



ANA PATRÍCIA ALVES LEÃO

**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO
DE OVOS COMO MEDIDA PARA AMENIZAR O
ESTRESSE POR CALOR EM FRANGOS DE CORTE**

**LAVRAS – MG
2022**

ANA PATRÍCIA ALVES LEÃO

**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO DE OVOS COMO MEDIDA
PARA AMENIZAR O ESTRESSE POR CALOR EM FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

Prof. Dr. Édison José Fassani
Profa. Dra. Renata Ribeiro Alvarenga
Coorientadores

**LAVRAS – MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Leão, Ana Patrícia Alves.

Manipulação térmica durante a incubação de ovos como medida para amenizar o estresse por calor em frangos de corte / Ana Patrícia Alves Leão. - 2022.

72 p. : il.

Orientador(a): Márcio Gilberto Zangeronimo.

Coorientador(a): Édison José Fassani, Renata Ribeiro Alvarenga.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Avicultura. 2. Expressão Gênica. 3. Termotolerância. I. Zangeronimo, Márcio Gilberto. II. Fassani, Édison José. III. Alvarenga, Renata Ribeiro. IV. Título.

ANA PATRÍCIA ALVES LEÃO

**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO DE OVOS COMO MEDIDA
PARA AMENIZAR O ESTRESSE POR CALOR EM FRANGOS DE CORTE**

**THERMAL MANIPULATION DURING EGG INCUBATION AS A MEASURE TO
RELIEVE HEAT STRESS IN BROILERS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 29 de julho de 2022.

Dr. Édison José Fassani	UFLA
Dra. Renata Ribeiro Alvarenga	UFLA
Dr. Adriano Geraldo	IFMG
Dr. Itallo Conrado Sousa de Araújo	UFMG

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

**LAVRAS – MG
2022**

Ao meu anjo e melhor amigo Jefferson Gonçalo da Silva (*In memoriam*),
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Autor da vida por me sustentar, capacitar e jamais me abandonar durante esta caminhada. A Nossa Mãe do Céu por sempre interceder por cada um de nós e nos fazer chegar cada vez mais perto do Pai.

Aos meus pais José Carlos e Lucilene por serem o meu porto seguro.

As minhas irmãs Maria Alice e Mariana por serem as minhas melhores amigas e parceiras de vida.

Aos meus pequenos e amados sobrinhos João Guilherme e Miguel por serem luz em nossas vidas.

Ao meu primeiro namorado/melhor amigo Jefferson Gonçalo (*in memoriam*) por ter sonhado todos os meus sonhos comigo e ter me dado forças para realizar cada um deles.

Aos queridos professores Geraldo Lana e Sandra Lana por terem despertado em mim o interesse pela avicultura e serem exemplos de profissionais dedicados.

Ao meu amigo Romilton Ferreira por ser meu braço direito na caminhada acadêmica e na vida.

Ao meu orientador Márcio Zangeronimo por todo conhecimento, estímulo e exemplo profissional.

Aos meus coorientadores professor Édison Fassani e professora Renata Alvarenga por todo conhecimento e sugestões durante a condução dos trabalhos.

Aos colegas do NEPAVI que foram fundamentais para a realização deste trabalho. A amizade de vocês tornou minha caminhada mais leve.

Aos membros da banca pelas valiosas contribuições.

Aos técnicos dos laboratórios da UFLA que me ajudaram na realização das análises, em especial o Sr. William, Juliana, Márcio, Flávio, Isaac, professora Tatianne e também ao Leônidas que me ajudou na condução do experimento. Obrigada por todas as dicas.

A Universidade Federal de Lavras pela possibilidade de realização do meu doutorado. As entidades de financiamento CAPES e CNPq.

Enfim, a todos que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho a minha eterna gratidão.

RESUMO

O estresse por calor é um dos principais problemas enfrentados na produção de frangos de corte. Devido a isso, é necessário o desenvolvimento de estratégias que tornem os frangos mais tolerantes às variações térmicas ambientais. Portanto, objetivou-se avaliar a influência da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros de eclosão, e avaliações pós-eclosão do desempenho produtivo, características de carcaça, vilosidades intestinais, metabolizabilidade de nutrientes e parâmetros imunológicos, bioquímicos e comportamentais de frangos de corte. No 15.º dia de incubação, 864 ovos férteis da linhagem Ross® provenientes de um incubatório comercial foram aleatoriamente distribuídos em quatro incubadoras automáticas comerciais. Os tratamentos foram: Ctrl - controle, ovos mantidos a 37,5°C durante todo o período de incubação; T_{3h} - Aumento da temperatura a 39 °C durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação; T_{12h} - Aumento da temperatura a 39 °C durante 12 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação; e T_{24h} - Aumento da temperatura a 39 °C durante 24 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação. Após a eclosão, as aves foram alojadas no galpão experimental e mantidas até os 42 dias de idade. O aumento da temperatura por 24 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação reduziu ($P<0,05$) o ganho de peso e o consumo de ração aos 42 dias de idade. Aos 24 dias, menor temperatura cloacal foi observada ($P<0,05$) nas aves provenientes de ovos incubados com aumento da temperatura durante 3 horas e maior frequência respiratória aos 31 dias foi observada ($P<0,05$) quando a temperatura foi aumentada durante 3 ou 12 horas. Aos 42 dias, menor hematócrito foi observado ($P<0,05$) quando a temperatura de incubação foi aumentada durante 3 ou 24 horas e maior expressão gênica de *Hsp70* no fígado ($P<0,05$) quando a temperatura foi aumentada durante 3 horas. Para os demais parâmetros não se observou diferença entre os tratamentos experimentais. Conclui-se que a manipulação térmica durante a incubação pode influenciar o desempenho e as características fisiológicas relacionadas à termotolerância das aves. O aumento da temperatura de incubação para 39°C durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação pode ser benéfico a termotolerância das aves, sendo que esse aumento de temperatura mantido por 24h prejudica o desempenho pós eclosão dos frangos.

