamente em ATP, ou serem convertidos em glicose, com o objetivo principal de gerar energia para o processo de eclosão. Portanto, com base nos resultados encontrados (tabela 23), pode-se afirmar que, apesar de ter existido diferença na glicemia, a idade das matrizes e o período de viragem não interferiram na utilização dos aminoácidos gliconeogênicos por parte dos embriões.

A relação heterófilo/linfócito (H/L) dos embriões está demonstrada na tabela 24. Não houve influência ( $p > 0,05$ ) da idade das matrizes e da duração do período de viragem sobre esta variável. Não existiu interação entre a idade das matrizes e o período de viragem sobre as variáveis.

Quanto a idade das matrizes, estes resultados estão de acordo com o trabalho de Morita *et al.* (2009), que não encontraram diferença significativa na H/L de pintos nascidos de matrizes Cobb® com 29 e 60 semanas de idade, com valor médio de 0,73. Alguns autores, também analisaram a H/L de embriões logo após a eclosão. Zulkifli & Siegel (1994) encontraram relação de 1,77, enquanto Gonzales *et al.* (2003) observaram

relação de 1,25. Entretanto, Morita *et al.* (2010) encontraram valor de 0,2 para esta variável. No atual experimento a média geral para a relação heterófilo/linfócito foi 0,9.

Tabela 24 – Relação Heterófilo/Linfócito (H/L) dos pintos de acordo com os tratamentos

		Período de viragem <sup>1</sup>			
		Contínua (7 dias)	7 dias	18 dias	Média
Idade das matrizes <sup>2</sup>					
H/L	29 sem	1,01±0,09	0,81±0,04	0,85±0,06	0,89±0,03
	62 sem	0,88±0,03	0,88±0,02	0,97±0,03	0,91±0,02
	Média	0,95±0,03	0,85±0,02	0,91±0,02	

Médias ± EPM não seguidas por letras distintas, não diferem através do Teste F. C.V. =12,8%. n=72 pintos

H/L: 1(p=0,196); 2(p=0,192)

A H/L tem sido utilizada como um indicativo de estresse em galinhas (GROSS & SIEGEL, 1983; MAXWELL *et al.*, 1992; MAXWELL, 1993; PRIETO & CAMPO, 2010). Segundo Macari & Luquetti (2002) Valores de 0,2, 0,5 e 0,8 foram considerados como estresse baixo, mediano e alto respectivamente. Porém, Campo & Davila (2002) sugeriram que taxas de 0,8 podem ser encontradas, principalmente para pintos recém-eclodidos, em decorrência da elevada concentração de corticosterona plasmática que, normalmente ocorre devido ao estresse fisiológico do processo de eclosão. Portanto, com base nos resultados deste experimento pode-se inferir que embriões de diferentes idades, ou que tiveram a viragem cessada anteriormente ao tratamento controle, não foram submetidos a fatores estressantes adicionais.

## 5. CONCLUSÕES

Os ovos de matrizes de 29 semanas possuem qualidade superior para a incubação, quando comparados aos ovos de 62 semanas. Sugere-se que os futuros trabalhos, foquem as pesquisas em buscar condições adequadas de incubação que se adaptem às características dos ovos de cada idade de matriz.

Na incubação de pequena escala, a viragem pode ser descontinuada após o sétimo dia de incubação sem prejuízo para o rendimento de incubação e a fisiologia

embrionária, independentemente da idade da matriz. Além disso, o aumento da frequência da viragem na primeira semana mostrou ser benéfico ao embrião, tendo em vista que houve uma maior absorção de gema, aliado a um maior percentual de corpo livre do saco vitelino residual nos embriões que foram virados de forma contínua.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUDABOS, A. The effect of broiler breeder strain and parent flock age on hatchability and fertile hatchability. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 3, p. 231-235, 2010.
- AHMED, A. M. H.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B.; VIDAL, M. L.; GAUTRON, J.; GARCIA-RUIZ, J. M. e NYS, Y. Changes in eggshell mechanical properties, crystallographic texture and in matrix proteins induced by moult in hens. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 268–279, 2005.
- AHN, D. U.; KIM, S. M. e SHU, H. Effect of egg size and strain and age of hens on the solids content of chicken eggs. **Poultry Science**, v. 76, p. 914-919, 1997.
- ALMEIDA, J. G.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A.; FARIA FILHO, D. E. e OELKE, C. A. Efeito da idade da matriz no tempo de eclosão, tempo de permanência do neonato no nascedouro e o peso do pintainho. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 45-49, 2006.
- ALSOBAYEL, A. A. e ALBADRY, M.A. Effect of age and sex ratio on fertility and hatchability of baladi and leghorn laying hens. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 1, p. 15-19, 2012.
- ANDREWARTHA, S. J.; TAZAWA, H. e BURGGREN, W. Hematocrit and blood osmolality in developing chicken embryos (*Gallus gallus*): In vivo and in vitro regulation. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 179, p. 142– 150, 2011.
- ARTACHO, P.; SOTO-GAMBOA, M.; VERDUGO, C. e NESPOLO, R. F. Blood biochemistry reveals malnutrition in black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 146, p. 283–290, 2007.



