

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

**INFLUÊNCIA DA ALTA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE OS
PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE PINTOS DE
CORTE**

TAYANA NERY FRANCA

**SALVADOR - BA
MARÇO - 2018**



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

**INFLUÊNCIA DA ALTA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE OS
PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE PINTOS DE
CORTE**

TAYANA NERY FRANCA
Zootecnista

**SALVADOR - BA
MARÇO - 2018**

TAYANA NERY FRANCA

**INFLUÊNCIA DA ALTA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO
SOBRE OS PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS E
ZOOTÉCNICOS DE PINTOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Não Ruminantes

Orientadora: Prof^a Dr^a Vanessa Michalsky Barbosa
Co-orientadora: Dr^a Viviane de Souza Morita

**SALVADOR - BA
MARÇO - 2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F814i Franca, Tayana Nery
Influência da alta temperatura de incubação sobre
os parâmetros morfofisiológicos e zootécnicos de pintos
de corte / Tayana Nery Franca. -- Salvador, 2018.
73 f. : il

Orientadora: Vanessa Michalsky Barbosa.
Coorientadora: Viviane de Souza Morita.
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola
de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2018.

1. Frango de corte. 2. Desenvolvimento
embrionário. 3. Eclodibilidade. 4. Metabolismo. 5.
Hemogasometria. I. Barbosa, Vanessa Michalsky. II.
Morita, Viviane de Souza. III. Título.

CDU: 636.5

**INFLUÊNCIA DA ALTA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE OS
PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE PINTOS DE
CORTE**

Tayana Nery Franca

**Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia**

Salvador, 28 de março de 2018

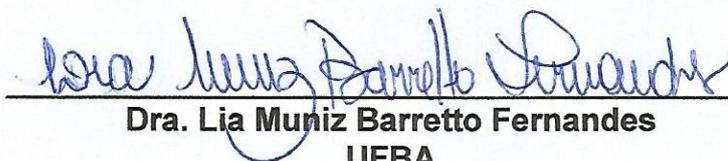
Comissão examinadora:



Dra. Vanessa Michalsky Barbosa
UFBA
Orientadora/Presidente



Dra. Juliana Cantos Faveri
UFBA



Dra. Lia Muniz Barretto Fernandes
UFBA

“Na vida, não vale o que temos
nem tanto importa o que somos. Vale o que realizamos
com aquilo que possuímos e, acima de tudo, importa o que fazemos de nós.”

Chico Xavier

**Dedico este trabalho a minha preciosa mãe Eliete e a minha amada irmã Thais.
Minhas fiéis companheiras nesta jornada terrestre.**

GRATIDÃO!

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido saúde e forças, para a realização deste trabalho.

Ao meu querido pai José Emídio, *in memoriam*, por me mostrar o valor que o conhecimento tem sobre nossas vidas e apesar da distância física que existe entre nós, ninguém separa o que está unido pelo espírito.

A minha preciosa e amada mãe Eliete Nery, pelo seu amor incondicional, pelo seu apoio, dedicação, paciência, alegria, afeto, preocupação, carinho, força, e esperança.

A minha irmãzinha Thais Nery, por sempre estar ao meu lado em qualquer situação, por me escutar e ser paciente comigo, e principalmente pelo seu amor.

As minhas avós Gice Nery e Virginia Xavier, *in memoriam*, pelas suas palavras, conselhos e carinhos sempre tão amáveis.

À minha tia e madrinha Eliete Xavier, por sempre ter me incentivado a estudar e ser uma boa pessoa. A minha prima Camila Franca e às minhas amigas Marildes Oliveira, Mayara Silva e Taís Pinheiro pelos conselhos, momentos de confidências, desabafos e alegrias, o meu imenso carinho e gratidão.

A minha estimada orientadora Prof^ª Dr^a Vanessa Michalsky que está ao meu lado desde a graduação, acompanhando e acreditando no meu desempenho. Muito obrigada pelo auxílio, confiança, ajuda, carinho e por contribuir diretamente na minha evolução profissional e pessoal. Você é uma excelente professora, e é um exemplo de força, coragem, luta e dedicação.

Ao grupo de pesquisa NUPIA, uma conquista do qual faço parte, e que se tornou uma segunda família, uma segunda casa para mim. Agradeço a todos os membros deste grupo, pelo respeito, trabalho em equipe, pela nossa união “um por todos e todos por um”, pelos momentos alegres, de confiança, trabalho árduo e de entrega. Aloísio, Dayana, Izabela, Larissa, Nayana, Najela, Taís, Vanessa e Vitor, meu muito obrigada.

Aos meus amigos, que estarão sempre em meus pensamentos: Camila Katarine, Sara Ribeiro, Carine Lima Isabela Cláudia, Maurício Xavier, Jandrei Santana e Liliana Bury. Meus agradecimentos também à Universidade Federal da Bahia pela oportunidade de fazer o mestrado.

Aos membros da banca examinadora, pela enriquecedora colaboração neste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, o meu sincero agradecimento por serem parte do que sou. Enfim a todos que contribuíram, torceram e vibram comigo esta vitória.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mensuração da temperatura da casca do ovo.....	25
Figura 2.	Peso de pintos recém-eclodidos.....	27
Figura 3.	Comprimento de pintinho.....	28
Figura 4.	Escore de umbigo.....	29
Figura 5.	Aparelho e cartuchos utilizados nas análises dos parâmetros fisiológicos.....	30
Figura 6.	Determinações de glicose, lactato, ácido úrico realizadas em espectrofotômetro.....	31
Figura 7.	Órgãos separados para pesagem individual.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores médios da temperatura na câmara de ar (CA-TR) e na superfície da casca (SC-TR) usando transponder e da temperatura na superfície da casca usando termômetro infravermelho (SC-TI) em ovos embrionados e ovos não embrionados entre o 14,5° e o 18° dia de incubação.....	5
Tabela 2.	Medidas de qualidade de pintinho para ovos incubados a uma temperatura normal (37,8°C) ou alta (38,9°C) de casca de ovo (EST).....	9
Tabela 3.	Efeitos das temperaturas de casca (TC) 36,7°C; 37,8°C ou 38,9°C sobre os níveis de glicose e glicogênio hepático durante a eclosão..	13
Tabela 4.	Parâmetros zootécnicos da incubação de ovos realizada ou não à altas temperaturas.....	34
Tabela 5.	Parâmetros de qualidade de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou em alta temperatura.....	36
Tabela 6.	Peso de órgãos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino (%) de recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação.....	38
Tabela 7.	Parâmetros sanguíneos de pintos recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação.....	40
Tabela 8.	Parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Alta temperatura
ATP	Adenosina trifosfato
EST	Eggshell temperature/Temperatura da casca do ovo
Hb	Hemoglobina
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
Hct	Hematócrito
HT	High temperature/ Alta temperatura
Ica	Cálcio ionizado
K ⁺	Potássio
N ⁺	Sódio
PCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico
pH	Potencial hidrogeniônico
PO ₂	Pressão parcial de oxigênio
SEM	Semanas
SO ₂	Saturação de oxigênio
SV	Saco Vitelino
T°	Temperatura
TCO ₂	Gás carbônico total
YFBM	Yolk free body mass /Peso do corpo sem o saco vitelino residual

SUMÁRIO

INFLUÊNCIA DA ALTA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO SOBRE OS PARÂMETROS MORFOFISIOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE PINTOS DE CORTE.

	Página
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. A importância da temperatura no processo de incubação.....	2
2.1.1. Temperatura de incubação	2
2.1.2. Temperatura da máquina incubadora X temperatura de casca do ovo (EST).....	3
2.1.3. Influência da temperatura sobre o desenvolvimento embrionário e rendimento de incubação	5
2.1.4. Influência da temperatura sobre a qualidade dos pintos recém-eclodidos	7
2.1.5. Influência da temperatura sobre a fisiologia embrionária	9
2.1.5.1. Glicose	10
2.1.5.2. Glicogênio.....	12
2.1.5.3. Lactato	13
2.1.5.4. Ácido úrico	15
2.2. Equilíbrio ácido-básico	16
2.2.1. Parâmetros de Hemogasometria	16
2.2.2. pH	17
2.2.3. pCO ₂	17
2.2.4. pO ₂	17
2.2.5. HCO ₃ ⁻	18
2.2.6. K ⁺ (potássio)	18

2.2.7. Na ⁺ (Sódio)	19
2.2.8. Ica (Cálcio ionizado).....	19
2.2.9. Hct (Hematócrito).....	19
2.2.10. Hb (Hemoglobina).....	20
2.2.11. TCO ₂ (Gás carbônico total)	20
2.2.12. SO ₂ (Saturação de oxigênio)	20
2.2.13. Equilíbrio ácido-básico e processos fisiológicos em embriões de aves	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Local	23
3.2. Ovos	23
3.3. Pré-incubação e incubação dos ovos	24
3.4. Ovos inférteis e embriões com mortalidade inicial observada na ovoscopia	25
3.5. Nascimento dos pintos	25
3.6. Análises de rendimento de incubação.....	25
3.6.1. Perda de peso dos ovos durante o período de incubação.....	26
3.6.2. Mortalidade embrionária e fertilidade (%)	26
3.6.3. Taxa de eclosão total em relação ao número de ovos férteis (%).....	27
3.7. Análises morfofisiológicas	27
3.7.1. Peso dos pintos no momento da eclosão.....	27
3.7.2. Comprimento do pintinho (cm)	28
3.7.3. Escore de umbigo	28
3.7.4. Hemogasometria	29
3.7.5. Glicose, lactato e ácido úrico.....	30
3.7.6. Glicogênio hepático	31
3.7.7. Peso dos órgãos e Peso do pinto sem o saco vitelino	32
3.8. Análise Estatística.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÕES	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

Influência da alta temperatura de incubação sobre os parâmetros morfofisiológicos e zootécnicos de pintos de corte

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estudar a influência da alta temperatura de incubação sobre os parâmetros morfofisiológicos e zootécnicos de pintos de corte em máquinas incubadoras com controle de temperatura da casca. Utilizou-se 720 ovos de matrizes pesadas da linhagem Cobb® com idade de 44 semanas. A incubação ocorreu em quatro máquinas Premium Ecológica® IP200 de estágio único. Os tratamentos foram definidos por duas temperaturas de incubação, sendo 360 ovos identificados como tratamento C (Controle) e 360 ovos identificados como tratamento AT (Alta Temperatura). As máquinas de incubação foram reguladas para manter a temperatura em 37,8°C (100°F) e o teor de UR em 55% durante o período de incubação. Entre o oitavo e 18º dia de incubação, duas máquinas foram reguladas para manter a temperatura em 38,9°C (102°F) (Tratamento AT). Foram aplicados seis sensores na região equatorial do ovo para o controle da temperatura da casca. Após 516 horas de incubação, foi feita a contagem de pintos nascidos e em seguida foram separados ao acaso 40 pintos por tratamento para as análises posteriores. Verificou-se que a alta temperatura de incubação reduziu a eclodibilidade ($p \leq 0,05$) ocasionada pela elevação da mortalidade embrionária. A utilização de 38,9°C (102°F) resultou em maior peso de saco residual de gema, menor YFBM, menor comprimento do pintinho e qualidade inferior de umbigo. Adicionalmente, os pesos de coração, fígado e pulmão foram estatisticamente inferiores ($p \leq 0,05$) e houve redução das reservas de glicogênio hepático neste tratamento. Os valores dos parâmetros hemogasométricos foram semelhantes ($p > 0,05$) entre os dois tratamentos, demonstrando que o mecanismo do equilíbrio ácido-básico de pintinhos foi eficiente em manter a homeostasia diante da exposição à alta temperatura. Conclui-se que a temperatura da casca dos ovos de 38,9°C, entre o oitavo e 18º dia de incubação não é recomendada, por reduzir a eclodibilidade, o desenvolvimento dos órgãos vitais e a qualidade dos pintinhos recém-eclodidos.

Palavras-chave: desenvolvimento embrionário, eclodibilidade, hemogasometria, matrizes pesadas, metabolismo

Influence of high incubation temperature on morphological and zootechnical parameters of broiler chicks

ABSTRACT

The aim of present work was study the influence of high incubation temperature on morphological and zootechnical parameters of broiler chicks in incubator machines with control of shell temperature. 720 eggs of Cobb® broiler breeder at 44 weeks were used. The incubation was took place in four single-stage Premium Ecological® IP200 machines with capacity of 200 eggs. The treatments were defined by two incubation temperatures, being 360 eggs identified as C treatment (Control) and 360 eggs identified as HT treatment (High Temperature). Incubation machines were set to maintain temperature at 37,8°C (100°F) and RH content of 55% during the incubation period. Between day 8 and 18 of incubation, two machines were set to maintain the temperature at 38.9°C (102°F) (HT Treatment). Six sensors were applied in equatorial region of egg, to control the shell temperature. After 516 hours of incubation, the chicks were counted and 40 chicks were randomly separated by treatment for further analysis. It was verified that high incubation temperature reduced hatchability ($p \leq 0.05$) caused by elevation of embryonic mortality. The use of 38.9°C (102°F) resulted in larger residual yolk sac weight, lower YFBM, shorter chick length and lower navel quality. In addition, heart, liver and lung weights were statistically lower ($p \leq 0.05$) and there was a reduction in hepatic glycogen reserves in this treatment. The values of hemogasometric parameters were similar ($p > 0.05$) between treatments, demonstrating that the acid-base balance mechanism of chicks was efficient in maintaining homeostasis before exposure of high temperature. It was concluded that egg shell temperature of 38.9°C, between day 8 and 18 of incubation, is not recommended because it reduces hatchability, development of vital organs and chick quality.

Keywords: broiler breeders, embryonic development, hatchability, hemogasometry, metabolism

1. INTRODUÇÃO

A incubação artificial de ovos quando bem manipulada confere excelente desempenho para indústria avícola e a temperatura de incubação é conhecida como o aspecto mais importante para o sucesso deste processo.

Durante a morfogênese os embriões de galinhas são estritamente dependentes de temperatura. Porém, a temperatura da incubadora não é a mesma do embrião (LOURENS, 2001) sendo recomendado adequar à temperatura da máquina de acordo com a temperatura embrionária. No entanto, aferir a temperatura do embrião torna-se um processo invasivo e diversos estudos constataram que a temperatura da casca do ovo (EST) é a que mais se aproxima da temperatura do embrião. Uma faixa de temperatura constante de casca do ovo de 37,5°C a 38°C possibilita melhor eclodibilidade e qualidade dos pintos (LOURENS et al., 2005; JOSEPH et al., 2006; LEKSRIOMPONG et al., 2007), além de crescimento satisfatório dos órgãos e estruturas corporais (MEIJERHOF, 1999; OZAYDIN e CELIK, 2014).

A maioria dos incubatórios brasileiros trabalha com máquinas de estágio múltiplo, e quando utiliza as de estágio único não controlam a temperatura da casca. Este fato permite maiores variações na temperatura da máquina, e conseqüentemente geram maior produção de calor e superaquecimento dos embriões.