Palavras-chave: Avicultura. Desempenho. Eclosão. Expressão gênica. Temperatura de incubação. Termotolerância.

ABSTRACT

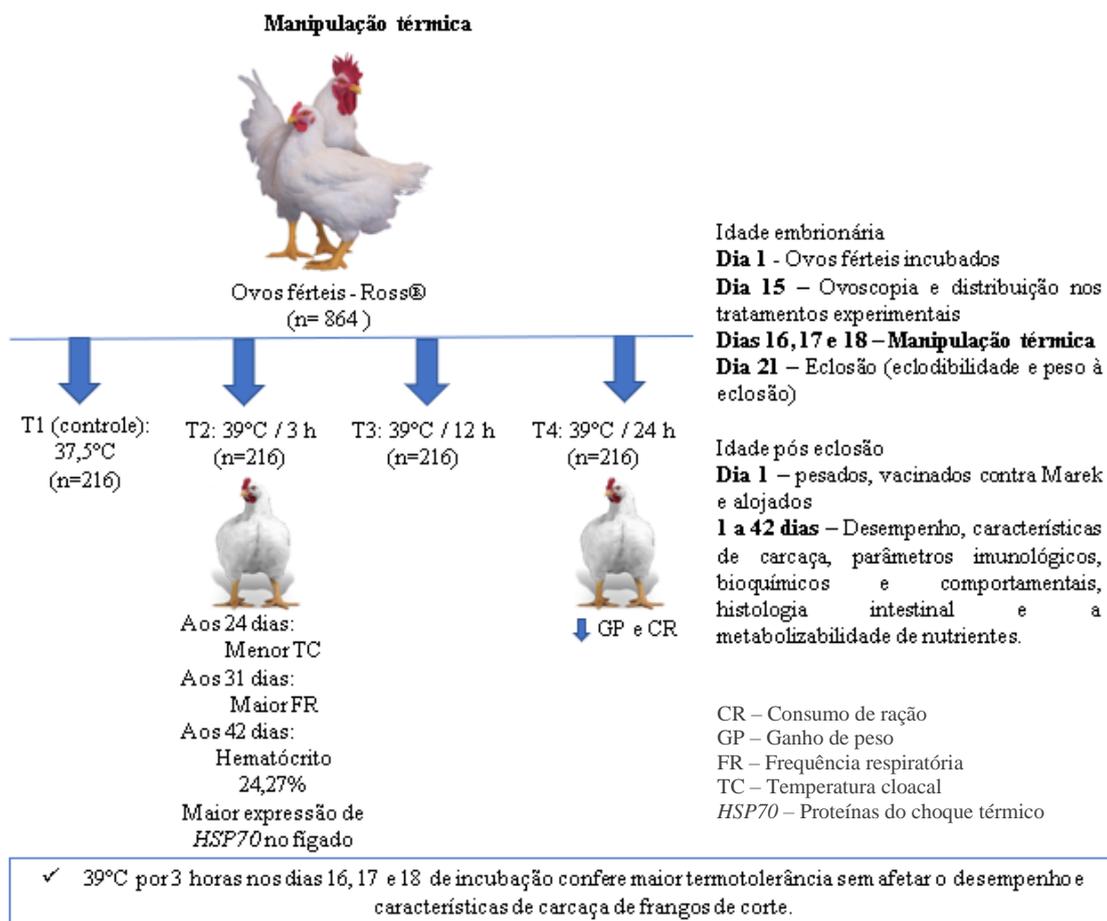
Heat stress is one of the main problems faced in broiler production. Due to this, it is necessary to develop strategies that make chickens more tolerant to environmental temperature variations. Therefore, the objective was to evaluate the influence of thermal manipulation during incubation on hatch parameters, and post-hatch evaluations of productive performance, carcass characteristics, intestinal villi, nutrient metabolizability and immunological, biochemical and behavioral parameters of broilers. On the 15th day of incubation, 864 fertile eggs of the Ross® strain from a commercial hatchery were randomly assigned to four commercial automatic incubators. The treatments were: Ctrl - control, eggs kept at 37.5°C throughout the incubation period; T_{3h} - Increase in temperature to 39°C for 3 hours on days 16, 17 and 18 of incubation; T_{12h} - Increase in temperature to 39°C for 12 hours on days 16, 17 and 18 of incubation; and T_{24h} - Increase in temperature to 39°C for 24 hours on days 16, 17 and 18 of incubation. After hatching, the birds were housed in the experimental shed and kept until 42 days of age. Increasing the temperature for 24 hours on days 16, 17 and 18 of incubation reduced (P<0.05) weight gain and feed intake at 42 days of age. At 24 days, lower cloacal temperature was observed (P<0.05) in birds from eggs incubated with an increase in temperature for 3 hours and a higher respiratory rate at 31 days was observed (P<0.05) when the temperature was increased for 3 or 12 hours. At 42 days, lower hematocrit was observed (P<0.05) when the incubation temperature was increased for 3 or 24 hours and higher gene expression of *Hsp70* in the liver (P<0.05) when the temperature was increased for 3 hours. For the other parameters, no difference was observed between the experimental treatments. It is concluded that thermal manipulation during incubation can influence the performance and physiological characteristics related to the thermotolerance of birds. Increasing the incubation temperature to 39°C for 3 hours on days 16, 17 and 18 of incubation can be beneficial to the thermotolerance of the birds, and this temperature increase maintained for 24 hours impairs the post-hatch performance of the broilers.