BAGGOTT, G. K.; DEEMING, D. C. e LATTER, G. V. Electrolyte and water balance of the early avian embryo: effects of egg turning. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 13, n. 2, p. 105-109, 2002.

BARBOSA, V. M. **Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre o status fisiológico de embriões e pintos, rendimento da incubação e desempenho da progênie**. 2011. 117 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2011.

BARBOSA, V. M.; BAIÃO, N. C.; MENDES, P. M. M.; ROCHA, J. S. R.; POMPEU, M. A.; LARA, L. J. C.; MARTINS, N. R. S.; NELSON, D. L.; MIRANDA, D. J. A.; CUNHA, C. E.; CARDOSO, D. M. e CARDEAL, P. C. Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.1036-1044, 2012.

BARBOSA, V. M.; CANÇADO, S. V.; BAIÃO, N. C.; LANA, A. M. Q.; LARA, L. J. C. e SOUZA, M. R. Efeitos da umidade relativa do ar na incubadora e da idade da matriz leve sobre o rendimento da incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 741-748, 2008.

BARBOSA, V. M.; ROCHA, J. S. R.; BAIÃO, N. C.; MENDES, P. M. M.; POMPEU, M. A.; LARA, L. J. C.; MIRANDA, D. J. A.; CARVALHO, G. B.; CARDOSO, D. M.; D. L.; CUNHA, C. E.; MARTINS, N. R. S e LEITE, R. C. Efeitos do momento de transferência dos ovos para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre o rendimento de incubação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.6, p.1823-1830, 2013.

BENTON JR, C. E. e BRAKE, J. The effect of broiler breeder flock age and length of egg storage on egg albumen during early incubation. **Poultry Science**, v. 75, p. 1069-1075, 1996.

BLACKER, H. A.; ORGEIG, S. e DANIELS, C. B. Hypoxic control of the development of the surfactant system in the chicken: evidence for physiological heterokairy. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 287, p. R403–R410, 2004.

BURGGREN, W.; ANDREWARTHA, S. J. e TAZAWA, H. Interactions of acid–base balance and hematocrit regulation during environmental respiratory gas challenges in

developing chicken embryos (*Gallus gallus*). **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 183, p. 135–148, 2012.

BURNHAM, M. R.; PEEBLES, E. D.; GARDNER, C. W. Effects of incubation humidity and hen age on yolk composition in broiler hatching eggs from young breeders. **Poultry Science**, v.80, p.1444-1450, 2001.

CAMPO, J. L. e DAVILA, S. G. Estimation of heritability for heterophil:lymphocyte ratio in chickens by restricted maximum likelihood. Effects of age, sex, and crossing. **Poultry Science**, v. 81, p. 1448–1453, 2002.

CHERIAN, G. Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. **Poultry Science**, v. 87, p. 1131–1137, 2008.

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

CUSACK, M.; FRASER, A.C. e STACHEL, T. Magnesium and phosphorus distribution in the avian eggshell. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 134, p. 63–69, 2003.

CUTCHIN, H. R.; WINELAND, M. J.; CHRISTENSEN, V. L.; DAVIS, S. e MANN, K. M. Embryonic development when eggs are turned different angles during incubation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, p. 447–451, 2009.

DE OLIVEIRA, J. E.; UNI, Z. e FERKET, P.R. Important metabolic pathways in poultry embryos prior to hatch. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, p. 488-499, 2008.

DECUYPERE, E. e BRUGGEMAN, V. The Endocrine Interface of Environmental and Egg Factors Affecting Chick Quality. **Poultry Science**, v. 86, p. 1037-1042, 2007.

DEEMING, D. C. The role of egg turning during incubation. **Avian biology research**, v. 2, n. 1/2, p. 67-91, 2009.