Altas temperaturas de incubação além de influenciar na embriogênese, também afetam os níveis bioquímicos sanguíneos, a qualidade dos pintos e conseqüentemente, o desempenho zootécnico durante a criação. Embriões submetidos a temperaturas superiores às recomendadas também podem comprometer o equilíbrio ácido-base, pois durante as fases críticas de desenvolvimento embrionário, ocorrem mudanças nas pressões parciais dos principais gases sanguíneos, pH, íons de bicarbonato, níveis de eletrólitos, hemoglobina e hematócrito; entretanto, poucas pesquisas têm dado ênfase ao estudo dos parâmetros hemogasométricos.

Diante dos fatores relatados, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência que a alta temperatura de incubação pode exercer sobre os parâmetros morfofisiológicos e zootécnicos dos pintos recém-eclodidos, com o intuito de contribuir com a adoção e o aperfeiçoamento da técnica de controle da casca no mercado brasileiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A importância da temperatura no processo de incubação

2.1.1. Temperatura de incubação

Após a oviposição o desenvolvimento embrionário das aves é diretamente influenciado pela temperatura do ambiente (FASENKO et al., 1999). Esta associação dá-se, uma vez que embriões de galinhas são poiquilotérmicos e desta forma, precisam receber calor de origem externa, provinda da ave ou da incubadora, para prosseguir o desenvolvimento e manter suas funções metabólicas normais (ROMIJN e LOKHORST, 1955; WILSON, 1991).

Para o sucesso da incubação, desde o momento da postura dos ovos incubáveis as condições do ambiente ao redor dos mesmos necessitam ser estritamente controladas, pois a ambiência exerce ativa interferência sobre as variáveis de rendimento (ONAGBESAN et al., 2007). A temperatura é o mais significativo e crítico aspecto físico da incubação de ovos de galinhas (ROMANOFF, 1960; DEEMING e FERGUSON, 1991; DECUYPERE e MICHELS, 1992) impactando profundamente no estímulo do desenvolvimento embrionário, nascimento, qualidade do pintinho de um dia e desempenho pós-eclosão (CHRISTENSEN et al., 1999; LOURENS et al., 2005; MEIJERHOF, 2009).

Durante o período anterior à incubação, existe um limiar de temperatura definido como “ponto zero fisiológico” que interfere na embriogênese. Acima do limiar, há avanço no crescimento embrionário e abaixo desta faixa fisiológica, o desenvolvimento é parcialmente paralisado (FIUZA et al., 2006). O limiar de temperatura é bastante discutido entre os pesquisadores, sendo reportadas temperaturas entre 20 e 21°C (EDWARDS, 1902); 20 e 23°C (ROMIJN e LOKHORST, 1955) e 14°C (FASENKO et al., 1992). Entretanto, trabalhos recentes como os de EI-SAGHEER (2012) e FURLAN (2013) demonstraram que a evolução embriogênica foi minimizada quando os ovos foram submetidos à temperatura inferior a 21°C. Embora a dormência do embrião seja mantida abaixo do ponto zero fisiológico, a morfologia deste não é estática, podendo ocorrer progresso celular, porém de forma bastante lenta ou quase nula. Manter os ovos

abaixo do ponto zero fisiológico até o início da incubação possibilita que os embriões iniciem o processo em estágios de desenvolvimento similares (MEIJERHOF, 1992).

A definição de temperatura ótima para a incubação é aquela que favorece índices máximos de rendimento, especialmente nos parâmetros relacionados à eclodibilidade (WILSON, 1991; HULET et al., 2007; SHIM e PESTI et al., 2011; IPEK et al., 2014). De acordo com os autores citados, é aplicada na maioria dos incubatórios industriais uma faixa de temperatura considerada ideal, em torno de 37,5°C a 37,8°C. Barott, um dos pioneiros nesta linha de pesquisa, já relatava em 1937 que a temperatura controlada em 37,8°C possibilitaria obter desenvolvimento adequado do embrião, melhores índices de eclodibilidade e desempenho final de produção. Wilson (1991) complementou que pequenas variações na temperatura ideal de incubação poderiam provocar efeitos imediatos no processo. Apesar de Decuypere e Bruggman (2007) indicarem maior amplitude da faixa de temperatura recomendável para incubar ovos de galinha (37 a 38°C), os pesquisadores também alertaram que não é recomendável uma variação maior que 0,3°C, estabelecendo assim um limite inferior e superior que não interferem negativamente na incubação.

Estudos de desempenho durante a criação comprovaram que o uso de temperatura de incubação inadequada também provoca efeitos negativos sobre o desenvolvimento ósseo (OVIEDO-RONDÓN et al., 2009), pode favorecer distúrbios metabólicos, ao exemplo da ascite (MOLENAAR et al., 2011b) e interferir no sistema imune (DURANT et al., 2012; WALSTRA et al., 2012).

2.1.2. Temperatura da máquina incubadora X temperatura de casca do ovo (EST)

No decorrer do século XX, evidenciaram-se diversas mudanças na avicultura industrial, incluindo o setor da incubação. Devido à intensificação na produção de frangos em escala comercial, os incubatórios passaram a utilizar máquinas incubadoras com ar forçado e com alta capacidade (média de 20 mil ovos por máquina). Este sistema faz uso de incubadoras de estágio múltiplo, ou seja, existem ovos com diferentes idades embrionárias na mesma máquina (MOLENAAR et al., 2010). Todavia, Hill (2000) informou que as incubadoras de múltiplos estágios não atendem por completo os

requisitos do embrião, além de não otimizar a eclosão em termos de percentual de nascimento e qualidade dos pintos. Na década de 90, a adoção de máquinas incubadoras de estágio único (ovos com mesma idade embrionária) foram mais investigadas, e desde então, são indicadas por apresentarem melhores controles das condições físicas ambientais para o processo de incubação (MEIJERHOF, 2013).

Durante o início da incubação, a temperatura do embrião é ligeiramente inferior à temperatura da incubadora. Entretanto, na metade do processo ocorre aumento na produção de calor metabólico e a temperatura embrionária passa a ficar acima da temperatura da máquina. Por causa das diferenças na condutividade térmica entre os distintos sistemas de incubação e dissemelhança entre as máquinas na sua capacidade de tornar a temperatura uniforme, a temperatura do embrião pode diferir da temperatura da incubadora (FRENCH, 1997). Mauldin e Buhr (1995) informaram temperaturas médias do ovo 1,0°C mais alta do que a temperatura da incubadora, durante a incubação.

Aferir a temperatura do embrião é de difícil manipulação, podendo até causar a morte dos mesmos, pois é um método invasivo. Logo, por razões práticas, a temperatura da casca do ovo (EST), tem sido usada como indicador da temperatura embrionária. De acordo com Meijerhof e Van Beek (1993) e French (1997), a EST desvia em torno de 0,1 à 0,2°C em relação a temperatura do embrião.

Analisando a relação entre temperatura de casca do ovo e temperatura embrionária, Meijerhof (2013), observou que a partir da 2ª semana de incubação, aumenta-se a produção de calor embrionário, elevando o gradiente de temperatura entre o embrião e a casca do ovo. Entretanto, o embrião também está crescendo e desenvolvendo significativamente os vasos sanguíneos aderidos a casca. Então, há elevação na transferência de calor do embrião para a casca, limitando o gradiente de temperatura entre o embrião e a casca do ovo. O pesquisador afirmou que apesar da diferença entre EST e temperatura do embrião, a temperatura da casca do ovo pode ser usada como referência da temperatura embrionária.

Lourens (2001), mensurando a temperatura da casca dos ovos em uma incubadora de estágio único totalmente carregada, usou sondas de temperatura, anexadas às cascas, utilizando fita adesiva condutora de calor. Foi detectada variação

média na EST de 0,3°C acima da temperatura da máquina incubadora. Um trabalho realizado por Peebles et al. (2012), comparou o uso de dois dispositivos (transponder ou termômetro infravermelho) e suas localizações (câmara de ar ou superfície exterior da casca do ovo). As leituras da temperatura foram registradas a cada 12h entre 14,5 e 18 dias de incubação em ovos embrionados e não embrionados (tabela 1). Em ovos embrionados, a temperatura média da câmara de ar usando transponders foi superior ao da casca do ovo quando mensurada com transponders ou termômetro infravermelho. Essas leituras confirmaram o aumento da produção de calor embrionário durante o período experimental. Os autores sugeriram o uso de transponders na câmara de ar para a detecção de temperaturas mais próximas a do embrião, porém, nesta região ocorre uma intensificação das trocas gasosas devido ao maior número de poros e os transponders poderiam influenciar na formação da câmara de ar.

Tabela 1 - Valores médios da temperatura na câmara de ar (CA-TR) e na superfície da casca (SC-TR) usando transponder e da temperatura na superfície da casca usando termômetro infravermelho (SC-TI) em ovos embrionados e ovos não embrionados entre o 14,5° e o 18° dia de incubação.

Variáveis analisadas	Ovos embrionados ¹ (°C)	Ovos não embrionados ² (°C)
CA-TR	38,50 ^a	37,60 ^c
SC-TR	38,09 ^b	37,57 ^c
SC-TI	38,06 ^b	37,43 ^d

^{a-d}Médias seguidas de letras distintas dentro das colunas são significativamente diferentes (P<0,05)

¹Média de 104 leituras

²Média de 72 leituras

Fonte: Adaptado de Peebles et al. (2012)

2.1.3. Influência da temperatura sobre o desenvolvimento embrionário e rendimento de incubação

A temperatura de incubação adequada favorece o crescimento satisfatório dos órgãos e estruturas corporais, aumenta a taxa de eclosão e conseqüentemente confere qualidade ao produto final, potencializando o seguimento da produção avícola (MEIJERHOF, 1999; OZAYDIN e CELIK, 2014).

Conforme Romanoff (1960), o período necessário para o desenvolvimento embrionário e a eclodibilidade dependem diretamente da temperatura. Elevar a temperatura padrão de incubação propicia o avanço embrionário, podendo diminuir o

tempo do processo. Por outro lado, Black e Burggren (2004) indicaram que, a redução da temperatura promoverá um efeito contrário, atrasando a embriogênese e estendendo o período de incubação. Flutuações muito bruscas na temperatura ideal podem prejudicar a taxa de sobrevivência embrionária, elevando a mortalidade dos embriões e reduzindo a eclodibilidade de pintos vendáveis (DECUYPERE et al., 1979; SUAREZ et al., 1996). Santana et al. (2014), esclareceram que a resposta dos embriões a oscilações de temperatura dependerá do tempo de exposição dos ovos submetidos tanto ao estresse por frio como por calor.

Temperaturas de casca de ovos de 37,8°C ou 38,9°C, foram comparadas por Lourens et al. (2005), no qual embriões expostos à temperatura de 37,8°C durante toda a incubação, apresentaram melhores índices de eclodibilidades (88,1%) e desenvolvimento embrionário quando comparados com embriões submetidos à temperatura elevada (38,9°C) que obtiveram 86,2% de eclodibilidade, sendo os resultados estatisticamente diferentes.

Willemsen et al. (2010) encontraram eclodibilidade significativamente reduzida (74,2%) em tratamento com uso de alta temperatura de casca (40,6°C) quando comparado a temperatura de 37,8°C (93,1%), ocasionada possivelmente pela elevação da mortalidade embrionária final (13,8% vs. 2,5% para o tratamento controle). Van der Pol et al. (2014) também constataram menores valores de eclosão (78,4%) e desenvolvimento dos órgãos em embriões expostos a altas temperaturas (38,6°C) quando comparada ao grupo controle (95%).

Molenaar et al. (2011), investigando os efeitos da alta temperatura da casca do ovo (38,9°C) durante a incubação em relação a temperatura normal (37,8°C), entre o dia 7 e o dia 19 de incubação observaram que, a porcentagem de peso do coração dos pintos recém-eclodidos foi 26% mais baixa nos embriões expostos ao tratamento com altas temperaturas. Estes pesquisadores, juntamente com Leksrisonpong et al. (2007), observaram que a redução no peso do coração causado por altas temperaturas, compromete o desenvolvimento cardiovascular, podendo ocasionar problemas para a progênie, como a ascite.

Ao avaliar os efeitos de diferentes temperaturas da casca do ovo durante os dias 10 a 18 de incubação sobre o desenvolvimento embrionário e eclodibilidade, Ipek et al. (2014), verificaram maior eclodibilidade, maior peso do pinto sem o saco vitelino (YFBM) e menor mortalidade embrionária para o grupo controle (37,8°C). Maior peso do saco vitelino foi observado para grupo com altas temperaturas (38,9 a 40,0°C). Desta forma os autores concluíram que o desenvolvimento embrionário e o rendimento de incubação, são afetados por variações na EST.

Em outra pesquisa Maatjens et al. (2016), analisaram distintas temperaturas de casca (35,6°C; 36,7°C; 37,8°C e 38,9°C) entre os dias 15 e 19 de incubação, sobre a taxa de eclosão e a embriogênese em pintinhos recém-eclodidos de frango de corte. Foi observado elevado peso do saco vitelino (6,94g) e reduzido peso do intestino (3,35%) na incubação de ovos aquecidos a temperatura alta (38,9°C), enquanto que o tratamento controle apresentou peso de saco vitelino de 5,79g e porcentagem de peso de intestino de 3,71 %.

2.1.4. Influência da temperatura sobre a qualidade dos pintos recém-eclodidos

Os pintinhos de um dia têm papel fundamental na cadeia avícola, pois representam o produto final da incubação de ovos e material inicial para os criadores de frango de corte. Para atingir o sucesso da incubação, geralmente a porcentagem de pintos vendáveis é considerada fator chave, pois os produtores e grandes empresas são pagos com base na venda dos pintinhos (SOZCU e IPEK, 2013). Meijerhof (2009) elucidou a importância no ajuste das condições de incubação para atender os requisitos embrionários e propiciar pintinhos de boa qualidade. Pesquisadores afirmaram o fator físico temperatura, como o mais relevante e atuante no crescimento embrionário (RICKLEFS, 1987; CHRISTENSEN et al., 1999) pois favorece a produção de pintinhos robustos e de excelente desempenho subsequente (LOURENS et al., 2005).

Decuyper e Bruggeman (2007), explicando a relação entre a eclodibilidade e porcentagem de pintinhos de boa qualidade, informaram que nem sempre esta associação é positiva, e que quando a eclodibilidade atinge valores máximos, há possibilidades deste fator não está ligado à maior viabilidade e crescimento das aves. Os

autores relataram que nos incubatórios industriais os parâmetros utilizados para a seleção de pintinhos vendáveis, muitas vezes não são bem definidos, sequer padronizados e efetuados pelo julgamento de pessoas aleatoriamente. Geralmente os funcionários avaliam a aparência geral do pintinho, o umbigo e o vigor. Ainda em conformidade com os pesquisadores supracitados, é de acordo comum que um pintinho provido de qualidade ideal deve apresentar as seguintes características: olhos claros e brilhantes; livres de deformidades; devem estar limpos, secos e livres de sujeira e/ou contaminação; com umbigo completamente fechado e limpo, além da ausência do saco vitelino ou de membranas secas que sobressaem da área do umbigo; precisam ter peso e comprimento adequado assim como uma conformação estrutural normal de pernas, sem inchaço ou lesões cutâneas.