Keywords: Poultry. Performance. Hatching. Gene expression. Incubation temperature. Thermotolerance.

Resumo Interpretativo e Resumo Gráfico

Elaborado por **Ana Patrícia Alves Leão** e orientado por **Márcio Gilberto Zangeronimo**

O estresse por calor afeta negativamente a produção avícola, principalmente quando se trata das linhagens de alta produção. Nesse sentido, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de minimizar os efeitos negativos do calor. Dentre as alternativas, a manipulação térmica realizada durante a incubação parece resultar em melhorias na termotolerância dos frangos de corte. De fato, no presente estudo o aumento da temperatura de incubação para 39°C por 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação resultou em melhores respostas dos frangos ao calor durante a criação sem afetar o desempenho e características de carcaça dessas aves.



LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO:

Figura 1	Diagrama de temperatura da zona de conforto térmico. Fonte: Curtis (1983), adaptado por Floriano (2013)	16
Figura 2	Fatores que afetam o desenvolvimento embrionário. Fonte: Adaptado de (Boleli et al., 2016)	28

LISTA DE TABELAS

ARTIGO:

Tabela 1 Composição centesimal das rações para frangos de corte de desempenho médio superior de acordo com as fases de criação.....	67
Tabela 2 Eclodibilidade, mortalidade embrionária, peso à eclosão, parâmetros sanguíneos e peso de órgãos de pintinhos com 1 dia de idade proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	68
Tabela 3 Condições ambientais durante a criação e desempenho de frangos de corte provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	69
Tabela 4 Parâmetros sanguíneos, peso dos órgãos e morfometria intestinal de frangos aos 21 dias de idade provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	70
Tabela 5 Parâmetros sanguíneos, peso relativo dos órgãos, expressão de <i>Heat shock protein 70</i> (<i>Hsp70</i>) no fígado, rendimento de carcaça e cortes de frangos aos 42 dias de idade provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	71
Tabela 6 Frequência respiratória durante o teste de desafio térmico de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	72
Tabela 7 Temperatura cloacal durante o teste de desafio térmico de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	73
Tabela 8 Metabolizabilidade da matéria seca, cinzas, lipídeos e proteína de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.....	74

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	12
1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1. Produção brasileira de carne de frango e os efeitos do estresse por calor... 13	
2.2. Termorregulação em frangos de corte	14
2.3. Desenvolvimento do sistema termorregulador das aves	21
2.4. Condições de incubação	26
2.5. Efeito da manipulação térmica durante a incubação de ovos embrionados	30
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	34
SEGUNDA PARTE	42
ARTIGO: Efeito da manipulação térmica durante o estágio embrionário nas características pós-eclosão de frangos de corte – desempenho e termorregulação	42

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

A cadeia da carne de frango representa um dos principais segmentos da avicultura brasileira, tendo grande importância para a economia do país. No ano de 2021 o Brasil produziu um total de 14,329 milhões de toneladas de carne de frango das quais 32,17% foi exportada (ABPA, 2022). Diversos fatores contribuem para que o Brasil se destaque no cenário mundial da produção de frangos, dentre eles, pode-se destacar o uso de tecnologia em todos os elos da cadeia e, mais especificamente, no manejo dentro do aviário. Nesse sistema, a climatização é prioridade, pois havendo falhas no período de criação a produtividade do lote será afetada.

Temperaturas ambientais elevadas são observadas ao longo do ano nas diferentes regiões do Brasil e essas temperaturas afetam negativamente a produção de aves. Os frangos são animais homeotérmicos, ou seja, sua temperatura corporal deve ser mantida com o mínimo de variação independente das variações ambientais. Desta forma, é perceptível que existe uma faixa de temperatura que favorece as trocas de calor entre a ave e o meio.

Quando a temperatura ambiente se eleva acima da considerada ideal, as aves precisam ativar mecanismos termorregulatórios para dissipar o calor produzido pelo seu metabolismo para o meio. Por serem desprovidas de glândulas sudoríparas e devido à presença de uma espessa camada de penas a principal forma de dissipação de calor, quando fora da zona de termoneutralidade (ou zona de conforto térmico), é a evaporação da água dos pulmões e sacos aéreos que ocorre através do aumento da frequência respiratória (ofegação).

Além de alterações na fisiologia e no metabolismo, o estresse por calor afeta negativamente a produção, afetando desde o consumo de ração até o rendimento de carcaça, bem como aumento da mortalidade das aves, o que acaba comprometendo o retorno econômico para o produtor. Devido aos diversos efeitos negativos do calor sobre a produção muitas pesquisas são desenvolvidas com o intuito de desenvolver aves mais termotolerantes.