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

- ELIBOL, O. e BRAKE, J. Effect of egg turning angle and frequency during incubation on hatchability and incidence of unhatched broiler embryos with head in the small end of the egg. **Poultry Science**, v. 85, p. 1433–1437, 2006b.
- ELIBOL, O. e BRAKE, J. Effect of flock age, cessation of egg turning, and turning frequency through the second week of incubation on hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 85, p. 1498–1501, 2006a.
- ELIBOL, O. e 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.
- ELIBOL, O. e BRAKE, J. Identification of critical periods for turning broiler hatching eggs during incubation. **British Poultry Science**, v. 45, n. 5, p. 631–637, out 2004.
- ELIBOL, O.; PEAK, S. D. e BRAKE, J. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 81, p. 945–950, 2002.
- ENGLMAIEROVÁ, M.; SKŘIVAN, M. e BUBANCOVÁ, I. A comparison of lutein, spray-dried *Chlorella*, and synthetic carotenoids effects on yolk colour, oxidative stability, and reproductive performance of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 58, p. 412–419, 2013.
- FROMM, D. e MATRONE, G. A rapid method for evaluating the strength of the vitelline membrane of the hen's egg yolk. **Poultry Science**, v. 41, p. 1516-1521, 1962.
- FROMM, D. Strength distribution, weight and some histological aspects of the vitelline membrane of the hen's egg yolk. **Poultry Science**, v. 43, p. 1240-1246, 1964.
- FROMM, D. The influence of ambient pH on moisture content and yolk index of the hen's yolk. **Poultry Science**, v. 45, p. 374-379, 1966.
- GONZALES, E.; KONDO, N.; SALDANHA, E. S. P. B.; LODDY, M. M.; CAREGHI, C. e DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, v. 82, p. 1250–1256, 2003.
- GROSS, W. B. e SIEGEL, H. S. Evaluation of the heterophil to lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, v. 27, p. 972–979, 1983.
- HAMIDU, J. A.; FASENKO, G. M.; FEDDES, J. J. R.; O'DEA, E. E.; OUELLETTE, C. A.; WINELAND, M. J. e CHRISTENSEN, V. L. The effect of broiler breeder

genetic strain and parent flock age on eggshell conductance and embryonic metabolism. **Poultry Science**, v. 86, p. 2420–2432, 2007.

HAMILTON, R. G. M. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**, v. 61, n. 10, p. 2022-2039, 1982.

HAUGH, R. R. Egg Quality. **The U.S. Egg and Poultry Magazine**, p. 552-555, 1937.

HOIBY, M.; AULIE, A. e BJONNES, P. O. Anaerobic metabolism in fowl embryos during normal incubation. **Comparative Biochemistry Physiology, Part A**, v. 86, n. I, p. 91-94, 1987.

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

IZAT, A. L.; GARDNER, F. A. e MELLOR, D. B. The effects of age of bird and season of the year on egg quality. II. Haugh units and compositional attributes. **Poultry Science**, v. 65, p. 726-728, 1986.

JOSEPH, N. S. e MORAN JR, E. T. Effect of flock age and post emergent holding in the hatcher on broiler live performance and further-processing yield. **Journal of Applied Poultry Research**, V. 14, p. 512–520, 2005.

KIRUNDA, D. F. K. e MCKEE, S. R. Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vitelline membrane strength as determined by a texture analyzer. **Poultry Science**, v. 79, p. 1189-1193, 2000.

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

LATTER, G. V. e BAGGOTT, G. K. Role of carbon dioxide and ion transport in the formation of sub-embryonic fluid by the blastoderm of the Japanese quail. **British Poultry Science**, v. 43, p. 104–116, 2002.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; MEIJERHOF, R. e KEMP, B. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. **Poultry Science**, v. 84, p. 914–920, 2005.

LUCAS, A. M. e JAMROZ, C. **Atlas of avian haematology**. Washington, D.C.: U.S.D.A. Monograph 25, 1961. 271 p.