O YFBM (yolk free body mass) é um parâmetro de qualidade que representa o peso corporal do pintinho sem o peso do saco residual de gema. Menor peso do saco vitelino e maior YFBM são desejáveis, pois indica condições ambientais ideais nas incubadoras e nos nascedouros, além da capacidade do embrião em utilizar os componentes da gema para formação estrutural (MOLENNAR et al., 2011). Joseph et al. (2006), trabalhando com o efeito de altas temperaturas de incubação (39,5°C) sobre o peso do pintinho, observaram uma redução no peso corporal (39g) e menor YFBM (34,7g) em comparação com temperatura controle (37,8°C), cujo os resultados foram 40g de peso corporal e 35,9g de YFBM.

Uma pesquisa feita por Molenaar et al. (2011), avaliou a influência que elevadas temperaturas exercem sobre os parâmetros de qualidade dos pintos de um dia. Os autores compararam alta EST (38,9°C) ou EST normal (37,8°C) do dia 7 até o dia 19 de incubação e constataram os seguintes resultados significativos para o tratamento de alta EST (38,9°C): maior porcentagem de pintinhos de segundo grau (0,7%); menor peso corporal à eclosão (3,4g); menor massa corporal livre de gema (3,0g) e peso de gema residual 0,5g menor. Para a variável comprimento não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Os resultados deste estudo possibilitaram os autores afirmar que, a exposição de ovos à alta EST pode reduzir o número de pintinhos comercializáveis.

Tabela 2 - Medidas de qualidade de pintinho para ovos incubados a uma temperatura normal (37,8°C) ou alta (38,9°C) de casca de ovo (EST).

Variáveis analisadas	N	EST Normal	EST Alta	P-valor
Pintos de 2º grau (%)	20	0.2 ± 0.11 ^b	0.9 ± 0.30 ^a	0.02
Peso corporal (g)	100	40.6 ± 0.39 ^a	37.2 ± 0.41 ^b	<0.001
YFBM (g)	100	36.9 ± 0.33 ^a	33.9 ± 0.33 ^b	<0.001
Comprimento de pinto (cm)	100	19.5 ± 0.07	19.7 ± 0.07	0.14
Gema residual (g)	100	3.7 ± 0.15 ^a	3.2 ± 0.18 ^b	0.05

^{a, b} médias seguidas por letras distintas dentro das linhas são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).
Fonte: Adaptado de Molenaar et al. (2011).

2.1.5. Influência da temperatura sobre a fisiologia embrionária

No início da incubação, o suporte de oxigênio do embrião é extremamente limitado, devido ao estado imaturo do sistema vascular. A glicólise anaeróbica se torna ativa, mas de forma restrita, pois os níveis de glicose são mínimos nesta fase (MORAN JR, 2007). Kucera et al. (1994) relataram aumento das concentrações de ácido láctico até que a membrana corioalantoide (MCA) se torne ativa. Quando a MCA está funcional, os poros da casca do ovo permitem o acesso ao oxigênio circulante, e este assegura a b-oxidação de ácidos graxos da gema, que constituem a fonte primária de combustível embrionário. Essa é uma forma que o organismo encontra para conservar carboidratos (SATO et al., 2006; MORAN JR, 2007). No terço final da incubação, o embrião também se utiliza de rotas alternativas, como a gliconeogênese para produção de glicose, que será estocada como glicogênio hepático e muscular para utilização nos momentos finais da incubação (EVERAERT e DECUYPERE, 2013).

O processo de eclosão requer alta demanda energética e os ácidos graxos não conseguem mais suprir de forma eficiente todo o combustível preciso. Há liberação de glicose a partir de glicogênio e o embrião realiza glicólise anaeróbica, até a bicagem externa, aumentando o lactato circulante (MORAN JR, 2007; BARBOSA, 2011). Hoiby et al. (1987) afirmaram que após a bicagem interna o embrião entra em contato com a

câmara de ar, e o fornecimento de oxigênio para o metabolismo é retomado. As quantidades de lactato reduzem e o catabolismo de ácidos graxos inicia novamente o fornecimento de energia. No período logo após a eclosão dos pintinhos, a síntese de glicose realizada a partir da oxidação dos ácidos graxos é intensificada (OHTSU et al., 2003).

No final da incubação, por meio dos níveis de metabólitos plasmáticos, é possível verificar quais nutrientes exigidos para produção de energia foram requeridos durante o processo (MOLENAAR et al., 2011). Conforme De Oliveira et al. (2008), as condições de incubação podem interferir na disponibilidade da utilização dos nutrientes, ao exemplo da glicose e, assim alterar a fisiologia embrionária.

Segundo Artacho et al. (2007), o estado fisiológico pode ser refletido de acordo com os metabólitos do plasma, que são produtos intermediários do metabolismo. Todos esses mecanismos fisiológicos e metabólicos realizados durante a embriogênese, eclosão e pós-eclosão supracitados, podem ser afetados de forma direta pela temperatura na incubação. Pesquisas demonstram que, situações de elevadas temperaturas e/ou baixa disponibilidade de oxigênio, podem interferir na fisiologia e no metabolismo do embrião de galinha e, conseqüentemente promover efeitos prejudiciais sobre o desenvolvimento e sobrevivência embrionária (LOURENS et al., 2005, 2007; LEKSRISSOMPONG et al., 2007).

A transformação do conteúdo do ovo em pinto é um processo bastante complexo em termos biológicos e de pouco conhecimento. Por isso, é necessário maior aprofundamento no estudo de parâmetros bioquímicos do sangue e sua associação com a embriogênese, para o alcance satisfatório do desempenho zootécnico da incubação. Comumente, os níveis de glicose, glicogênio, lactato e ácido úrico são os parâmetros mais utilizados (MEIJERHOF, 2013).

2.1.5.1. Glicose

A glicose é considerada um açúcar simples e fonte preferencial de energia para os seres vivos. É essencial para o músculo em exercício, onde é substrato para glicólise anaeróbica. Sua degradação para produção energética ocorre a partir via da glicolítica

(HARVEY e FERRIER, 2012). Assim como nos mamíferos, este metabolismo glicolítico nas aves é regulado pelos hormônios insulina e glucagon produzidos no pâncreas (LUMEIJ, 1997; KANEKO et al., 1997). Segundo Lu et al. (2007), a insulina contribui para o crescimento do pintinho por impulsos anabólicos promovendo a deposição de gorduras e proteínas. O glucagon atua nos mecanismos de fornecimento de glicose de acordo com as exigências dos embriões durante a embriogênese. Em relação ao armazenamento de glicose no organismo animal, este se dá por meio da rota glicogênica com a formação do glicogênio, que é estocado primariamente no fígado, além da membrana do saco vitelínico, músculo do peito e intestinos (GARCIA et al., 1986; CHRISTENSEN et al., 2001).

De acordo com Moran Jr (2007), nos dias iniciais de incubação, os vasos sanguíneos apresentam-se imaturos, impactando no suprimento limitado de oxigênio, e diante disto, a glicose constitui um nutriente importante para o metabolismo embrionário. Pesquisadores relataram que no momento da oviposição, o ovo apresenta um aporte extremamente baixo de carboidratos (menos de 1% do total e dentro deste, a glicose livre apresenta apenas 0,3%). Ademais esta quantidade tende a diminuir no decorrer da incubação, por isso os pintinhos apresentam baixos níveis de glicose plasmática pós-eclosão (MORAN JR, 2007; CAMPOS et al., 2011).

Um estudo foi realizado por Maatjens et al. (2014), com o objetivo de avaliar o efeito de três temperaturas da casca do ovo (36,7°C; 37,8°C; 38,9°C) e duas concentrações de dióxido de carbono (0,2 ou 1,0%) a partir do décimo nono dia de incubação, sobre a fisiologia de embriões oriundos de matriz pesada. Os autores encontraram valores médios de glicose em pintos de um dia de 172,4 mg/dL para a alta temperatura e 169,3 mg/dL para a menor temperatura.

Em pesquisa feita por Nangsuay et al. (2015), investigaram-se diferenças na disponibilidade de nutrientes do ovo, desenvolvimento e metabolismo de embriões de frangos de corte e poedeiras com 41 ou 42 semanas de idade. Foi observado que após 6 horas de nascimento, os valores médios de glicose para os embriões de frangos de corte foram de 10,94 mmol/L em comparação com as poedeiras (11,25 mmol/L), sendo que os autores não observaram diferença estatística neste parâmetro avaliado.

2.1.5.2. Glicogênio

O glicogênio é o polissacarídeo de reserva energética dos organismos animais, estocando glicose de forma prontamente mobilizável. Portanto, na ausência de glicose plasmática, o glicogênio hepático e renal é mobilizado para liberação de glicose pela glicogenólise. No caso do glicogênio muscular, a degradação ocorre em resposta ao exercício muscular. Quando há níveis limitantes de glicogênio, alguns tecidos produzem glicose a partir de aminoácidos das proteínas residuais. Os principais estoques deste composto encontram-se no fígado e no músculo esquelético. No fígado, o glicogênio desempenha função de manter a concentração de glicose no sangue, especialmente em momentos iniciais de jejum. Enquanto o glicogênio muscular atua como reserva de combustível para sintetizar moléculas de ATP (HARVEY e FERRIER, 2012).

Nos embriões das aves, o glicogênio sintetizado na via da glicogênese, é estocado primariamente no fígado, além do coração, intestinos, músculo peitoral, membrana do saco vitelino e intestinos (GARCIA et al., 1986; CHRISTENSEN et al., 2001). As reservas de glicogênio no período final da incubação são abundantemente mobilizadas, indicando a essencialidade da glicose na incubação artificial de ovos de galinha (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949). Segundo Moran Jr (2007), o armazenamento das reservas de glicogênio hepático é de suma importância, pois é um preparo para o processo de eclosão. Um mecanismo para conservar o glicogênio, é realizar gliconeogênese pelo fígado, a partir de compostos não glicídicos como glicerol e aminoácidos (DE OLIVEIRA et al., 2008; SUNNY e BEQUETTE, 2010).

O'Dea et al. (2004), investigando o metabolismo embrionário de linhagens de frango de corte com diferentes idades e, com o uso de temperatura constante de incubação em 37,5°C, encontraram altos níveis de glicogênio hepático em linhagens mais jovens (33 semanas) e baixos níveis em linhagens mais velhas (38 semanas) indicando que pintinhos oriundos de matrizes mais velhas requerem maior aporte de oxigênio.

Molenaar et al. (2011), estudaram a influência de duas temperaturas de casca do ovo (37,8°C ou 38,8°C) de matrizes pesadas com 45 a 51 semanas de idade, sobre o desenvolvimento e status fisiológicos das aves no período perinatal (que abrange o fim

da incubação até o período pós-eclosão), e verificaram que as concentrações de glicogênio hepático foram cerca de 30% menor para alta EST em relação a temperatura normal de 37,8°C. Os autores concluíram que na incubação em alta EST intensifica-se a mobilização das reservas de glicogênio.

Analisando os efeitos de três diferentes temperaturas (36,7°C; 37,8°C e 38,9°C) durante a fase de eclosão sobre as características fisiológicas de embriões e pintinhos de frango de corte, Maatjens et al. (2014), encontraram valores inferiores para glicogênio hepático em pintinhos que foram submetidos a alta temperatura de incubação (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeitos das temperaturas de casca (TC) 36,7°C; 37,8°C ou 38,9°C sobre os níveis de glicose e glicogênio hepático durante a eclosão.

Variáveis analisadas	Glicose (mg/dL)	Glicogênio hepático (mg/mL)
TC (°C)		
36,7	160,4	17,93 ^a
37,8	156,3	12,82 ^{ab}
38,9	159,9	11,69 ^b
P-valor		
TC	0,56	<0,001

^{a, b, c} Médias seguidas de letras distintas dentro da mesma coluna, são significativamente diferentes ($P \geq 0,5$).

Fonte: adaptado de Maatjens et al. (2014).

2.1.5.3. Lactato

O lactato é um composto orgânico com produção muscular durante o metabolismo anaeróbico. Posteriormente é metabolizado nos hepatócitos (VILA, 2013). Em situações onde o aporte de oxigênio é limitado, ocorre elevação dos níveis de lactato, devido ao acúmulo de piruvato citoplasmático que supera a funcionalidade pela mitocôndria. Portanto, as altas concentrações de piruvato no citoplasma das células, irão favorecer a sua oxidação por via da glicólise anaeróbica, tendo o lactato como produto final. Com isso, é possível constatar que, o lactato é uma substância indicativa de hipóxia celular (BURGDORF-MOISUK et al., 2012). De acordo com estes pesquisadores, o aumento nos níveis plasmáticos de lactato pode ser ocasionado pela

intensificação na sua produção, redução do metabolismo pelo fígado, rins e coração, alta taxa glicolítica ou distúrbios mitocondriais.

Durante os primeiros dias de incubação, o embrião apresenta baixo suprimento de O₂, devido à imaturidade das células sanguíneas e do sistema coriônico vascular (ROCHA e MAIORKA, 2013). De acordo com Moran Jr (2007), o mecanismo compensatório embrionário diante destas situações é realizar glicólise anaeróbica, e por isso nestas fases o aumento de lactato é pronunciado e considerado normal. Além disto, há degradação de glicogênio para liberação de moléculas de glicose que serão oxidadas até piruvato. O piruvato em anaerobiose é transformado em lactato (WILLEMSSEN et al., 2010; MAATJENS et al., 2014).

Harms e Harms (2012) relacionaram altas concentrações plasmáticas de lactato em resposta aos estímulos estressores. Referindo-se ao processo de eclosão, grande quantidade de energia é necessária para os movimentos rotacionais do corpo e quebra da casca. Reservas glicogênicas são deprimidas e baixa concentração de glicose força o embrião a mobilizar proteína corporal (MORAN JR., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2008).

Christensen et al. (2001), evidenciaram a relevância do lactato como composto fundamental na liberação de energia prontamente disponível, sendo de fácil transporte dentro das membranas, não requerendo transportadores como a insulina. Os autores também informaram que o lactato é utilizado nas pesquisas como indicador de esforço físico, principalmente em situações em que o embrião demanda altas quantidades energéticas, ao exemplo do processo de eclosão.

Ao pesquisar o efeito de diferentes temperaturas (36,7°C; 37,8°C; 38,9°C) a partir do 19º dia de incubação sobre a fisiologia embrionária em frangos de corte Maatjens et al. (2014b), encontraram diferenças estatísticas para valores de lactato de 3,02 mmol/dL, 2,37 mmol/dl e 2,25 mmol/dL, respectivamente. Nesta situação, a concentração de lactato no sangue aumenta porque a glicose nos músculos é utilizada para glicólise anaeróbia (FREEMAN, 1965; MORAN JR, 2007; DE OLIVEIRA et al., 2008).

2.1.5.4. Ácido úrico

As aves são animais uricotélicos, desta forma o ácido úrico é a principal fonte de excreção nitrogenada (60 a 80% do total), representando o produto final do metabolismo do nitrogênio (GONZÁLEZ e SILVA, 2006; BERTECHINI, 2013). Sua síntese ocorre predominantemente no fígado e há pequena produção nos rins. Independente da reabsorção de água que ocorre nos túbulos renais, cerca de 80 a 90% de ácido úrico é excretado via secreção tubular (CAPITELLI e CROSTA, 2013; VILA, 2013).

O ácido úrico tem sido o parâmetro mais confiável e utilizado para avaliação da função renal. O aumento na concentração sérica de ácido úrico se dá quando o rim apresenta menos de 30% de sua funcionalidade, indicando alterações renais de origem distinta em aves (CAMPBELL, 2007).