Sabe-se que as condições que os ovos são expostos durante o desenvolvimento embrionário, que corresponde a 1/3 da vida dos frangos (considerando um período médio de abate aos 42 dias de idade), tem efeito direto sobre o desempenho e características dos animais na fase e criação. Pesquisas mostram que a manipulação térmica (MT) durante a

incubação pode resultar em aves mais tolerantes ao calor durante a fase de criação. No entanto ainda é preciso estabelecer em qual idade embrionária, duração e temperatura da MT é mais adequada para a obtenção de frangos mais resistentes ao calor. Diante do exposto, objetivou-se avaliar se o aumento da temperatura durante a fase final de incubação de ovos férteis de matrizes de corte pode resultar em aves mais termotolerantes com base em parâmetros de desempenho, metabolismo, alterações comportamentais e fisiológicas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Produção brasileira de carne de frango e os efeitos do estresse por calor

O Brasil é o terceiro maior produtor de carne de frangos do mundo e ocupa a primeira posição na exportação, de modo que no ano de 2021 a produção brasileira foi de 14,329 milhões de toneladas das quais 32,17% foi exportada (4.610 mil toneladas) (ABPA, 2022). É evidente a importância socioeconômica da cadeia da carne de frango para o Brasil, visto que a partir dela tem-se a geração de muitos empregos diretos e indiretos. O interesse por esse segmento se deve ao bom desempenho econômico e lucros que despertam o interesse dos produtores rurais, sendo a avicultura considerada um investimento seguro (NAVAS et al., 2016).

A região sul do país representa mais de 60% da produção nacional (35,75% - Paraná; 14,88% - Santa Catarina; e 14,02% - Rio Grande do Sul). Dentre os fatores que contribuíram para o destaque da avicultura nessa região têm-se: o modelo de produção integrado, o tamanho do mercado, inovações na produção, abate e processamento e estrutura portuária (COSTA, GARCIA E BRENE, 2015). De modo geral, o estabelecimento da avicultura de corte como uma importante atividade econômica para o Brasil, se deve aos avanços em pesquisas na área de melhoramento genético, manejo, sanidade, ambiência e nutrição.

No Brasil as temperaturas são elevadas, durante a maior parte do ano, nas diferentes regiões do país. Com isso, muitas vezes, os animais são criados em condições fora da sua faixa de conforto térmico, o que leva a redução dos índices produtivos e aumento da mortalidade, acarretando em prejuízos ao produtor (ABREU; ABREU, 2011). Por isso, tem-se intensificado, em todo o Brasil, a utilização de aviários cada vez menos influenciados pelas condições climáticas externas. E não só a temperatura, mas sua combinação com os demais fatores térmicos ambientais - umidade, velocidade do ar

e radiação, afetam diretamente as aves, visto que estes têm efeito na manutenção da homeotermia dos animais. Animais homeotérmicos mantêm a sua temperatura corporal dentro de uma estreita faixa de variação independente da condição ambiental (NAVAS et al., 2016).

As condições ambientais podem ser mais ou menos favoráveis as trocas de calor, uma vez que a produção de calor é constante no organismo animal. O ambiente em que os frangos são criados tem papel fundamental na avicultura moderna, esta que cada vez mais busca alcançar alta produtividade, em espaço físico e tempo relativamente reduzidos. Quando mantidos em ambientes cujas temperaturas estão acima do conforto térmico os animais precisam ativar mecanismos termorregulatórios para a dissipação do calor. Desta forma, além de alterações no comportamento, tem-se também mudanças fisiológicas (MUNS et al., 2016). Fisiologicamente as aves respondem ao estresse por calor aumentando os mecanismos de dissipação de calor e diminuindo a produção de calor metabólico. Isso acaba resultando em um menor ganho de peso, devido a um maior gasto de energia para dissipação do calor (NAVAS et al., 2016).

Os mecanismos termorregulatórios são específicos das espécies e, portanto, a magnitude da redução no desempenho da produção também difere entre elas (AFSAL et al., 2018). Os frangos de corte quando são criados em condições ambientais com altas temperaturas, apresentam redução no consumo de ração e como consequência têm-se os prejuízos na taxa de crescimento, rendimento de carcaça e qualidade da carne (NAVAS et al., 2016). Além disso, os custos de produção são aumentados devido aos gastos com equipamentos e instalações necessários para a obtenção de um ambiente adequado para a criação. Por fim, o estresse por calor favorece o surgimento de doenças devido a uma queda na imunidade, elevação da frequência respiratória que pode culminar em hipertermia, que são exemplos de fatores que podem levar a mortalidade das aves.

2.2. Termorregulação em frangos de corte

As aves são animais homeotérmicos, e estas mantêm sua temperatura corporal relativamente constante, entre 41 e 42°C (WELKER et al., 2008), independentemente da temperatura ambiental. Para que isso seja possível, os animais estão em constante troca de calor com o meio, de modo que deve haver um equilíbrio entre o calor produzido e dissipado. A percepção da temperatura ambiente é realizada por meio de termorreceptores periféricos dispostos ao longo do corpo das aves, assim, informações das condições ambientais são processadas pelo hipotálamo, que funciona como um centro

termorregulador e como resposta tem-se ativação de mecanismos termorregulatórios seja para aumento na produção de calor (em condições de frio) ou de dissipação (em condições de calor) (TAKAHASHI et al., 2009).

A eficiência nas trocas de calor é influenciada pelo meio no qual o animal está sendo mantido, de modo que essas trocas podem ser dificultadas ou facilitadas. No entanto, de modo geral, têm-se quatro meios pelos quais o calor é transferido entre as aves e o ambiente: condução, convecção, radiação e evaporação (TAKAHASHI et al., 2009).

2.2.1 Zona de Conforto Térmico

A zona de conforto térmico é específica para cada animal e pode ser caracterizada como sendo o conjunto de variáveis térmicas ambientais onde o animal apresenta temperatura corporal normal, sem precisar de muito esforço do sistema termorregulador e não existe sensação de frio ou calor (NAVAS et al., 2016). Fora dessa zona de conforto o animal passa a utilizar de mecanismos na termorregulação para tentar manter sua temperatura corporal ideal.