- LUQUETTI, B. C.; GONZALES, E.; BRUNO, L. D. G.; FURLAN, R. L. e MACARI, M. Egg traits and physiological neonatal chick parameters from broiler breeder at different ages. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 1, p. 13–17, 2004.
- MACARI, M. e LUQUETTI, B.C. Fisiologia Cardiovascular. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L. e GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 17-36.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. F.; ROUTMAN, K. S.; PIZAURO JR, J. M. e MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 1, p. 19–22, 2004.
- MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poultry Science Journal**, v. 49, p. 34–43, 1993.
- MAXWELL, M. H., HOCKING, P. M. e ROBERTSON, G. W. Differential leukocyte responses to various degrees of food restriction in broilers, turkeys and ducks. **British Poultry Science**, v. 33, p. 177–187, 1992.
- MOLENAAR, R. e REIJIRINK, I. A. M. Chick length and organ development. 2011. Disponível em:  
<<http://www.hatchtech.nl/aboutus/articles/Chick%20Length%20And%20Organ%20Development.pdf>> Acesso em: 21 de mai. 2015.
- MOLENAAR, R.; DE VRIES, S.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and hole in the air cell on the perinatal development and physiology of layer hatchlings. **Poultry Science**, v. 89, p. 1716-1723, 2010a.
- MOLENAAR, R.; REIJIRINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R. e VAN DEN BRAND, H. Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 3, p. 137–148, 2010c.
- MOLENAAR, R.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration during incubation on the developmental and physiological status of broiler hatchlings in the perinatal period. **Poultry Science**, v. 90, p. 1257–1266, 2011.
- MOLENAAR, R.; VAN DEN BORNE, J. J. G. C.; HAZEJAGER, E.; KRISTENSEN, N. B.; HEETKAMP, M. J. W.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H.

High environmental temperature increases glucose requirement in the developing chicken embryo. **PlosOne**, v. 8, n. 4, p. 1-12, 2013.

MOLENAAR, R.; VAN DEN BORNE, J. J. G. C.; HAZEJAGER, E.; KRISTENSEN, N. B.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of temperature on glucose metabolism in the developing chicken embryo. In: Molenaar, R. **Perinatal development and nutriente utilization in chickens Effects of incubation conditions**. 2010b. 168 f. Tese (Doutorado) - Wageningen University, Wageningen, the Netherlands, 2010b.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C. e CARGNELUTTI FILHO, A. Hematological values and body, heart and liver weights of male and female broiler embryos of young and old breeder eggs. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 1, p. 07–15, 2009.

MORITA, V. S.; BOLELI, I. C. e DE OLIVEIRA, J. A. Hematological and incubation parameters of chicks from Young breeders eggs: variation with sex and incubation temperature. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 6, p. 606-612, 2010.

NANGSUAY, A.; MEIJERHOF, R.; RUANGPANIT, Y.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Energy utilization and heat production of embryos from eggs originating from young and old broiler breeder flocks. **Poultry Science**, v. 92, p. 474-482, 2013.

NANGSUAY, A.; RUANGPANIT, Y.; MEIJERHOF, R. e ATTAMANGKUNE, S. Yolk absorption and embryo development of small and large eggs originating from young and old breeder hens. **Poultry Science**, v. 90, p. 2648-2655, 2011.

NEW, D. A. T. A Critical Period for the Turning of Hens' Eggs. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v. 5, n. 3, p. 293-299, set 1957.

NGOKA, D. A.; FRONING, G. W. e BABJI, A. S. Effect of temperature on egg yolk characteristics of eggs from young and old laying hens. **Poultry Science**, v. 62, p. 618-720, 1983.

O'DEA, E. E.; FASENKO, G. M.; FEDDES, J. J. R.; ROBINSON, F. E.; SEGURA, J. C.; OUELLETTE, C. A. e VAN MIDDELKOOP, J. H. Investigating the eggshell conductance and embryonic metabolism of modern and unselected domestic avian genetic strains at two flock ages. **Poultry Science**, v. 83, p. 2059-2070, 2004.

OGAWA, H.; UEHARA, M.; KUWAYAMA, T.; KAWASHIMA, M. e TANAKA, K. Changes in calcium, magnesium ad phosphorus content of eggshell during stay in

oviduct uterus in the Guinea fowl and the chicken. **Journal of Poultry Science**, v. 41, p. 236-240, 2004.

OLSSON, N. Studies on the specific gravity of hens' eggs. A New Method for Determining the Percentage of Shell on Hens' Eggs. **Otto Harrassowitz**, Leipzig, G.D.R. 1934.

PEARSON, J. T.; HAQUE, M. A.; HOU, P-C. L. e TAZAWA, H. Developmental patterns of O<sub>2</sub> consumption, heart rate and O<sub>2</sub> pulse in unturned eggs. **Respiration Physiology**, v. 103, p. 83-87, 1996.