Além das informações supracitadas, o ácido úrico é um elemento atóxico quando comparado com a amônia ou ureia (VILA, 2013). Sakomura et al. (2014) relataram que, a liberação de ácidos nucleicos devido a danos nos tecidos ou mobilização proteica em casos de alta demanda energética, podem elevar os níveis de ácido úrico. Quando o organismo necessita realizar degradação das proteínas para produção energética, os níveis de ácido plasmáticos irão crescer. As concentrações consideradas normais de ácido úrico sanguíneo em aves jovens encontram-se na faixa de 1 à 2mg/dL. Para aves adultas os valores são entre 2 a 15 mg/dL. Fatores como a dieta (níveis proteicos, especialmente), a idade e a espécie animal, podem provocar modificação nestes valores (BARBOSA et al., 2011; BERTECHINI, 2013).

Willemsen et al. (2010) trabalharam com três temperaturas de casca de ovos de matrizes Cobb-500® com 38 semanas: 34,6°C (baixo), 37,6°C (controle) ou 40,6°C (alto) durante os primeiros 18,5 dias de incubação. Os autores relataram que o nível de ácido úrico plasmático na eclosão não foi significativamente afetado, sugerindo nenhum efeito sobre o tratamento de alta temperatura sobre o metabolismo dos aminoácidos.

2.2. Equilíbrio ácido-básico

O equilíbrio ácido-básico baseia-se em manter as concentrações dos íons de hidrogênio (H^+) intra e extracelular constantes, evitando variações bruscas que comprometam o funcionamento do organismo animal. As frações de íons H^+ nos líquidos corporais são mensuradas pelo valor de pH sanguíneo (PATIENCE, 1990).

Atividades enzimáticas celulares, manutenção da estrutura das proteínas e trocas de eletrólitos sofrem influência direta dos níveis sanguíneos de íons H^+ (FURLAN et al.; MACARI et al., 2002). Por conseguinte, a regulação na proporção do íon H^+ , exerce papel fundamental no processo de homeostasia. O equilíbrio ácido-básico também envolve a pressão parcial de gás carbônico (pCO_2) e bicarbonato (HCO_3^-) (VIEITES et al., 2011).

A manutenção deste mecanismo fisiológico é mantida por processos que envolvem sistemas tampões, juntamente com o controle dos sistemas renal e respiratório. Estes sistemas objetivam compensar as variações no potencial hidrogeniônico (pH) sanguíneo. Os tampões do sangue essenciais para manutenção vital são o bicarbonato/dióxido de carbono (75% da capacidade tamponante do plasma sanguíneo), hemoglobina, proteínas plasmáticas e os fosfatos (MACARI et al., 2002).

A avaliação do equilíbrio do organismo animal é essencial para compreensão dos processos metabólicos e fisiológicos realizados pelo embrião durante o desenvolvimento e o processo de eclosão. Por isso a importância desta análise em pintinhos de 1 dia (FURLAN et al., 2002).

2.2.1. Parâmetros de Hemogasometria

A análise de hemogasometria é um procedimento mais apropriado, eficaz e de grande auxílio na avaliação do balanço ácido-básico dos fluidos orgânicos e suas possíveis alterações (DAY, 2002; SILVERMAN e BIRKS, 2002; GOKCE et al., 2004). A hemogasometria consiste em realizar leituras de parâmetros como: o pH, pCO_2 , HCO_3^- , pO_2 , K, Na^+ , Ica, Hct, TCO_2 , Hb, SO_2 por meio de um analisador de gás sanguíneo (CASTRO, 2013).

2.2.2. pH

O pH mede os níveis de íons de hidrogênio no organismo e é expresso por uma solução igual ao logaritmo negativo da concentração de íons H^+ ($pH = -\log [H^+]$). Quando aumenta-se os íons H^+ , o valor de pH reduz e o animal fica propício a desenvolver acidose. Caso a quantidade de H^+ seja inferior, o pH aumenta podendo provocar alcalose (GOMES, 1997). Segundo Carlson e Bruss (2008), valores de pH situados na faixa de normalidade, não implicam em afirmar ausência de modificações no equilíbrio ácido-base. O intervalo de normalidade de pH sanguíneo das aves situa-se entre 7,20 e 7,36 (TEETER et al., 1985; BORGES, 2001).

2.2.3. pCO_2

A pressão parcial de gás carbônico é uma medida da função de ventilação pulmonar (DIBARTOLA, 2007) e é representada pela pressão de CO_2 dissolvido no sangue (BARBOSA, 2011). Esta medida fornece informações referentes ao equilíbrio entre a produção de O_2 pelas células e a eliminação de CO_2 por mecanismos do sistema respiratório (GOMES, 1997; DIBARTOLA, 2000). Os distúrbios ácidos-básicos envolvendo aumento ou redução de pCO_2 , são devidos a problemas respiratórios, designados como acidose e alcalose respiratória, respectivamente. Anormalidades causadas por processos metabólicos estão associadas a altas ou baixas concentrações de bicarbonato e são designados como alcalose e acidose respiratória, respectivamente (FURLAN et al., 2002). A intensificação da acidose respiratória causada por maior pCO_2 , pode ser explicada pela dissociação do ácido carbônico (H_2CO_3) em H^+ e HCO_3^- , onde a elevação desses íons reduzem o pH (BARBOSA; GAMBA, 2011).

2.2.4. pO_2

A pO_2 expressa a pressão parcial de oxigênio sanguíneo e demonstra a capacidade das trocas de oxigênio a partir dos alvéolos pulmonares para os capilares pulmonares, distribuído no sangue. Quando os valores de pO_2 são considerados baixos,

pode-se dizer que o animal está em um quadro de hipóxia. Portanto, a pO_2 pode ser considerada um padrão de análise da oxigenação sanguínea e juntamente com a pCO_2 , representa o equilíbrio entre a produção O_2 realizada pelas células do organismo e a eliminação de CO_2 pelo sistema respiratório (GOMES, 1997; DIBARTOLA, 2000; BARBOSA et al., 2011).

2.2.5. HCO_3^-

O HCO_3^- , comumente estudado como bicarbonato, é o principal sistema tampão do organismo e modificações deste componente podem desencadear desequilíbrios no balanço ácido-básico. Configura-se como constituinte metabólico, estando proporcional aos valores de pH (GOMES, 1997). Bookallil (2012), explicou que o bicarbonato pode ser mensurado como padrão ou sérico (aquele mensurado diretamente no sangue). O sistema tampão bicarbonato/dióxido de carbono atua de forma imediata e caracteriza-se como a primeira linha de defesa diante das variações de pH (BARBOSA; GAMBA, 2011).

2.2.6. K^+ (potássio)

O K^+ configura a fração de potássio sanguíneo. Em conformidade com Mogin (1981), é um eletrólito que desempenha como função fisiológica principal a manutenção do equilíbrio ácido-base corporal. O potássio representa o principal cátion encontrado no líquido intracelular, e além do equilíbrio ácido-básico, está envolvido em processos de síntese de proteínas teciduais, balanço osmótico, antagonismo arginina-lisina, reações enzimáticas, condução nervosa e manutenção da homeostase intracelular (BORGES et al., 2003). Segundo Bacila (1980), o aumento na perda de K^+ pela urina pode ser provocado por alcalose respiratória, pois ocorre redução da competição entre os íons H^+ e K^+ . No caso do excesso de K^+ , há competição com os ânions do sistema tampão encontrados no líquido do túbulo renal e com isso aumenta-se a concentração de H^+ , favorecendo uma acidose.

2.2.7. Na⁺ (Sódio)

Representa os níveis de sódio no plasma. O sódio é a maior fração dos equivalentes catiônicos. Apresenta-se de forma obrigatória em número igual aos ânions (cloro e bicarbonato) e por isso é primordial para a osmolaridade dos fluidos. É o principal cátion encontrado no líquido extracelular (LEC) e é um mineral essencial para a regulação dos fluidos intra e extracelulares. A este íon compete a manutenção do equilíbrio ácido-básico e da pressão sanguínea, a atividade elétrica nas células nervosas e no músculo cardíaco, o controle da pressão osmótica corporal, o transporte de inúmeras substâncias por meio das membranas celulares e absorção dos monossacarídeos e aminoácidos (BORGES et al., 2003; BAKER et al., 2007; BUZZO et al., 2014).

2.2.8. Ica (Cálcio ionizado)

O Ica indica os valores de cálcio livre presentes no plasma. De acordo com Vieites et al. (2004), o Ica apresenta-se no plasma sob a forma inativa (ligado a compostos orgânicos) e biodisponível (cálcio iônico). Paratormônio e calcitonina são hormônios que auxiliam na manutenção das concentrações de cálcio no sangue, controlando a absorção, a excreção e o metabolismo ósseo (MACARI et al., 2002). O cálcio plasmático desempenha papel relevante em diversas funções vitais, tais como: permeabilidade de membrana, transmissão do impulso nervoso, ativação de sistemas enzimáticos, coagulação sanguínea, excitabilidade muscular e deposição de cálcio na casca do ovo de aves em postura (VIEITES et al., 2011).

2.2.9. Hct (Hematócrito)

O hematócrito é expresso em porcentagem total de hemácias por volume de sangue, ou seja, volume relativo ocupado pelos eritrócitos no sangue. A partir do hematócrito é possível diagnosticar situações de anemia (baixo valor de hematócrito) ou policitemia (alto valor de hematócrito). Na maioria das espécies, os valores de hematócritos estão situados na faixa de 35 e 55% e para frangos de corte em média

30%. Em situações no qual o animal passa por estresse calórico, as frações de hematócrito tendem a reduzir, e isso pode ser explicado pela desidratação dos eritrócitos, além da saída de água dos tecidos para suporte no volume do plasma (ROLL et al., 2010).

2.2.10. Hb (Hemoglobina)

A hemoglobina é considerada o segundo tampão mais importante do sangue e esta capacidade tamponante está associada à existência de um representativo número de ácidos ou básicos. A Hb expressa à capacidade de oxigenação dos tecidos (FURLAN et al., 2002). Segundo Barbosa (2011), existe uma associação entre hematócrito e hemoglobina. Devido ao aumento da demanda metabólica a partir da segunda semana de incubação, há elevação no nível de hematócrito e concentração de hemoglobina para permitir maior oxigenação do sangue.

2.2.11. TCO₂ (Gás carbônico total)

O parâmetro TCO₂ representa as concentrações de gás carbônico em sua totalidade no sangue, como CO₂ em solução física ou ligeiramente ligado a proteínas, bicarbonato (HCO₃⁻) ou carbonato (CO₃) e ácido carbônico (H₂CO₃). A mensuração está associada à avaliação das concentrações de bicarbonato, pois são inversamente proporcionais. São essenciais para avaliação do equilíbrio ácido básico (CENTOR, 1990).

2.2.12. SO₂ (Saturação de oxigênio)

A mensuração de SO₂ permite avaliar a porcentagem de hemoglobina oxigenada. Quando a molécula de hemoglobina está carregando sua capacidade máxima de oxigênio (quatro moléculas), ela é descrita como saturada, quando comparada com a totalidade de hemoglobina presente no sangue (WILSON, 2013).

2.2.13. Equilíbrio ácido-básico e processos fisiológicos em embriões de aves

No decorrer da incubação, existem dois períodos primordiais para a sobrevivência embrionária, elucidados por Barbosa et al. (2014), como período pré-natal (anterior à bicagem interna) e fase perinatal (bicagem interna até a bicagem externa). Na fase pré-natal, a troca gasosa é feita por meio da área vascular e posteriormente pela membrana córioalantoide, até que ocorra a inicialização da respiração pulmonar no estágio final da incubação (EVERAERT e DECUYPERE, 2013).

Na última semana de incubação, o embrião aumenta a sua demanda metabólica de oxigênio e devido a este fator aumenta-se o fluxo sanguíneo por meio da membrana corioalantoide, que não consegue mais suprir os níveis necessários de oxigenação. Como consequência, ocorrem alterações na afinidade de oxigênio e hemoglobina, a pO_2 reduz e o embrião entra em hipóxia. Desta forma, ocorre estímulo para a bicagem interna e conseqüentemente, acesso à câmara de ar, seguida da bicagem externa e eclosão. Neste momento os pulmões assumem definitivamente a função respiratória (ROWLETT e SIMKISS, 1989; BARBOSA et al., 2014). A duração média entre a bicagem interna e a bicagem externa varia de cinco à 12 horas, sendo que a hipóxia neste período interfere no metabolismo e sobrevivência embrionária e no desenvolvimento pós-eclosão. Esses acontecimentos fisiológicos contribuem para a eclosão, e são ocasionados por processos endócrinos, balanço ácido-base ou também pela interação dos mesmos (CHRISTENSEN, 1995; RONDÓN e MURAKAMI, 1998).

É verificado que no processo de eclosão sob condições adequadas de temperatura, ocorre redução da concentração de O_2 , aumento de CO_2 na câmara de ar e eficiente perda de água pelo embrião. Willemsen et al. (2010) elucidaram que concentrações sanguíneas de pO_2 mais altas e pCO_2 mais baixas, sugerem uma redução expressiva no metabolismo de embriões submetidos à altas temperaturas.

No final da incubação, aumenta-se o metabolismo para obtenção de glicose e devido à escassez de O_2 nestas últimas etapas, o embrião não consegue produzir energia advinda do metabolismo lipídico, tornando-se dependente da via gliconeogênica

(MORAN JR, 2007; DE OLIVEIRA, 2009). Então, intensifica-se a produção anaeróbica de lactato, que é convertido em glicose. Por conseguinte, há uma progressão dos níveis de lactato em altas temperaturas de incubação, pois a atividade muscular é elevada e a disponibilidade de O_2 é baixa durante o processo de eclosão (DE OLIVEIRA et al., 2008). O piruvato formado durante a glicólise anaeróbica, para formação de lactato, aumenta o próton H^+ sanguíneo, sendo tamponado por bicarbonato (HCO_3^-), evitando redução do pH.

Em experimento realizado por Maatjens et al. (2014), foi observado elevação na concentração de íons de potássio na eclosão e doze horas após a eclosão para pintos submetidos a incubação em altas temperaturas, como forma de preservação do equilíbrio ácido-base, onde o H^+ é trocado no sangue com o K^+ do plasma intracelular.

Ao incubar ovos oriundos de matrizes jovens (32 semanas), idade média (42 semanas) e velhas (65 semanas) a uma temperatura de $38,5^\circ C$ no terço médio a final da incubação, Yalcin et al. (2008), observaram concentrações sanguíneas de Na^+ maior (5mmol/L) e K^+ menor ($0,88\text{mmol/L}$) na bicagem interna, para tratamento com altas temperaturas quando comparadas a embriões submetidos à temperatura controle. Os autores justificaram que o estresse térmico diminuiu a concentração plasmática de K^+ e elevou a de Na^+ , em consequência da menor concentração de HCO_3^- ($25,28\text{ meq/L}$) em embriões submetidos a maior aquecimento.

Pesquisando o efeito do balanço ácido-base em embriões de matriz Cobb® com 43 semanas incubados sob altas concentrações de CO_2 durante os primeiros 10 dias de incubação, Bruggeman et al. (2007) observaram aumento de pCO_2 no sangue e na câmara de ar e redução nos níveis de pO_2 (12° e 18° dia de incubação). Os pesquisadores verificaram aumento na concentração sanguínea de HCO_3^- a partir do 14° dia de incubação para compensar a compensação da acidose respiratória.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os protocolos experimentais utilizados estão de acordo com as diretrizes da Universidade Federal da Bahia e do Comitê de Ética do Uso de Animais – CEUA (número de registro 22/2017).