Se o ambiente apresenta temperatura crítica inferior ou superior àquelas que são adequadas para o organismo animal ocorre o que se chama de estresse térmico. Quando um animal é submetido a um determinado ambiente, as trocas térmicas que realiza com o meio dependem da situação em que ambos se encontram (GOMES et al., 2012). Sob esta perspectiva, para se obter melhor desempenho produtivo na avicultura, é preciso ter atenção quanto a interação entre o animal e o ambiente, a fim de que o custo energético dos ajustes fisiológicos sejam os menores possíveis.

A zona de conforto térmico (termoneutra) é a faixa de temperatura ambiente na qual a taxa metabólica é mínima e a homeotermia é mantida com menor gasto energético (FURLAN, 2006). Esta zona apresenta os limites de temperaturas nos quais o indivíduo expressa todo seu potencial genético para a produção e reprodução. Quando o animal está em sua zona de conforto térmico ocorre um equilíbrio entre o calor produzido e dissipado (Figura 1), de modo que sua temperatura corporal permanece constante (FLORIANO, 2013). Um aumento da temperatura corporal acima da faixa regulada pode iniciar uma cascata irreversível de eventos termorregulatórios potencialmente letais (PIESTUN et al., 2008).

A faixa de temperatura considerada ideal depende da idade das aves, do tamanho, estágio produtivo dos animais e das diferentes instalações (ABREU; ABREU, 2011). Deste modo, a temperatura ambiente ideal para frangos de corte em sua primeira semana

de vida é entre 32 e 35°C, no entanto, próximo a idade de abate essa temperatura deve ser reduzida para 20°C. A sensibilidade térmica a altas temperaturas aumenta com o peso vivo do animal (LIN et al., 2005). A maior vulnerabilidade das aves mais velhas ao aumento da temperatura ambiente, em relação aquelas mais jovens, ocorre pelo aumento da massa corporal e o desenvolvimento de camadas de penas, assim como um aumento da taxa metabólica que resulta em maior incremento calórico (LOYAU et al., 2013).

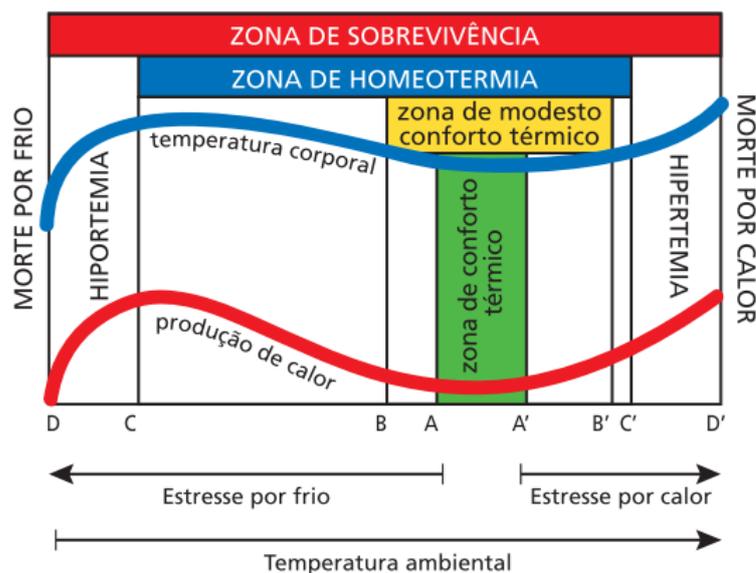


Figura 1. Diagrama de temperatura da zona de conforto térmico. Fonte: Floriano (2013) adaptado de Curtis (1983).

Um ambiente considerado confortável para aves adultas deve apresentar temperaturas entre 16 e 23°C e umidade relativa do ar de 50 a 70% (TINÔCO, 1998). E para Dionello et al. (2002), o máximo desenvolvimento das aves é alcançado em temperaturas entre 18 e 20°C. Isso deixa claro que a zona de conforto térmico é variável, segundo Oliveira et al. (2006) pintos de 1 a 7 dias de vida situam-se numa zona termoneutra entre 31 a 33°C diminuindo para 21 a 23°C na idade de 35 a 42 dias, considerando umidade relativa do ar entre 65 a 70%.

O efeito do estresse térmico pelo calor em frangos torna-se mais prejudicial após a terceira semana de vida, ocasião em que as aves estão em crescimento expressivo, ocorrendo, também, diminuição no desempenho, piora na conversão alimentar e aumento na mortalidade (TAKAHASHI et al., 2009). Portanto, as variações de uma combinação de fatores ambientais (luz solar, irradiação térmica e temperatura do ar, umidade e movimento do ar) bem como características do animal (espécies, taxa de metabolismo e mecanismos de termorregulação) vão estar influenciando no equilíbrio necessário para permitir as trocas de calor de forma eficiente (LARA; ROSTAGNO, 2013).

Para o animal manter sua homeotermia é preciso que haja um equilíbrio entre produção, ganho e perda de calor, e isso tem relação direta com o meio externo. As aves dispõem de um centro termorregulador localizado no hipotálamo, capaz de controlar a temperatura corporal, independente das variações térmicas do ambiente externo (MACARI; FURLAN, 2001). Deste modo, a manutenção da temperatura corporal ocorre por meio de mecanismos fisiológicos e respostas comportamentais mediante a produção (termogênese) e liberação de calor (termólise).