PEEBLES, E. D.; DOYLE, S. M.; ZUMWALT, C. D.; GERARD, P. D.; LATOUR, M. A.; BOYLE, C. R. e SMITH, T. W. Breeder age influences embryogenesis in broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v. 80, p. 272–277, 2001.

PRIETO, M. T e CAMPO, J. L. Effect of heat and several additives related to stress levels on fluctuating asymmetry, heterophil:lymphocyte ratio, and tonic immobility duration in White Leghorn chicks. **Poultry Science**, v. 89, p. 2071-2077, 2010.

REIJRINK, I. A. M.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DER BRAND, A. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. **World's Poultry Science Association**, v 64, p. 581-598, 2008.

ROBERTS, J. R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. **Journal of Poultry Science**, v. 41, p. 161-177, 2004.

RODRIGUEZ-NAVARRO, A.; KALIN, O.; NYS, Y. e GARCIA-RUIZ, J. M. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. **British Poultry Science**, v.43, p.395-403, 2002.

ROQUE, L. e SOARES, M. C. Effects of eggshell quality and broiler breeder age on hatchability. **Poultry Science**, v. 73, p. 1838–1845, 1994.

SABRY, M. I. E.; YALÇIN, S. e TURGAY-IZZETOGLU, G. Interaction between breeder age and hatching time affects intestine development and broiler performance. **Livestock Science**, v. 157 p. 612–617, 2013.

SADLER, W. W. Chronological relationship of the disappearance of the vitelline membrane and the closure of the amnio-chorion in avian embryos and its implications. **Poultry Science**, v. 34, p. 754-760, 1955.

SHAW, A. L.; BLAKE, J. P. e MORAN, E. T. Effects of flesh attachment on bone breaking and of phosphorus concentration on performance of broilers hatched from young and old flocks. **Poultry Science**, v. 89, p. 95-302, 2010.

SILVERSIDES, F. G. e BUDGELL, K. The relationships among measures of egg albumen height, ph, and whipping volume. **Poultry Science**, v. 83, p. 1619-1623, 2004.

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

SILVERSIDES, F. G.; TWIZEYIMANA, F. e VILLENEUVE, P. A study relating to the validity of the haugh unit correction for egg weight in fresh eggs. **Poultry Science**, v. 72, p. 760-764, 1993.

SISKE, V.; ZEMAN, L. e KLECKER, D. The eggshell: a case study in improving quality by altering mineral metabolism – naturally. 2007. Disponível em:

<<http://en.engormix.com/MApoultryindustry/articles/theeggshellcaset398/p0.htm>>.

Acesso em: 07 mai. 2015.

TAZAWA, H. Adverse effect of failure to turn the avian egg on the embryo oxygen exchange. **Respiration Physiology**, v. 41, p. 137-142, 1980.

TAZAWA, H.; ANDREWARTHA, S. J. e BURGGREN, W. Acute regulation of hematocrit and blood acid-base balance during severe hypoxic challenges in late chicken embryos (*Gallus gallus*). **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 184, p. 86-96, 2012.

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

TONA, K.; DECUYPERE, E. e COUCKE, W. Effects of strain, hen age and transferring eggs from turning to stationary trays after 15 to 18 days of incubation. **British Poultry Science**, v. 42, p. 663-667, 2001a.

TONA, K.; ONAGBESAN, O.; BRUGGEMAN, V.; MERTENS, K. e DECUYPERE, E. Effects of turning duration during incubation on embryo growth, utilization of albumen, and stress regulation. **Poultry Science**, v. 84, p. 315-320, 2005.

TONA, K.; ONAGBESAN, O.; DE KETELAERE, B.; DECUYPERE, E. e BRUGGEMAN, V. Effects of age of broiler breeders and egg storage on egg quality,



hatchability, chick quality, chick weight, and post hatch growth to forty-two days.

**Journal Applied Poultry Research**, v. 13, p. 10-18, 2004.

TONA, K.; ONAGBESAN, O.; DE KETELAERE, B.; DECUYPERE, E. e BRUGGEMAN, V. Effects of turning duration during incubation on corticosterone and thyroid hormone levels, gas pressures in air cell, chick quality, and juvenile growth.