Os tratamentos foram definidos pela aplicação ou não de alta temperatura na incubação: Tratamento C (Controle) e Tratamento AT (Alta temperatura).

3.1. Local

O experimento foi realizado no Núcleo de Pesquisa em Incubação Artificial de Ovos (NUPIA-UFBA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, localizado no município de Salvador-BA, no período de Janeiro a Abril de 2017.

3.2. Ovos

Foram obtidos 720 ovos de matrizes pesadas da linhagem Cobb® com idade de 44 semanas, provenientes do Matriseiro da Granja Asa Branca, localizado no município de Estância-SE. Utilizaram-se ovos pertencentes à segunda coleta do mesmo dia. Imediatamente após a coleta, ainda na granja, os ovos destinados à seleção para esta incubação foram desinfetados pelo método de fumigação com paraformaldeído na concentração de 10g/m^3 e posteriormente transportados para o incubatório em veículo climatizado, com temperatura inferior ao ponto zero fisiológico, considerado aproximadamente 21°C .

Na chegada ao incubatório realizou-se a seleção dos ovos, eliminando aqueles considerados não incubáveis (sujos, trincados, quebrados, pequenos e deformados). Em seguida os ovos incubáveis foram pesados e aqueles com peso entre 62 a 65g foram separados em bandejas de incubação. 720 ovos foram selecionados e identificados aleatoriamente, sendo 360 ovos identificados como tratamento C (Controle) e 360 ovos foram identificados como tratamento AT (Alta Temperatura).

Nestas condições, os ovos dos respectivos tratamentos permaneceram na sala de armazenamento por três dias, com médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR) de $20,6^\circ\text{C}$ e 79% respectivamente. Após o armazenamento, os ovos foram encaminhados para o NUPIA em veículo climatizado, com temperatura inferior ao ponto zero fisiológico.

3.3. Pré-incubação e incubação dos ovos

Após o período de armazenamento e antes do início da incubação, realizou-se um pré-aquecimento dos ovos durante 5 horas. A sala de pré-aquecimento foi mantida em temperatura média de 28°C. Após este período e imediatamente antes da entrada dos ovos na incubadora, cada ovo foi pesado individualmente.

No período de incubação foram utilizadas quatro máquinas incubadoras modelo Premium Ecológica® 200D de estágio único, com capacidade para 200 ovos e controle digital de temperatura, umidade e viragem horizontal.

As máquinas de incubação foram reguladas para manter a temperatura em 37,8°C (100°F) e o teor de UR de 55% durante o período de incubação. Entre o oitavo e 18º dia de incubação, duas máquinas foram reguladas para manter a temperatura em 38,9°C (102°F) (Tratamento AT).

Com a finalidade de incubar os ovos com o controle da temperatura da casca, em cada máquina foram incluídos seis sensores de temperatura (TI-33Ri plus). Os sensores foram unidos às cascas de ovos por meio de fita adesiva (Scotch® Tough Duct Tape – 3M) em sua região equatorial. A temperatura da casca foi monitorada duas vezes ao dia por meio do programa (SITRAD® versão 4.13) e quando necessário, ajustes nas máquinas de incubação foram realizados para manter as temperaturas da casca desejadas em cada tratamento. Nos ovos que continham os sensores, foi realizado ovoscopia diária entre o 8º e o 18º dia de incubação para confirmação da viabilidade dos mesmos.



Figura 1 – Mensuração da temperatura da casca do ovo. Arquivo Pessoal.

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

No 8º dia de incubação, todos os ovos do experimento foram analisados em um ovoscópio (Auza®). Os ovos claros foram retirados e quebrados, sendo identificados os ovos inférteis e aqueles com embriões mortos. Os dados foram registrados para posteriormente serem incluídos na análise final de mortalidade embrionária e fertilidade.

3.5. Nascimento dos pintos

A retirada dos pintos das máquinas ocorreu com 516 horas (21 dias + 12 horas) de incubação. No final da incubação os pintos nascidos foram colocados em caixas devidamente identificadas de acordo com os tratamentos. Foi contabilizado o total de pintos mortos, o comprimento e o escore de umbigo. Após a contagem de pintos nascidos, foi retirada ao acaso uma amostra de 40 pintos por tratamento (20 pintos por máquina) para as análises posteriores.

3.6. Análises de rendimento de incubação

3.6.1. Perda de peso dos ovos durante o período de incubação

A perda de peso dos ovos foi determinada por pesagem individual de todos os ovos de cada tratamento antes dos mesmos serem colocados na incubadora e no momento em que foram retirados os sensores (18º dia de incubação); quando foram calculados os pesos médios dos ovos. O percentual de perda de peso dos ovos foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Perda de peso: } \frac{(\text{Peso dos ovos no início da incubação} - \text{Peso dos ovos aos 18 dias}) \times 100}{\text{Peso dos ovos no início da incubação}}$$

3.6.2. Mortalidade embrionária e fertilidade (%)

O número de ovos não eclodidos de cada tratamento foi registrado, sendo os mesmos examinados para se determinar o percentual de ovos inférteis, ovos bicados (pintos que não conseguiram eclodir) e a fase em que ocorreu a mortalidade embrionária, incluindo a observação sobre mau-posicionamento e anormalidades morfológicas e conformacionais, de acordo com Barbosa (2011). 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 18 dias de incubação;
- Ovos com embriões que morreram entre 19 a 21 dias;
- Ovos bicados com embriões vivos ou mortos;
- Ovos contaminados (ovos nos quais os embriões morreram devido à contaminação microbiana);
- Ovos desidratados (devido a trincas da casca ocorridas durante o processo).

Após esta análise, os dados de mortalidade inicial e infertilidade obtidos aos oito dias na ovoscopia foram somados, e então o percentual total de mortalidade embrionária foi calculado sobre o número de ovos férteis. A fertilidade do lote foi obtida através da fórmula (100% - % de ovos inférteis). As alterações observadas nos embriões mortos, como por exemplo, mau-posicionamento, caixa craniana aberta, duplicação de membros posteriores e inferiores foram registradas.

3.6.3. Taxa de eclosão total em relação ao número de ovos férteis (%)

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

3.7. Análises morfofisiológicas

3.7.1. Peso dos pintos no momento da eclosão

20 pintos de cada máquina (40 por tratamento) foram selecionados aleatoriamente e pesados individualmente em balança analítica (Marte® AY220), para obtenção do peso médio (figura 2).

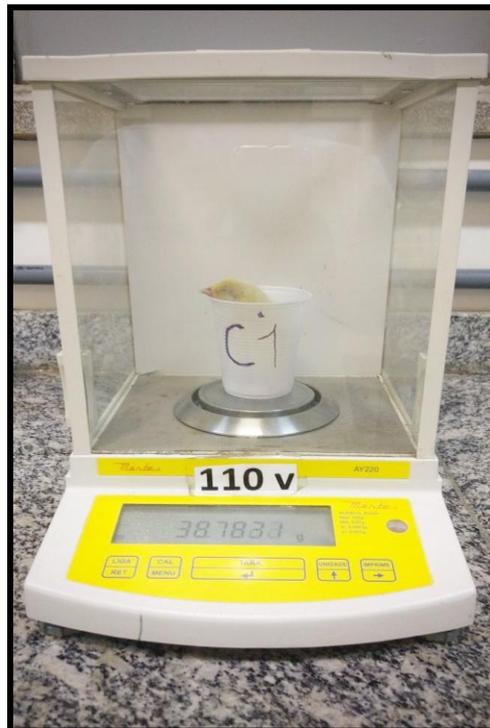


Figura 2 - Peso de pintos recém-eclodidos. Arquivo pessoal.

3.7.2. Comprimento do pintinho (cm)

Os pintos selecionados para a análise de peso foram medidos por uma régua considerando a ponta do bico até o dedo do membro inferior direito (a escolha do membro inferior é de acordo com o avaliador, portanto todos os animais tiveram as medidas pela perna esquerda) desconsiderando a unha (Figura 3).



Figura 3 – Comprimento de pintinho. Arquivo pessoal

3.7.3. Escore de umbigo

Cada pintinho por tratamento, após a mensuração do comprimento, também foi classificado quanto à cicatrização do umbigo, onde receberam escores: escore 1- umbigo 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.



Figura 4 – Escure de umbigo. Arquivo pessoal

3.7.4. Hemogasometria

As análises que permitiram avaliar os níveis sanguíneos de pH sanguíneo, PaCO_2 , PaO_2 , HCO_3^- , iCa , Na, K, Hct e Hb dos pintos, foram realizadas através do aparelho analisador clínico portátil i-STAT® e cartuchos modelo Cartridge CG8+ (Abott Laboratories-USA). Nos mesmos pintos utilizados nas análises anteriores, foi realizado por meio da veia jugular, a coleta individual de cerca de $100\mu\text{L}$ de sangue em seringas heparinizadas de 1mL e agulha 30G. Imediatamente após a coleta, a amostra foi inserida no cartucho (figura 5), que automaticamente fez a leitura dos parâmetros mencionados.



Figura 5 - Aparelho e cartuchos utilizados nas análises dos parâmetros fisiológicos.

Arquivo pessoal.

3.7.5. Glicose, lactato e ácido úrico

Para avaliar o status fisiológico dos pintos de um dia, as mesmas amostras de 40 pintos por tratamento foram utilizadas. Os pintinhos foram eutanasiados por deslocamento cervical e as amostras de sangue coletadas. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram acondicionadas em tubos tipo Vacutaner®, heparinizados. Em seguida as amostras de sangue foram centrifugadas durante 10 minutos à velocidade de 3000rpm. As alíquotas de plasma foram transferidas por meio de micropipetas para novos tubos *ependorff* devidamente identificados de acordo com as repetições e tratamentos e foram conservadas a -20°C até ser iniciado o processamento das amostras.

As determinações de Glicose¹, lactato², ácido úrico³ foram realizadas em espectrofotômetro modelo GT 7220 da marca Global Technology®, utilizando-se kits comerciais em comprimento de onda apropriados (figura 6).

¹ Glicose K082. Biolclin. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: Enzimático colorimétrico.

² Lactato K084. Bioclin. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: UV enzimático.

³ Ácido úrico K139. Bioclin. Belo Horizonte, MG, BR. Metodologia: Enzimático colorimétrico.

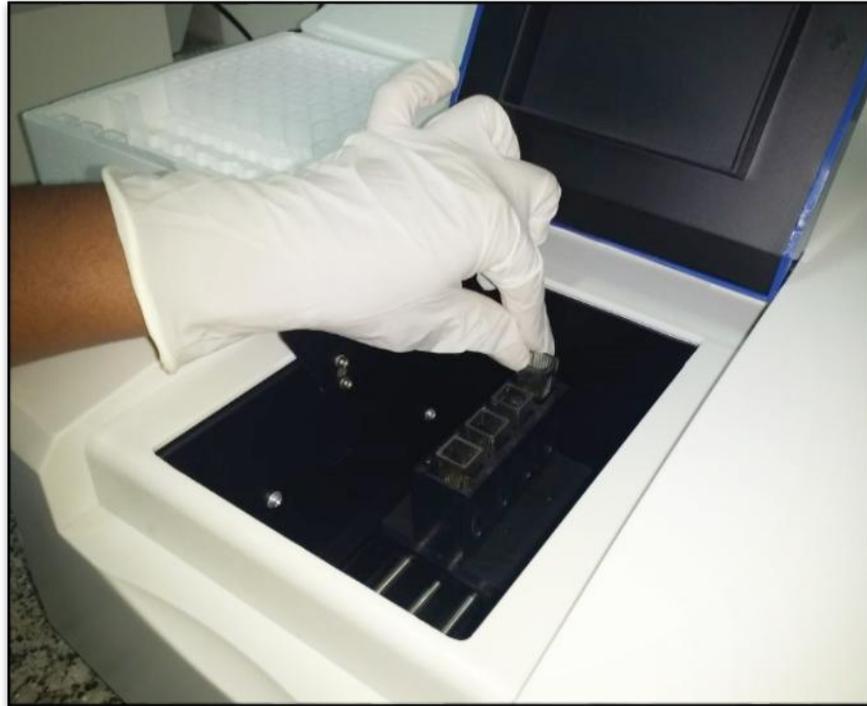


Figura 6 - Determinações de Glicose, lactato, ácido úrico realizadas em espectrofotômetro modelo GT 7220 da marca Global Technology®.

3.7.6. Glicogênio hepático

Após pesados, os fígados coletados foram armazenados a -80°C para posterior análise. A determinação de glicogênio hepático foi realizada segundo metodologia de Molenaar (2010). Todos os procedimentos para essa análise foram conduzidos com as amostras em gelo. Todo o fígado foi homogeneizado com uma colher de agitação de vidro após a adição de um μL de 7% de HClO_4 /mg de tecido úmido. A suspensão foi centrifugada ($2,900\times g$) a 4°C por 15 min. O sobrenadante foi decantado, limpo com 1 mL de éter de petróleo e congelado a -80°C até posterior análise. O sobrenadante foi descongelado, centrifugado e decantado novamente. O glicogênio hepático foi determinado pelo ensaio de ligação de iodo usando uma solução de iodo (I₂-KI) contendo CaCl_2 saturado e a absorbância foi medida utilizando um leitor de placas de

microtitulação a 450 nm (DREILING et al., 1987). O Glicogênio hepático bovino (Tipo IX, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) foi usado como padrão.

3.7.7. Peso dos órgãos e Peso do pinto sem o saco vitelino

Os mesmos pintos que foram amostrados para análises sanguíneas, tiveram seus órgãos (coração, pulmão, fígado, estômago, intestinos, bursa, baço e saco vitelino) coletados para que pudessem ser pesados individualmente em balança analítica (Marte® AY220) (Figura 7). 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, finalizando-se com a retirada dos pulmões e bursa. Esses órgãos foram expressos de forma absoluta e também de forma relativa em relação ao peso do corpo sem o saco vitelino (YFBM – yolk free body mass), que foi obtido pela subtração entre o peso do pinto e o peso do saco vitelino residual. O percentual de saco vitelino residual foi obtido em relação ao peso corporal.

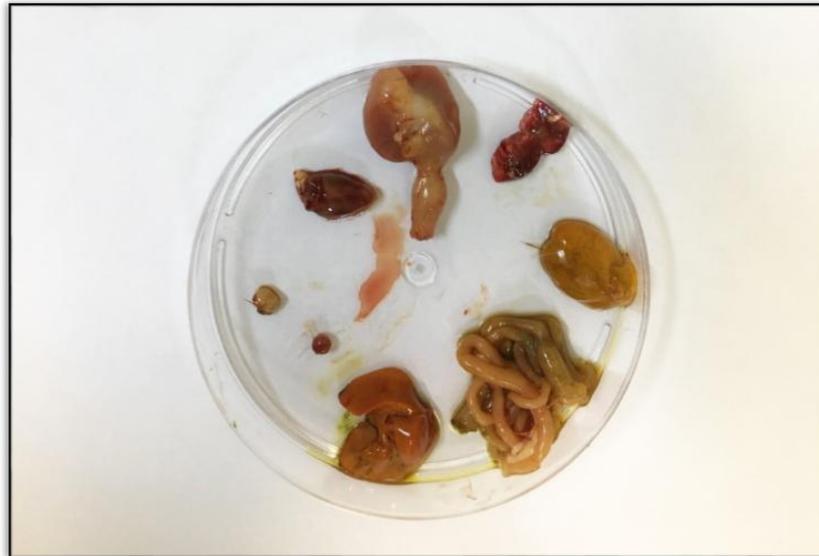


Figura 7 – Órgãos separados para pesagem individual. Arquivo pessoal

3.8. Análise Estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, onde nas análises de rendimento de incubação foram utilizados 360 ovos por tratamento e o ovo foi considerado a repetição. Para as análises de morfofisiologia foram utilizadas 40 repetições por tratamento, sendo o pinto a repetição.