Pode-se destacar três mecanismos envolvidos na termogênese e na termólise: comportamentais - quando os animais alteram seu comportamento de modo a aumentar ou diminuir a exposição térmica oriunda do ambiente; autônomos - quando envolve o controle de várias funções orgânicas, por exemplo, aumento do fluxo sanguíneo; adaptativos - os quais abrangem alterações a médio ou longo prazo de certas características, como alterações dos níveis hormonais (SILVA, 2000).

2.2.2 Detecção de calor

A termorregulação é o processo de controle da temperatura corporal de um animal em um ambiente qualquer, quando há um gradiente de temperatura (TAKAHASHI et al., 2009). Os mecanismos que regulam a temperatura do corpo do animal funcionam através dos centros termorreguladores localizados no hipotálamo, auxiliados por detectores de temperatura que são denominados de termoreceptores (NAVAS et al., 2016). Os centros termorregulatórios do hipotálamo integram entradas térmicas do sangue, cérebro e termoreceptores na medula espinhal, tecidos profundos e superfície da pele (CAMPOS et al., 2017).

Existem três tipos de neurônios termossensíveis: 1) aqueles que monitoram a temperatura central, situados na área pré-óptica do hipotálamo, os quais dão início aos processos de vasodilatação periférica; 2) os situados na pele, que são receptores cutâneos para o frio e para o calor; e 3) os que estão situados em vários locais das vísceras (TAKAHASHI et al., 2009). Os impulsos dos neurônios provenientes dos termoreceptores são transmitidos para a medula, e através do hipotálamo, principal órgão termorregulador do organismo, ocorre ativação hormonal e do sistema nervoso autônomo (NAVAS et al., 2016).

Existe um grande número de neurônios sensíveis ao calor e ao frio no hipotálamo que servem para o controle da temperatura corporal. Nesse órgão pode-se observar um aumento na frequência de sua descarga quando a temperatura aumenta (neurônios

sensíveis ao calor) ou diminui (neurônios sensíveis ao frio) (CAMARGO; FURLAN, 2011). Quando a atividade dos neurônios responsáveis pelo calor e frio se igualam, a produção será igual à dissipação de calor, e a temperatura corporal será mantida estável (TAKAHASHI et al., 2009).

O sistema de termorregulação em aves é baseado em quatro diferentes unidades funcionais: o receptor, que percebe os estímulos; o controlador, que são os mecanismos de termorregulação; o efetor, que induz as respostas para a manutenção da temperatura corporal, e o passivo, quando o animal está em homeotermia (MACARI; FURLAN, 2001). Quando as células receptoras periféricas sentem o calor, esta sensação é transmitida na parte anterior do hipotálamo, e este comanda a dissipação de calor por vasodilatação, aumento da frequência respiratória e mudanças comportamentais. Já a sensação de frio, é encaminhada para a porção posterior do hipotálamo, desencadeando a conservação e produção de calor, através da vasoconstrição, tremores, oxidação do tecido adiposo e alterações comportamentais (TAKAHASHI et al., 2009).

2.2.3 Mecanismos de troca de calor

Para manter a sua temperatura interna em equilíbrio, as aves precisam eliminar o calor produzido pelo seu organismo durante os processos metabólicos, essa dissipação de calor acontece por meio dos mecanismos da termorregulação (FLORIANO, 2013). Sendo assim, as aves possuem mecanismos básicos para trocar calor com o ambiente, estes mecanismos podem ser divididos em duas categorias: não evaporativos ou sensíveis e evaporativos ou latentes (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008).

Os meios sensíveis incluem condução, convecção e radiação e requerem um diferencial de temperatura entre o animal e o meio ambiente. Por definição, condução é a transferência de energia térmica entre duas superfícies, por meio de energia cinética da movimentação das moléculas ou pela movimentação de elétrons livres. Esse fluxo passa das moléculas de alta energia para as de baixa, por isso é necessário haver contato direto (TAKAHASHI et al., 2009). A convecção é a transferência de energia que ocorre devido à movimentação de ar, cujas moléculas passam de corpos mais quentes para os mais frios, portanto os fatores nesse processo são a movimentação do ar e a extensão da superfície corporal (TAKAHASHI et al., 2009). A radiação é a transferência de energia térmica de um corpo para o outro, através de ondas eletromagnéticas (TAKAHASHI et al., 2009).

Os meios latentes incluem a dissipação de calor por evaporação de água por respiração e sudorese. Tem-se que a evaporação é a transferência de calor pela passagem

das moléculas de água ao ar, sob a forma de vapor. Em temperaturas elevadas, a maior parte da dissipação de calor ocorre por esse meio (TAKAHASHI et al., 2009). Principalmente pela ausência de glândulas sudoríparas, as aves não tem a capacidade de sudação, desta forma, liberam o excesso de calor pela respiração e pelas superfícies desprovidas de penas como cristas, barbelas e outras áreas (GOMES et al., 2012).

Durante a exposição ao calor, o sistema termorregulador depende do sistema cardiovascular para redistribuir o fluxo sanguíneo de forma que tecidos e órgãos importantes para a dissipação de calor recebam um suprimento aumentado (YAHAV, 2009). Assim, o aumento na temperatura corporal das aves é resultado direto de um desbalanceamento entre dissipação de calor por meios evaporativos e sensíveis e a produção de calor (WELKER et al., 2008). Uma das respostas imediatas ao estresse térmico por calor é o desenvolvimento da hipertermia, que inicia a redistribuição do fluxo sanguíneo a fim de transportar calor das vísceras para a periferia. Posteriormente, a elevação da temperatura da pele permite a eficiente dissipação de calor por radiação, convecção e condução dependendo do gradiente entre a temperatura da superfície e a temperatura ambiente (YAHAV, 2009). Por isso, a vasodilatação periférica se destaca, entre as respostas fisiológicas compensatórias das aves (MARTINEZ, 2008).