**Poultry Science**, v. 82, p. 1974–1979, 2003.

TONG, Q.; ROMANINI, C. E.; EXADAKTYLOS, V.; BAHR, C.; BERCKMANS, D.; BERGOUG, H.; ETERRADOSSI, N.; ROULSTON, N.; VERHELST, R.;

MCGONNELL, I. M. e DEMMERS, T. Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. **Poultry Science**, v. 92, p. 620-628, 2013.

TRALDI, A. B.; MENTEN, J. F. M.; SILVA, C. S.; RIZZO, P. V.; PEREIRA, P. W. Z. e SANTAROSA, J. What determines hatchling weight: breeder age or incubated egg weight? **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.13, n.4, p. 283-285, out/dez. 2011.

TUMOVA, E. e GOUS, R. M. Interaction of hen production type, age, and temperature on laying pattern and egg quality. **Poultry Science**, v. 91, p. 1269–1275, 2012.

TUMOVA, E. e LEDVINKA, Z. The effect of time of oviposition and age on egg weight, egg components weight and eggshell quality. **Archiv Fur Geflugelkunde**, v. 73, supl. 2, p. 110-115, 2009.

TUMOVA, E.; GOUS, R. M. e TYLER, N. Effect of hen age, environmental temperature, and oviposition time on egg shell quality and egg shell and serum mineral contents in laying and broiler breeder hens. **Czech Journal of Animal Science**, v.59, p. 435–443, 2014.

ULMER-FRANCO, A. M.; FASENKO, G. M. e O`DEA, E. E. Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. **Poultry Science**, v. 89, p. 2735-2742, 2010.

VAN DE VEN, L. J. F.; VAN WAGENBERG, A. V.; DECUYPERE, E.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Perinatal broiler physiology between hatching and chick collection in 2 hatching systems. **Poultry Science**, v. 92, p. 1050-1061, 2013.

VIEIRA, S. L. Idade da matriz, tamanho do ovo e desempenho de pintinho. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001.

Campinas, **Anais**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2001, v.2, p.117-123, 2001.

WASHBURN, K. W. e GUILL, R. A. Relationship of embryo weight as a percent of egg weight to efficiency of feed utilization in the hatched chick. **Poultry Science**, v.53, n.6, p.766-769, 1974.

WILLEMSEN, H.; KAMERS, B.; DAHLKE, F.; HAN, H.; SONG, Z.; ANSARI PIRSARAEI, Z. E TONA, K.; DECUYPERE, E. e EVERAERT, N. High and low temperature manipulation during late incubation: effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, v. 89, p. 2678-2690, 2010.

WILSON, H. R. e WILMERING, R. F. Hatchability as affected by egg turning in high density plastic egg flats during the last half of incubation. **Poultry Science**, v.67, p.685-688, 1988.

WOLANSKY, N. J.; RENEMA, R. A.; ROBINSON, F. E.; CARNEY, V. L. e FANCHER, B. I. Relationships among egg characteristics, chick measurements, and early growth traits in ten broiler breeder strains. **Poultry Science**, v. 86, p. 1784-1792, 2007.

YADGARY, L. e UNI, Z. Yolk sac carbohydrate levels and gene expression of key gluconeogenic and glycogenic enzymes during chick embryonic development. **Poultry Science**, v. 91, p. 444-453, 2012.

YADGARY, L.; CAHANER, A.; KEDAR, O. e UNI, Z. Yolk sac nutrient composition and fat uptake in late-term embryos in eggs from young and old broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 89, p. 2441-2452, 2010.

YALÇIN, S.; ÇABUK, M.; BRUGGEMAN, V.; BABACANOGLU, E.; BUYSE, J.; DECUYPERE, E. e SIEGEL, P. B. Acclimation to heat during incubation. 1. Embryonic morphological traits, blood biochemistry, and hatching performance. **Poultry science**, v. 87, p. 1219-1228, 2008.

YLMAZ-DIKMEN, B. e SAHAN, U. The relationship among age, yolk fatty acids content, and incubation results of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 88, p. 185-190, 2009.

ZAKARIA, A. H.; PLUMSTEAD, P. W.; ROMERO-SANCHEZ, H.;

LEKSRISSOMPONG, N.; OSBORNE, J. e BRAKE, J. Oviposition pattern, egg weight,

fertility, and hatchability of young and old broiler breeders. **Poultry Science**, v. 84, p. 1505–1509, 2005.

ZULKIFLI, I. e SIEGEL, P. B. Heterophil to lymphocyte ratios during perinatal and neonatal stages in chickens. **British Poultry Science**, v. 35, p. 309-313, 1994.