Os dados normais e homogêneos foram submetidos às análises de variância e as médias comparadas pelo teste de F.

As variáveis foram analisadas com o procedimento MIXED do pacote de software SAS 9.2 (SAS Institute, 2009). Foi realizada a análise de Variância (ANOVA) em todos os procedimentos. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu_i + \text{TRAT}_j + e_{ijkl},$$

Onde μ é a média geral, TRAT_i é o tratamento usado (CONTROLE e ALTA TEMPERATURA) e e_{ijkl} , é o erro. As médias foram obtidas por meio do LSMEANS. Para todas as variáveis foi considerado efeito significativo com o valor de probabilidade em $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados relativos aos parâmetros zootécnicos da incubação de ovos estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros zootécnicos da incubação de ovos realizada ou não em altas temperaturas

Variáveis (%)	Incubação controle	Incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
Perda de peso	11,75	12,08	0,30	0,887
Fertilidade	98,53	98,94	0,26	0,258
Eclosão de ovos férteis	89,54	82,17	2,33	0,042
Mortalidade embrionária total ¹	10,46	17,83	2,33	0,042
Mort. embrionária inicial (0 - 7d) ¹	3,25	3,56	0,41	0,301
Mort. embrionária média (8 - 18d) ¹	2,05	2,73	0,32	0,386
Mort. embrionária final (19 - 21d) ¹	3,97	10,57	0,29	0,037
Bicados ¹	1,19	0,97	0,25	0,231
Mort. embrionária final + bicados ¹	5,16	11,54	0,27	0,035

¹Expressos em percentagem de ovos férteis (n= 360 ovos incubados por tratamento).

Não houve diferença estatística ($p>0,05$) referente à perda de peso dos ovos entre os dois tratamentos de temperatura. A condutância da casca e a umidade relativa do ar estão relacionadas com a perda de água do ovo durante a incubação (ROSA e ÁVILA, 2000; BARBOSA et al., 2008). Conforme Romanoff (1960), durante o processo de desenvolvimento, o embrião produz água metabólica. Meijerhof e Van Beek (2013) relataram que esta água metabólica precisa ser perdida durante o processo de incubação, para que o embrião encontre a câmara de ar em tamanho adequado para iniciar com êxito a respiração pulmonar. Os valores obtidos no nosso trabalho estão de acordo com a faixa ideal de perda de peso de ovos durante os primeiros 18 dias de incubação, que é em torno de 11 a 14% (ROSA e ÁVILA, 2000) e 12 a 14% (FRENCH, 2004) do seu peso inicial. A semelhança desta variável no presente estudo indica que os ovos dos dois tratamentos de temperatura foram incubados em ambiente controlado e homogêneo, especialmente em relação à umidade relativa do ar (55%). Nossos dados estão consistentes com o de Willemsen et al. (2010), que trabalharam com diferentes temperaturas de incubação (35,5; 38,3 e 41,1°C) em ovos oriundos de matrizes Cobb-500®, e também não encontraram diferenças significativas na perda de peso entre os tratamentos.

Para a variável fertilidade, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. Este resultado evidencia a uniformidade da amostra dos ovos e a homogeneidade do lote.

Na primeira semana de incubação não houve efeito significativo sobre a mortalidade embrionária ($p>0,05$), pois nesse período todos os ovos estavam submetidos às mesmas condições de temperatura, ventilação, umidade relativa do ar e viragem. Foi encontrado menor porcentagem de eclodibilidade ($p\leq 0,05$) para o tratamento com alta temperatura, possivelmente pela elevação da mortalidade embrionária final ($p\leq 0,05$), após os embriões passarem por um possível superaquecimento durante a fase embrionária média, evidenciando maior interferência da alta temperatura sobre os últimos dias de incubação. Estes dados estão em concordância com estudo de Willemsen et al. (2010), que encontraram valores de eclodibilidade de 93,1% (T°C controle) e 74,2% (T°C alta). Os autores também obtiveram valores de 2,5% (T°C controle) e 13,8% (T°C alta) para a variável mortalidade embrionária final. Van der Pol et al. (2014), estudando o efeito de altas temperaturas na incubação de ovos de matrizes pesadas, constataram menor valor de eclodibilidade (78,4%) para temperatura de 38,6°C quando comparado à eclodibilidade de 95% em temperatura normal de 37,8°C. Além disto, os valores de mortalidade embrionária final foram de 5,9% e 2,5% para temperaturas alta e normal, respectivamente.

Segundo Moran Jr (2007), na fase final da incubação, o embrião eleva a sua demanda energética e as concentrações de oxigênio tendem a reduzir. Altas temperaturas aumentam a taxa metabólica embrionária e ocorre intensificação da produção de calor embrionário. Desta forma, os embriões consomem menos gema, há redução do YFBM (PIESTUN et al., 2009a), diminuição no acúmulo de glicogênio hepático para gerar energia no final da incubação (CHRISTENSEN et al., 2001) e a proteína ao invés de ser utilizada para crescimento, é desviada como combustível. Estes fatores interferem, na disponibilidade e/ou utilização dos nutrientes, antes ou durante o processo de eclosão (DECUYPERE e MICHELS, 1992; CHRISTENSEN et al., 1999). Conforme Molenaar et al. (2013), esses mecanismos supracitados comprometem o desenvolvimento dos órgãos e os embriões ficam enfraquecidos, acarretando em

problemas morfológicos como duplicação e exposição de órgãos, deficiência no desenvolvimento do músculo de eclosão, causando dificuldades no processo de nascimento e provocando morte embrionária (MOLENAAR et al., 2010).

A variável mortalidade de ovos bicados refere-se aos pintos que chegaram a bicar a casca do ovo, mas não conseguiram eclodir (PLANO e MATTE, 2013). O percentual de ovos bicados não diferiu entre os tratamentos ($p>0,05$). Porém, quando o percentual de ovos bicados foi somado à mortalidade final, esta variável apresentou valor maior na incubação em alta temperatura, pois a mortalidade final foi significativamente maior quando comparada a incubação controle.

Tabela 5 - Parâmetros de qualidade de pintos recém-eclodidos submetidos à incubação controle ou em alta temperatura

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
Peso do pinto (g)	44,22	43,89	0,27	0,143
YFBM (g)	38,90	36,25	0,21	0,046
SV (g)	5,32	7,64	0,50	0,034
Comprimento (cm)	19,20	18,80	0,05	0,044
Qualidade de umbigo ¹	1,60	1,92	0,06	0,001

n=40. YFBM (peso do pinto sem o saco vitelino – yolk free body mass); SV (saco vitelino residual).

¹ Condição de umbigo, onde: 1= boa, 2= moderada, 3= ruim.

De acordo com a tabela 5, a variável peso do pinto não apresentou diferença significativa ($p>0,05$), em conformidade com os trabalhos de Lourens et al. (2005) e Joseph et al. (2006). Porém, pintos oriundos de incubação em alta temperatura (38,9°C) apresentaram menor YFBM e maior peso de saco vitelino ($p\leq 0,05$), em comparação com a incubação controle (37,8°C). Segundo trabalhos de Lourens et al. (2007) e Molenaar et al. (2011), que obtiveram resultados semelhantes, os valores encontrados podem ser justificados pelo fato de que altas temperaturas aumentam a taxa metabólica do embrião e por consequência aceleraram o processo de incubação e o embrião teve menos tempo para se desenvolver. Em adição, o aumento no metabolismo, intensifica a degradação da glicose reduzindo as reservas glicogênicas. A falta de precursores de glicose pode ter estimulado o embrião a buscar rotas alternativas para produção deste componente, existindo assim uma relação direta entre elevada temperatura e utilização de nutrientes.

Segundo Moran Jr (2007), nesta situação, o embrião obtém glicose a partir de compostos não glicídicos como aminoácidos, através da gliconeogênese. Portanto, essa mobilização proteica pode ter dificultado o embrião a converter gema em YFBM (FREEMAN, 1965, 1969). Os aminoácidos podem ter sido usados como fonte de energia, ao invés de serem utilizados para o crescimento e desenvolvimento corporal, resultando em YFBM inferior na incubação com alta temperatura (MOLENAAR et al., 2013; MAATJENS et al., 2014a). O maior peso de saco vitelino sugere que houve menor absorção de nutrientes e conseqüentemente ocorreram menor desenvolvimento e crescimento destes embriões, o que não é considerado ideal.

O tratamento em alta temperatura, apresentou pintinhos com maior escore de umbigo ($p \leq 0,05$), em concordância com pesquisa feita por Molenaar et al. (2011). O escore de umbigo é uma das análises que avaliam a qualidade de pintos de 1 dia e Decuyper e Bruggeman (2007) afirmaram que pintinhos que não apresentaram umbigo totalmente fechado e sem protrusões do saco vitelino ou membranas são considerados refugos. No presente experimento, o aumento no valor de saco vitelino possivelmente foi ocasionado pela alta temperatura, indicando que houve menor absorção dos nutrientes e como consequência, resultados desfavoráveis para esta variável. Isto ocorre porque os embriões não foram capazes de interiorizar o saco residual da gema para a cavidade do corpo de forma devidamente correta (PIESTUN et al., 2008a). Van Der Pol et al. (2014), também encontraram maior escore de umbigo para pintos que foram submetidos ao tratamento de 38,6°C na incubação (1,8) quando comparado ao tratamento de 37,8°C (1,4).

Alta temperatura de incubação também resultou em menor comprimento do pintinho ($p \leq 0,05$), possivelmente devido às alterações na utilização de nutrientes para o crescimento e composição corporal, e menor eficiência de utilização da proteína para o crescimento. Assim, o pintinho pode não ter se desenvolvido suficientemente devido à exigência alta de energia durante o processo de incubação (LOURENS et al., 2007). Diante destes resultados, pode-se inferir que, uma temperatura de casca de 38,9°C, expressa YFBM inferior, menor comprimento de pintinho e menor qualidade de umbigo, corroborando com os trabalhos de Lourens et al. (2005, 2007), Hulet et al. (2007), Leksrisompong et al. (2007) e Molenaar et al. (2011).

Na tabela 6 encontram-se os resultados de peso dos órgãos em valores relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino de recém-eclodidos que foram submetidos ou não a alta temperatura de incubação.

Tabela 6 - Peso de órgãos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino (%) dos recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
Coração (%)	0,68	0,57	0,001	0,022
Fígado (%)	2,30	2,11	0,001	0,032
Estômago (%)	5,67	5,62	0,001	0,123
Intestino (%)	3,32	3,38	0,001	0,389
Pulmão (%)	0,75	0,68	0,001	0,047
Baço (%)	0,001	0,001	0,001	0,603
Bursa (%)	0,005	0,005	0,001	0,415

n=40. Pesos relativos ao peso do pinto sem o saco vitelino.

Os pesos dos órgãos vitais como coração, fígado e pulmão foram inferiores ($p \leq 0,05$) para o tratamento em alta temperatura quando comparados ao grupo controle. Não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) para as variáveis estômago, intestino, baço e bursa entre os tratamentos, demonstrando que nem todos os órgãos foram prejudicados pela alta temperatura de incubação, em concordância com Leksrisompong et al. (2007), que realizaram experimentos com variação de temperaturas de 34,5 a 41,3°C em ovos de matrizes pesadas.

Possivelmente a alta temperatura dificultou o crescimento dos órgãos e também sobrecarregou a funcionalidade dos mesmos. A redução no peso relativo do coração em altas temperaturas de incubação também foi constatada em outros estudos (LOURENS et al., 2007; MOLENAAR et al., 2010b). O efeito da alta temperatura sobre o peso relativo do coração encontrado no presente trabalho pode ser justificado pelo aumento na taxa metabólica embrionária que eleva a demanda por oxigênio. Maatjens et al. (2014a) declararam que o intenso requerimento de O₂ para oxigenação dos demais órgãos sobrecarregam o coração para que este possa acompanhar o crescimento do fluxo sanguíneo. Além de intensificar a funcionalidade do coração, o aumento no metabolismo embrionário estimula a mobilização proteica para produção de energia,

que deveria ser usada para o crescimento e desenvolvimento dos órgãos (MOLENAAR et al., 2013) interferindo assim no desenvolvimento estrutural do coração, fígado e pulmão. Outro fator relacionado ao baixo peso relativo do coração está associado a diminuição do índice mitótico. Segundo Romanoff (1960) e Leksrisompong et al. (2007), as altas temperaturas de incubação provocam modificações na quantidade de células mitóticas ativas encontradas nas das células cardíacas, o que acarreta em dificuldades de divisão celular dos miócitos. Desta forma, ocorre desenvolvimento mais lento do coração durante a embriogenia e por seguinte, redução do peso relativo do coração no dia da eclosão como visto no nosso experimento.

A explicação para menor peso relativo do fígado e pulmão se baseiam também em parte, nas justificativas para os resultados do coração. A alta temperatura pode ter dificultado o crescimento celular do fígado e pulmões dos embriões. O tecido hepático é vital para o metabolismo do organismo animal. Foi relatado por Christensen et al. (2003b), que há ausência de enzimas essenciais para o ciclo de Cori em aves. Desta forma, o lactato produzido durante hipóxia só pode ser reciclado pelo fígado, após o restabelecimento do oxigênio. Logo, o aumento da taxa metabólica em resposta a alta temperatura de incubação pode ter sobrecarregado o trabalho deste órgão. O menor peso de fígado pode ser explicado também pelo esgotamento das reservas de glicogênio. Da mesma maneira, o pulmão teve alta função neste período. Além disto, assim como para o coração, altas temperaturas podem ter afetado a divisão celular pulmonar no estudo atual. Maatjens et al. (2016) investigando a influência de diferentes temperaturas de casca de ovos (35,6°C; 36,7°C; 37,8°C e 38,9°C), advindos de matriz Ross 308® com 43 semanas de idade, sobre o desenvolvimento dos órgãos embrionários, encontraram resultados semelhantes ao do nosso experimento para peso de fígado e coração.

O coração, fígado e pulmão são órgãos vitais para a embriogênese e para a vida pós-eclosão. A temperatura de 37,8°C proporciona maior peso relativo destes órgãos em pintinhos de um dia (LEKSRISOMPONG et al., 2007; MOLENAAR et al., 2010b; MAATJENS et al., 2014a; MAATJENS et al., 2016) e conseqüentemente pode acarretar em melhor sanidade e evitar enfermidades como incidência de ascite durante a vida adulta (MOLENAAR et al., 2011).