A temperatura da superfície das aves é determinada pela perda de calor do núcleo do corpo para a pele. Além disso, essa temperatura é modulada pela taxa de perda de calor, que depende do fluxo sanguíneo de dentro para fora do corpo (LIN et al., 2005). Nas aves as variações na temperatura da superfície corporal estão diretamente relacionadas ao fluxo sanguíneo periférico, indicando que os animais estão tentando ativamente manter a temperatura corporal central (NASCIMENTO et al., 2013).

Uma vez que a produção de calor no animal é constante, para evitar a elevação da temperatura corporal, o animal e o meio estão em constantes trocas, sendo que em condições termoneutras a temperatura corporal pode ser regulada apenas por mecanismos vasomotores (convecção e irradiação) (TAKAHASHI et al., 2009). A perda sensível de calor na zona termoneutra é o mecanismo predominante para manter a temperatura central (CÂNDIDO et al., 2020). Especificamente, os vasos sanguíneos superficiais da crista e barbela vasodilatam quando em condições de ambientes quentes, permitindo a transferência de calor do frango para o meio ambiente através da perda de calor por condução (HESTER et al., 2015). Tem-se então que um dos principais mecanismos para diminuir a temperatura corporal é a vasodilatação, que aumenta o fluxo sanguíneo para a pele, movendo o calor das vísceras para a periferia (NASCIMENTO et al., 2013).

Ressalta-se que não só a temperatura do ar, mas outros fatores ambientais como umidade e movimentação do ar, afetam diretamente as aves, pois comprometem a manutenção da homeotermia, de modo que a combinação desses fatores está diretamente relacionada com a eficiência dos mecanismos termorregulatórios. Para facilitar a troca de calor por meios sensíveis as aves adotam comportamentos diferenciados, elas abrem as asas mantendo-as afastadas do corpo, aumentando sua área de superfície corporal e diminuem sua movimentação (CURTO et al., 2007). As aves submetidas a condições de estresse por calor passam menos tempo se alimentando, mais tempo bebendo e ofegando, além de mais tempo com as asas elevadas, menos tempo em movimento ou caminhando e mais tempo em repouso (MACK et al., 2013).

Quando a temperatura ambiente se encontra entre 28°C e 35°C, as trocas de calor por radiação, condução e convecção são normalmente adequadas para manter a temperatura corporal. No entanto, com o aumento da temperatura do ar, se aproximando da temperatura da ave de 41°C, a eficiência da perda de calor por processos sensíveis diminui (FLORIANO, 2013). Assim, é necessário fazer uso de outras vias, seja a perda de calor por evaporação ou alterações nas taxas metabólicas por alterações hormonais, por exemplo alterações na concentração de hormônios tireoidianos (CÂNDIDO et al., 2020). Não só os mecanismos de perda de calor são ativados, mas ocorre uma modulação da produção de calor. A termogênese é regulada pelos hormônios tireoidianos e pelo sistema simpático neuronal, assim tem-se uma diminuição destes em resposta à duração e ao nível de estresse térmico, para impedir o acúmulo excessivo de calor no corpo (SILVA, 2000).

Desta forma, quando ocorre um aumento da temperatura ambiente e a dissipação de calor por meios não- evaporativos é dificultada, tem-se um aumento na dissipação de calor pela evaporação de água que nas aves ocorre pelo aumento na frequência respiratória. As galinhas podem diminuir a temperatura do corpo através da perda de água pelo aumento da taxa respiratória, esse que é um dos processos dominantes para manter a temperatura corporal quando se está fora da zona de termoneutralidade (SLAWINSKA et al., 2020). No entanto, a eficiência desse mecanismo vai depender da umidade relativa do ar (UR), pois quanto maior for a pressão de vapor do ambiente, maior é a dificuldade de liberação de calor por meios evaporativos (MOURA, 2001). É recomendado níveis de UR relativamente inferiores a 70% (ABREU; ABREU, 2011).

A ofegação ajuda na eliminação do calor interno por evaporação, porém a hiperventilação pulmonar provoca perdas significativas de CO₂, causando desequilíbrio

acidobásico sanguíneo das aves que, dependendo do tempo de exposição ao estresse, podem vir a óbito (TAKAHASHI et al., 2009).

2.3. Desenvolvimento do sistema termorregulador das aves

Os embriões das aves se desenvolvem quase que completamente fora do ambiente materno, no entanto, alguns fatores são necessários para que esse desenvolvimento ocorra de forma adequada. A temperatura a qual o embrião será exposto é considerada o principal fator que tem influência direta nesse desenvolvimento. Na natureza esse ambiente é garantido pelo aquecimento dos ovos no ninho, no entanto, com a produção de aves de interesse comercial, o ninho passou a ser substituído pelas incubadoras (FRENCH, 1997).

Embora em condições naturais possa ocorrer oscilação no gradiente de temperatura dentro do ovo, na incubação artificial isso praticamente não ocorre, ou essa variação é mínima, uma vez que a temperatura ambiente é constantemente monitorada. No entanto, em ambas as condições, aparentemente, os mecanismos termorregulatórios não são necessários aos embriões das aves. De modo que, a sobrevivência dos embriões “jovens” depende da tolerância do embrião ao aumento ou diminuição da temperatura ambiente, mais do que da capacidade deste de aumentar a sua produção ou perda de calor (WHITTOW; TAZAWA, 1991).