Tabela 7 - Parâmetros sanguíneos de pintos recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
Glicose (mg/dL)	209,23	202,12	2,39	0,591
Lactato (mmol/l)	2,68	2,59	0,13	0,219
Ácido úrico (mg/dL)	3,27	3,30	0,21	0,563
Glicogênio hepático (mg)	13,03	10,64	1,50	0,020

n=40. Valores $p < 0,05$.

Os parâmetros glicose, lactato e ácido úrico não foram influenciados ($p > 0,05$) pelo tratamento de incubação em alta temperatura (tabela 7). Entretanto, os níveis de glicogênio hepático sanguíneo foram menores ($p \leq 0,05$), dados consistentes com outros estudos (WILLEMSSEN et al., 2010; MOLENAAR et al., 2013; MAATJENS et al., 2014a).

Foi explicado por Freeman (1965) e De Oliveira et al. (2008) que, durante a maior parte do processo de incubação, os ácidos graxos representam o principal combustível energético para o embrião. Porém, no momento da bicagem interna a estratégia metabólica muda e a glicose se torna indispensável para produção de ATP. Esta situação, combinada com a baixa disponibilidade de oxigênio possivelmente ocasionados pelo estresse calórico de embriões expostos a alta temperatura de incubação, estimula a elevação da oxidação de glicose (MOLENAAR et al., 2013). Com isso, O’Dea et al. (2004), indicaram aumento na demanda de glicogênio que resulta em redução das concentrações hepáticas de glicogênio observadas. Portanto, os níveis inferiores de glicogênio hepático encontrados no presente estudo podem ter sido ocasionados pela menor síntese de glicogênio hepático e/ou pela intensificação na oxidação da glicose em alta temperatura. Segundo Maatjens et al. (2014a), a maior oxidação da glicose reduz a sobrevivência embrionária.

Com o aumento no metabolismo, a glicose que deveria seguir para produção de glicogênio hepático, pode ser desviada para oxidação e consequente produção de energia. Ao mesmo tempo, ocorre produção anaeróbia de lactato, e o mesmo pode ser regenerado e convertido em glicose por gliconeogênese hepática (WILLEMSSEN et al., 2010). Esta reação metabólica é uma explicação para a inexistência de diferenças estatísticas para os parâmetros glicose e lactato, pois o lactato pode ter anulado a

redução da glicose, sendo um mecanismo compensatório do embrião para tentar manter os níveis sanguíneos de glicose. Apesar do parâmetro ácido úrico não ter apresentado diferença significativa, o mínimo aumento na sua concentração plasmática, também pode indicar maior mobilização proteica para produção de glicose como visto por Molenaar et al. (2010; 2013). Deste modo, alta temperatura de incubação interferiu no metabolismo glicolítico e proteico, o que também pode explicar os baixos valores encontrados para a variável YFBM discutidos anteriormente.

Tabela 8 - Parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos submetidos ou não à alta temperatura de incubação

Variáveis	Pintos oriundos de incubação controle	Pintos oriundos de incubação em alta temperatura	SEM	P-valor
Ph	7,22	7,24	0,076	0,526
PCO ₂	45,22	44,73	6,372	0,489
PO ₂	27,16	28,20	6,465	0,338
Na	133,45	133,50	2,513	0,554
K	4,18	4,05	0,577	0,653
Ica	1,36	1,35	0,078	0,422
HCO ₃ ⁻	21,76	22,11	2,591	0,917
TCO ₂	23,05	23,30	2,478	0,884
SO ₂	43,34	44,62	14,722	0,398
Hct	18,86	17,99	2,314	0,915
Hb	6,27	6,03	0,705	0,908

n=40. Valores p<0,05.

Na tabela 8 encontram-se os resultados dos parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos que foram submetidos ou não à alta temperatura de incubação. Os valores obtidos foram semelhantes ($p > 0,05$) entre os dois tratamentos, demonstrando que o mecanismo do equilíbrio ácido-básico de pintinhos foi eficiente diante da exposição à alta temperatura, conseguindo assim manter a homeostasia. Também possivelmente, devido aos processos bioquímicos ocasionados em resposta a alta temperatura estudados neste experimento. Com o aumento da produção de calor dos embriões submetidos à alta temperatura, aumenta-se o metabolismo para obtenção de glicose no final da incubação, e devido à escassez de O₂ desta fase, o embrião realiza glicólise anaeróbica (MORAN JR, 2007). É de conhecimento que, a conversão de

piruvato em lactato favorece o aumento na concentração de ions H^+ sanguíneo, porém o sistema tampão bicarbonato pode ter sido eficientemente ativo tamponando os íons H^+ no sangue, evitando a redução do pH (MAATJENS et al., 2014b).

Poucos trabalhos são encontrados na literatura semelhantes ao presente estudo que avaliaram o efeito da alta temperatura de incubação sobre os parâmetros hemogasométricos de pintos recém-eclodidos. Porém, ao investigar o efeito da temperatura da casca do ovo ($36,7^{\circ}C$; $37,8^{\circ}C$ ou $38,9^{\circ}C$) e concentração de dióxido de carbono (0,2% ou 1,0%) durante a fase de eclosão sobre as características fisiológicas de embriões e pintos, Maatjens et al. (2014b) encontraram para o efeito temperatura valores semelhantes ao do nosso estudo, diferindo apenas de níveis inferiores de hematócrito e maior concentração de potássio em pintos expostos a alta temperatura. O aumento nos níveis de potássio foi explicado como forma de preservação do equilíbrio ácido-base, onde o H^+ é trocado no sangue com o K^+ do plasma intracelular. Yalçın et al. (2008) trabalhando com altas temperaturas intermitentes na incubação ($38,5^{\circ}C$) em ovos obtidos de matrizes pesadas com diferentes idades (32, 42 e 65 semanas) encontraram no dia da eclosão, maior valor de pH sanguíneo e menor concentração plasmática de pO_2 e pCO_2 em pintinhos submetidos a temperatura de $38,5^{\circ}C$ em comparação com o tratamento controle ($37,8^{\circ}C$). Na pesquisa dos autores citados não houve efeito da alta temperatura para os níveis sanguíneos de HCO_3^- , Na^+ e K^+ . Os resultados deste estudo diferem do nosso experimento possivelmente pela metodologia empregada, pois os autores trabalharam com diferentes idades de matrizes e manipulação de temperatura intermitente, ou seja, foi aplicada alta temperatura do décimo ao 18° dia de incubação porém por períodos curtos.

Apesar de não apresentarem diferenças estatísticas, os valores numéricos de bicarbonato encontrados no presente trabalho, indicam que o embrião conseguiu manter de forma eficiente a sua capacidade tamponante. O efeito tamponante do bicarbonato aliado às respostas metabólicas do embrião (refletidas em menor concentração de glicogênio hepático) quando este foi exposto à incubação em alta temperatura, podem explicar a homogeneidade nos valores dos parâmetros hemogasométricos.

5. CONCLUSÕES

A temperatura da casca dos ovos de 38,9°C entre o oitavo e 18º dia de incubação não é recomendada, por reduzir a eclodibilidade, o desenvolvimento dos órgãos vitais e a qualidade dos pintinhos recém-eclodidos.

Pintos recém-eclodidos mantêm a homeostasia independente de serem submetidos ou não a altas temperaturas de incubação. Entretanto, sugere-se mais estudos nesta linha de pesquisa, para verificar se condições de alta temperatura durante a incubação podem ocasionar distúrbios do equilíbrio ácido-básico durante a criação dos frangos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, n. 2, p. 283-290, 2007.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1980. 534p.

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, T. S.; MORI, C. K.; POLÔNIO, L. B.; PONSANO, E. H. G. e CIARLINI, P. C. Perfil bioquímico sérico de galinhas poedeiras na região de Araçatuba, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1583-1588, 2011.

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. 117f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2011.

BARBOSA, V. M.; BAIÃO, N. C.; ROCHA, J. S. R.; MENDES, P. M. M.; LARA, L. J. C.; POMPEU, M. A.; LEME, F. O. P.; CARDEAL, P. C.; MARTINS, N. R. S. e LEITE, R. C. Equilíbrio ácido-básico de embriões e pintos de corte em momentos críticos da incubação e submetidos a diferentes períodos de transferência para o nascedouro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 1225-1233, 2014.

BAROTT, H. G. Effects of temperature, humidity and other factors on hatch of eggs and on energy metabolism of chick embryos. **Technical Bulletin**, n. 553, p. 1-45, 1937.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2013. 373p.

BLACK, J. L. e BURGGREN, W. W. Acclimation to hypothermic incubation in developing chicken embryos (*Gallus domesticus*). I. Developmental effects and chronic and acute metabolic adjustments. **The Journal of Experimental Biology**, v. 207, p. 1543-1552, 2004.

BOOKALLIL, M. J. pH of the blood: acid base balance, 2009. Disponível em: <http://www.anaesthesia.med.usyd.edu.au/resources/lectures/acidbase_mjb/frameversion.html> Acesso em: 25 de fev. 2018.

BORGES, S. A. **Balço eletrolítico e sua interrelação com o equilíbrio ácido-básico em frangos de corte submetidos a estresse calórico**. 2001. 97f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2001.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A. e SILVA, A.V.F. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975-981, 2003.

BRUGGEMAN, V.; WITTERS, A.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; EVERAERT, N.; KAMERS, B.; ONAGBESAN, O.M.; DEGRAEVE, P. e DECUYPERE, E. Acid-base balance in chicken embryos (*Gallus domesticus*) incubated under high CO₂ concentrations during the first 10 days of incubation. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 159, p. 147-154, 2007.

BURGDORF-MOISUK, A.; ZICCARDI, M.; LARSEN, R. S. e HOPPER, K. Validation of lactate measurement in american flamingo (*phoenicopterus ruber*) plasma and correlation with duration and difficulty of capture. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 43, n. 3, p. 450-458, 2012.

BUZZO, M. L.; CARVALHO, M. F. H.; ARAKAKI, E. E. K.; MATSUZAKI, R.; GRANATO, D. e KIRA, C. S. Elevados teores de sódio em alimentos industrializados consumidos pela população brasileira. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 1, p. 32-39, 2014.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica clínica de aves. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, W. R. e CAMPBELL. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2007. cap. 32, p. 448-460.

CAMPOS, A. M. A.; ROSTAGNO, H. S. e GOMES, P. C. Efeito da inoculação de soluções nutritivas in ovo sobre a eclodibilidade e o desempenho de frangos de corte.

Revista Brasileira de Zootecnia, v. 40, p. 1712-1717, 2011.

CAPITELLI, R. e CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 71-120, 2013.

CARLSON G. P. e BRUSS, M. Fluid, electrolyte and acid-base balance. In: KANEKO J. J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6.ed. Academic Press, San Diego, 2008. cap.17, p. 529-559.

CASTRO, T. F. **Hemogasometria e equilíbrio eletrolítico pré-operatório em mangalarga marchador acometido de síndrome cólica**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2013.

CENTOR, R. M. Serum Total Carbon Dioxide. In: WALKER, H. K.; HALL, W. D. e HURST, J.W. **Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations**. 3ed., Atlanta: Faculdade de Medicina da Universidade Emory, 1990. cap. 196.

CHRISTENSEN, V. L. Factors affecting hatchability of turkey embryos. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v. 6, n. 1, p. 71-82, 1995.

CHRISTENSEN, V. L.; DONALDSON, W. E. e NESTOR, K. E. Effect of supplemental oxygen on blood plasma organic acids within embryos from selected lines of turkeys. **Poultry Science**, v. 78, p. 1601-1605, 1999.

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.

CHRISTENSEN, V. L.; ORT, D. T. e GRIMES, J. L. Physiological factors associated with weak neonatal poults (*Meleagris gallopavo*). **International Journal of Poultry Science**, v. 2, p. 7-14, 2003b.

- CLAWSON, R. C. Effect of temperature alteration on liver and cardiac glycogen in the chick embryo. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 51, p. 769–776, 1975.
- DAY, T. K. Blood gas analysis. **The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 32, n. 5, p. 1031-1048, 2002.
- DECUYPERE, E.; NOUWEN, E. J.; KÜHN, E. R.; GESS, R. e MICHELS, H. Iodohormones in the serum of chick embryos and post-hatching chickens as influence by incubation temperature. Relationship with the hatching process and thermogenesis. **Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique**, v. 19, p. 1713-1723, 1979.
- DECUYPERE, E. e MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: A review. **World's Poultry Science Journal**, v. 48, p. 28-38, 1992.
- DECUYPERE, E. e BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, n. 5, p. 1037-1042, 2007.
- DEEMING, D. C. e FERGUSON, M. W. Physiological effects of incubation temperature on embryonic development in reptiles and birds. In: Deeming, D. G., Ferguson, M. J. W. **Egg incubation**. Cambridge: University Press, p. 147-172, 1991.
- 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.
- DIBARTOLA, S. P. **Fluid therapy in small animal practice**. 2ed. Saunders Company: Philadelphia, 2000. 720p.
- DIBARTOLA, S. P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais**. 3.ed., São Paulo: Roca, 664p., 2007.
- DREILING, C. E.; BROWN, D. E.; CASALE, L. e KELLY, L. Muscle glycogen: Comparison of iodine binding and enzyme digestion assays and application to meat samples. **Meat Science**, v. 20, p. 167-177, 1987.
- DURANT, S. E.; HOPKINS, W. A.; HAWLEY, D. M. e HEPP, G. R. Incubation temperature affects multiple measures of immunocompetence in young wood ducks (Aix Sponsa). **Biology Letters**, v. 8, n. 1, p. 108-11, 2012.

EDWARDS, C. L. The Physiological Zero and the Index of Development for the Egg of the Domestic Fowl, *Gallus domesticus*. **Science New Series**, v. 15, n. 379, p. 521-522, 1902.

EL-SAGHEER, M. Influence of preincubation egg storage duration on egg quality, hatchability, embryonic mortality and viability of dandarawi chicks. **Egyptian journal of animal production**, v. 49, n. 2, p. 173-180, 2012.

EVERAERT, N. e DECUYPERE, E. Fisiologia do embrião. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I. S.; NAAS, I. A. e MARTINS, P. C. **Manejo da Incubação**. 3.ed., Jaboticabal: FACTA. 2013. cap.1.2, p.31-45.

FASENKO, G. M.; ROBINSON, F. E.; HARDIN, R. T. e WILSON, J. L. Variability in preincubation embryonic development in domestic fowl. 2. Effects of duration of egg storage period. **Poultry Science**, v. 71, p. 2129–2132, 1992.

FASENKO, G. M.; WILSON, J. L. e ROBINSON, F. E. Effects of length of egg nest holding time and high environmental temperatures on prestorage embryonic development, survival, and hatchability of broiler breeders. **Journal of Applied Poultry Science**, v. 8, p. 488-492, 1999.

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

FOYE, O. T.; UNI, Z. e FERKET, P. R. Effect of in ovo feeding egg white protein, beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, and carbohydrates on glycogen status and neonatal growth of turkeys. **Poultry Science**, v. 85, p. 1185-1192, 2006.

FREEMAN, B. M. The importance of glycogen at the termination of the embryonic existence of *Gallus domesticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 14, p. 217-222, 1965.

FREEMAN, B. M. The mobilization of hepatic glycogen in *Gallus domesticus* at the end of incubation. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 28, p. 1169-1176, 1969.

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

FRENCH, N. Exigências na incubação do frango atual: maximizando o potencial. In: SEMINÁRIO técnico Hubbard – conferência apinco 2004, Santos. **Tópico temático**. Santos: APINCO, p. 1-10, 2004.

FURLAN, R. L.; SILVA, A. V. F.; BORGES, S. A. e MACARI, M. Equilíbrio Ácido-básico. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L. e GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2.ed., Jaboticabal: FUNEP, 2002. cap. 4, p. 51-73.

FURLAN, J. J. M. **Avaliação do manejo pré-incubação e incubação dos ovos férteis sobre a qualidade do pintinho, desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte**. 2013. 62f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de São Paulo, Pirassununga, 2013.

GAMBA, J. P. **Uso estratégico do equilíbrio eletrolítico para minimizar os efeitos do estresse térmico em frangos de corte**. 2011. 92f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – FCAV/UNESP. Jaboticabal, 2011.

GARCIA, F. J.; PONS, A.; ALEMANY, M. e PALOU, A. Tissue glycogen and lactate handling by the developing domestic fowl. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 85, p. 727-731, 1986.

GOMES, O. M. **Interpretação clínicas das alterações ácido-básicas e distúrbio da oxigenação**. Belo Horizonte: Edictor, 1997, 254p.

GONZÁLEZ, F. H. D. e SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006. 358p.

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.

HARMS, C. A. e HARMS, R. V. Venous blood gas and lactate values of mourning doves (*Zenaida macroura*), boat-tailed grackles (*Quiscalus major*), and house sparrows (*Passer domesticus*) after capture by mist net, banding, and venipuncture. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 43, n. 1, p. 77–84, 2012.

HARVEY, R. A. e FERRIER, D. R. Metabolismo do glicogênio. In: HARVEY, R. A. e FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 5.ed., Porto Alegre: Artmed. Cap. 11, p. 125-136, 2012.

HILL, D. Embryo temperatures in multi-stage incubation. **Avian and Poultry Biology Reviews**, p. 168, 2000.

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

HULET, R. M.; WHEELER, E.; ROUSH, W. B.; WINELAND, M; CHRISTENSEN, V. e MCELROY, A. Effects of embryonic temperature on hatchability and post-hatch performance of a high meat-yielding broiler strain. **Poultry Science**, v. 82 (Suppl. 1) n. 6, 2003.

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

IPEK, A.; SAHAN, U.; BAYCAN, S. C. e SOZEU, A. The effects of different eggshell temperatures on embryonic development, hatchability, chick quality, and first-week broiler performance. **Poultry Science**, v. 93, p. 464-472, 2014.

JOSEPH, N. S.; LOURENS, A. e MORAN JR., E. T. The effects of suboptimal eggshell temperature during incubation on broiler chick quality, live performance, and further processing yield. **Poultry Science**, v. 85 p. 932-938, 2006.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. e BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5ed. London: Academic Press, 1997. 932p

KUCERA, P., RADDATZ, E. e BAROFFIO, A. Oxygen and glucose uptake in the early chick embryo. In: SEYMOUR, R.S. e JUNK, W. **Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates**. The Netherlands. 1984. p. 299-309.

LEKSRIOMPONG, N.; ROMERO-SANCHEZ, H.; PLUMSTEAD, P. W.; BRANNAN, K. E. e BRAKE, J. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. **Poultry Science**, v. 86, p. 2685-2691, 2007.

LOURENS, A. The importance of air velocity in incubation. **World Poultry**, v. 17, n. 3, p. 2930, 2001.

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

LOURENS, A.; MOLENAAR, R.; VAN DEN BRAND, H.; HEETKAMP, M.; J. W.; MEIJERHOF, R. e KEMP, B. Effect of egg size on heat production and the transition of energy from egg to hatchling. **Poultry Science**, v. 85, p. 770-776, 2006.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; HEETKAMP, M. J. W.; MEIJERHOF, R. e KEMP, B. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. **Poultry Science**, v.86, p. 2194-2199, 2007.

LU, J. W.; MCMURTRY, J. P. e COON, C. N. Developmental changes of plasma insulin, glucagon, insulin-like growth factors, thyroid hormones, and glucose concentrations in chick embryos and hatched chicks. **Poultry Science**, v. 86, p. 673-683, 2007.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. e BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5ed. London : Academic Press. 1997. cap. 30, p. 857-883.

MAATJENS, C. M.; REIJRINK, I. A. M.; MOLENAAR, R.; VAN DER POL, C. W.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Temperature and CO₂ during the hatching phase.

- I. Effects on chick quality and organ development. **Poultry Science**, v. 93, p. 655-663, 2014a.
- MAATJENS, C. M.; REIJRINK, I. A. M.; MOLENAAR, R.; VAN DER POL, C. W.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Temperature and CO₂ during the hatching phase. II. Effects on chicken embryo physiology. **Poultry Science**, v. 93, p. 655-663, 2014b.
- MAATJENS, C. M.; VAN ROOVERT-REIJRINK, I. A. M.; ENGEL, B.; VAN DER POL, C. W.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Temperature during the last week of incubation. I. Effects on hatching pattern and broiler chicken embryonic organ development. **Poultry Science**, v. 95, p. 956–965, 2016.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L. e GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 362p.
- MAULDIN, J. M. e BUHR, R. J. What is really happening in your incubation? **International Hatchery Practice**, v. 9, n. 5, p. 19-22, 1995.
- MEIJERHOF, R. Pre-incubation holding of hatching eggs. **Poultry Science**, v. 48, p. 57-68, 1992.
- MEIJERHOF, R. e VAN BEEK, G. Mathematical modelling of temperature and moisture loss of hatching eggs. **Journal of Theoretical Biology**, v. 165, p. 27-41, 1993.
- MEIJERHOF, R. The influence of incubation on chick quality and broiler performance. **In Proceedings of the 20th Australian Poultry Science Symposium**, p. 167-176, New South Wales, Sydney, Austrália. 2009.
- MEIJERHOF, R. Aspectos físicos da incubação e sua relação com o desenvolvimento embrionário. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I. S.; NÄÄS, I. A. e MARTINS, P. C. **Manejo da Incubação**. 3.ed., FACTA, 2013. cap. 2.3, p. 121-132.
- MOLENAAR, R.; MEIJERHOF, R.; VAN DEN ANKER, I.; HEETKAMP, M. J.W.; VAN DEN BORNE, J. J.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and oxygen concentration on survival rate and nutrient utilization in chicken embryos. **Poultry Science**, v. 89, p. 2010–2021, 2010.

MOLENAAR, R.; DE VRIES, S.; VAN DEN ANKER, I.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature and a hole in the air cell on perinatal development and physiology of layer hatchlings. **Poultry Science**, v. 89, p. 1716-1723, 2010.

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, 2011a.

MOLENAAR, R.; HULET, R.; MEIJERHOF, C. M.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. High eggshell temperatures during incubation decrease growth performance and increase the incidence of ascites in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, p. 624-632, 2011b.

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 requirements in the developing chicken embryo. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. 1-12, 2013.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 40, p. 285-294, 1981.

MORAN JR., E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. **Poultry Science**, v. 86, 1043-1049, 2007.

NANGSUAY, A.; MOLENAAR, R.; MEIJERHOF, R.; VAN DEN ANKER, I.; HEETKAMP, M. J. W.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND. Differences in egg nutrient availability, development, and nutrient metabolism of broiler and layer embryos. **Poultry Science**, v. 94, p. 415-423, 2015.

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.

OHTSU, H.; SATO, K.; NISHIDA, H. e AKIBA, Y. High β -hydroxybutyrate concentration in liver and skeletal muscle of newly hatched chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 134, p. 625-629, 2003.

ONAGBESAN, O.; BRUGGEMAN, V.; DE SMIT, L.; DEBONNE, M.; WITTERS, A.; TONA, K.; EVERAERT, N. e DECUYPERE, E. Gas Exchange during storage and incubation of avian eggs: effects on embryogenesis, hatchability, chick quality and post-hatch growth. **World's Poultry Science Journal**, v. 63, p. 557-573, 2007.

OVIEDO-RODÓN, E. O.; WINELAND, M. J.; SMALL, J.; CUTCHIN, H.; MCELROY, A.; BARRI, A. e MARTIN, S. Effect of incubation temperatures and chick transportation Conditions on bone development and leg health. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, p. 671-678, 2009.

OZAYDIN, T. e CELIK, I. Effects of High Incubation Temperature on the Body Weight and Yolk Consumption of two Commercial Broiler Strain. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 42, p. 1253, 2014.

PATIENCE, J. F. A review of the role acid-base balance in amino acid nutrition. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 398-408, 1990.

PEEBLES, E. D.; ZHAI, W. e GERARD, P. D. Comparative evaluation of air cell and eggshell temperature measurement methodologies used in broiler hatching eggs during late incubation. **Poultry Science**, v. 91, p. 1536-1541, 2012.

PIESTUN, Y.; SHINDER, D.; RUZAL, M.; HALEVY, O.; BRAKE, J. e YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: Effect on the acquisition of thermotolerance **Poultry Science**, v. 87, p.1516-1525, 2008a.

PIESTUN, Y.; HALEVY, O. e YAHAV, S. Thermal manipulations of broiler embryos - The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. **Poultry Science**, v. 88, p. 2677-2688, 2009a.

PLANO, C. M. e MATTEA, M. Embriodiagnóstico e patologia perinatal. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NAAS, I.A. e MARTINS, P.C. **Manejo da Incubação**. 3.ed., Jaboticabal: FACTA, 2013. cap. 2.10, p.245-282.

- RICKLEFS, R. E. Community diversity: relative roles of local and regional processes. **Science**, v. 235, p. 167-171, 1987.
- ROCHA, C. e MAIORKA, A. Nutrição “in ovo”. In: MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I.S.; NAAS, I.A. e MARTINS, P. C. **Manejo da Incubação**. 3.ed., Jaboticabal: FACTA, 2013. cap. 2.9, p. 223-243.
- ROLL, V. F. B.; LOPES, L. L.; ROSSI, P.; ANCIUTI, M. A.; RUTZ, F.; XAVIER, E. G. e SILVA, S.S. Hematologia de frangos alimentados com dietas contendo aflatoxinas e adsorvente de toxinas. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p 93-101, 2010.
- ROMANOFF, A. L. e ROMANOFF, A. J. **The Avian Egg**. New York: John Wiley and Sons, 1949. 918p.
- ROMANOFF, A. L. **The avian embryo: Structure and functional development**. Macmillan, New York, USA, 1960.
- ROMIJN, C. e LOKHORST, W. Chemical heat regulation in the chick embryo. **Poultry Science**, v. 34, p. 649-654.
- RONDÓN, E. O. O. e MURAKAMI, A. E. Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 373-382, 1998.
- ROSA, P. S. e AVILA, V. S. Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos em matrizes de frangos de corte. **Comunicado Técnico Embrapa Suínos e Aves**, n. 246, p. 1-3, 2000.
- ROWLETT, K. e SIMKISS, K. Respiratory gases and acid-base balance in shell-less avian embryos. **Journal of Experimental Biology**, v. 143, p. 529-536, 1989.
- SALAZAR, A. I. El proceso de incubación. **Avicultura profesional**, v. 18, p. 26-30, 2000.
- SAKOMURA, N. K.; DA SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K. E e HAUSCHILD, L. Digestão e Absorção de Lipídeos. In: DA SILVA, J. H. V.; LIMA, R. B.; LACERDA, P. B e OLIVEIRA, A. C. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP. 2014. cap 2. p. 62-76.

- SANTANA, M. H. M.; GIVISIEZ, P. E. N.; FIGUEREDO JR., J. P. e SANTOS, E. G. Incubação: principais parâmetros que interferem no desenvolvimento embrionário de aves. **Revista eletrônica nutritme**, v. 11, p. 3387-3398, 2014.
- SATO, M.; TACHIBANA, T e FURUSE, M. Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. **Comparative Biochemistry and Physiology**, p. 382-388, 2006.
- SHIM, M.Y. e PESTI, G. M. Effects of incubation temperature on the bone development of broilers. **Poultry Science**, v. 90, p. 1867-1877, 2011.
- SOZCU, A. e IPEK, A. Incubation conditions affect chick quality and broiler performance. **Journal of Agricultural Faculty of Uludag University**, p. 139-146, 2013.
- SUAREZ, M. E.; WILSON, H. R.; MCPHERSON, B. N.; MATHER, F. B. E e WILCOX, C. J. Low temperature effects on embryonic development and hatch time. **Poultry Science**, v. 75, p. 924-932, 1996.
- SUNNY, N. E. e BEQUETTE, B. J. Gluconeogenesis differs in developing chick embryos derived from small compared with typical size broiler breeder. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 912-921, 2010.
- TEETER, R. G.; SMITH, M. O.; OWENS, F. N. e ARP, S.C. Chronic heat stress and respiratory alkalosis: occurrence and treatment in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 64, p. 1060-1064, 1985.
- TONA, K.; ONAGBESAN, O.; KETELAERE, B.; DECUYPERE E. e BRUGGEMAN, V. Effects of age of the broiler breeders and egg storage on egg quality, hatchability, chick quality, chick weight, and chick posthatch growth to forty-two days. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 13, p. 10-18, 2004.
- UNI, Z.; FERKET, P.R.; TAKO, E. e KEDAR, O. In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. **Poultry Science**, v. 84, p. 764-770, 2005.
- VAN DER POL, C. W.; VAN ROOVERT-REIJRINK, I. A.; MAATJENS, C. M.; VAN DEN ANKER, I.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Effect of eggshell temperature

throughout incubation on broiler hatchling leg bone development. **Poultry Science**, v. 93, n. 11, p. 2878-2883, 2014.

VIEITES, F. M.; MORAES, G. H. K.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; SANTIAGO, H.; DONZELE, J. L.; VARGAS JUNIOR, J. G. e ATENCIO, A. Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre o desempenho de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.6, p. 2076-2085, 2004.

VIEITES, F. M.; FRAGA, A. L.; MORAES, G. H. K.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; NALON, R. P.; CORRÊA, G. S. S. e NUNES, R.V. Cálcio, fósforo e proteína total no sangue de frangos de corte em função de níveis de balanço eletrolítico da ração. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 887- 894, 2011.

VILA, L. G. **BIOQUÍMICA EM AVES: Revisão de literatura**. Seminário de pesquisa. 56f. Universidade Federal de Goiás, 2013.

WALSTRA, I.; TEN NAPEL, J.; KEMP, B. e VAN DEN BRAND, H. Adaptive response to *Eimeria acervulina* in rearing hens is affected by suboptimal incubation temperature and heat exposure in later life. **Animal**, v. 6, n. 1, p. 137-44, 2012.

WILCOX, J. Low temperature effects on embryonic development and hatch time. **Poultry Science**, v. 75, p. 924-932, 1996.

WILLEMSEN, H.; KAMERS B.; DAHLKE, F.; HAN, H.; SONG, Z.; PIRSARAEI, A.; 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. Inter-relationships of egg size, chick size, posthatching growth and hatchability. **World's Poultry Science Journal**, v. 47, p. 5-20, 1991.

WILSON, L. Tutorial de anestesia da semana oximetria de pulso - parte 1. Disponível em: <<http://tutoriaisdeanestesia.paginas.ufsc.br/files/2013/03/Oximetria-de-pulso-parte-21.pdf>> Acesso em: 23 de mar de 2018.

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.