Durante os estágios finais da incubação, os mecanismos termorregulatórios já possuem todos os pré-requisitos para atuarem de forma apropriada frente as variações ambientais. Mecanismos como produção de calor, conservação de calor, dissipação de calor e mecanismos nervosos centrais de termorregulação estão bem desenvolvidos (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011). Os mecanismos termorregulatórios observados nos embriões incluem a vasodilatação periférica, a respiração ofegante e a redução do metabolismo das aves.

O desenvolvimento da termorregulação em aves, como os frangos, é caracterizada por três fases: fase pré-natal; fase pós-natal inicial, que termina por volta dos 10 dias de idade; e fase de homeotermia plena, que se inicia a partir dos 10 dias de vida (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2002). Segundo Baarendse et al. (2007) essa ontogenia é diferente entre as espécies aviárias, embora, em todas elas os processos neurais e endocrinológicos estejam envolvidos. De acordo com a condição ambiental, o sistema termorregulador emprega outros sistemas do corpo (por exemplo, circulação sanguínea, respiração e metabolismo) e integra suas atividades em reações apropriadas e coordenadas para o controle da temperatura corporal (TZSCHENTKE, 2008). O

conhecimento sobre como se dá o desenvolvimento da termorregulação é determinante para a compreensão de como o ambiente externo pode influenciar nas respostas das aves às variações térmicas.

As aves de desenvolvimento precoce ativam os mecanismos do sistema nervoso central e periférico da termorregulação muito cedo durante o desenvolvimento embrionário (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003). Observa-se que nos embriões de galinha, o diencéfalo começa a se diferenciar no terceiro dia de incubação (BAARENDSE et al., 2007) sendo de grande importância, do ponto de vista termorregulatório, pois é a partir deste que o hipotálamo se desenvolve. Desse modo, o desenvolvimento de mecanismos nervosos centrais (termossensibilidade hipotalâmica neuronal) e mecanismos periféricos de termorregulação são desenvolvidos precocemente durante a ontogenia pré-natal e apresentam características fundamentais semelhantes às experimentadas na fase pós-natal (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011).

O período em que o centro termorregulador no cérebro se desenvolve e amadurece é entre 6 e 16 dias de incubação (PIESTUN et al., 2008). O aumento das habilidades termorregulatórias durante a ontogenia são devidas à maturação dos centros cerebrais para termorregulação, de modo que existe uma alteração na termossensibilidade do hipotálamo (TZSCHENTKE; BASTA, 2002). Embriões de galinhas são considerados inicialmente pecilotérmicos mudando para uma condição homeotérmica durante a incubação (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2002). Essa é uma importante transição fisiológica que começa nos últimos 20% da incubação (BLACK; BURGGREN, 2004).

No entanto, embora as estruturas cerebrais básicas para a termorregulação sejam formadas durante o período embrionário inicial, não existe uma indicação direta de sua funcionalidade na termorregulação (BAARENDSE et al., 2007). As respostas termorregulatórias que ocorrem durante a fase pré-natal são caracterizadas por uma baixa eficiência das reações endotérmica, de modo que o embrião não é capaz de estabilizar sua temperatura corporal quando exposto à um gradiente de temperatura (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2002). Ou seja, nessa fase embora todos elementos do controle termorregulador sejam funcionais, sua eficiência é baixa. Fica compreendido então, que os embriões de galinhas no início do período embrionário são muito suscetíveis às variações ambientais, de modo que, qualquer alteração na temperatura ambiente pode desencadear uma série de reações que irão afetar o crescimento e maturação embrionária.

2.3.1 Mecanismos termorregulatórios

Como se observa uma baixa eficiência no sistema termorregulador dos embriões aviários, argumenta-se que esses mecanismos não são necessários para a sobrevivência destes, uma vez que, os embriões são mantidos aquecidos durante a maior parte do tempo (WHITTOW; TAZAWA, 1991; NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2002). Whittow e Tazawa (1991) destacam a existência de uma alta tolerância térmica dos embriões que os protege de distúrbios causados por superaquecimento e resfriamento.

A determinação do sistema termorregulador, em espécies avícolas, ocorre no final do período pré-natal, bem como durante o desenvolvimento pós-natal precoce (LOH et al., 2004). Embora não sejam necessários durante a fase pré-natal, eles são um pré-requisito para os processos de desenvolvimento que ocorrem durante o início do período pós-natal. Desta forma, um animal homeotérmico deve ser capaz de regular a sua produção endógena de calor, bem como a dissipação de calor, para que seja possível manter a temperatura corporal estável diante de variações da temperatura ambiente (BLACK; BURGGREN, 2004).

Em seus estudos, Nichelmann e Tzschentke (2002) consideram que uma diminuição da temperatura ambiente geralmente resulta em uma diminuição da temperatura do líquido alantoide, da temperatura do cólon e da produção de calor em embriões de galinhas. Assim, aves precoces, apresentam respostas termorregulatórias satisfatórias ao resfriamento na incubadora e mantêm a homeotermia em temperaturas corporais inferiores às dos adultos, no início da vida pós-eclosão (McNABB, 2006).

2.3.2 Mecanismos de produção de calor

Embriões de galinhas já mostram respostas endotérmicas a partir dos 14 dias de incubação (NICHELMANN, 2004). No entanto, em seus estudos, Lourens et al. (2006) verificaram que a partir do 8º dia de incubação, com uma diminuição de 0,3°C na temperatura da incubadora os embriões reagiram com um aumento de curto prazo (<16 min) na produção de calor. Encontraram ainda uma diminuição de curto prazo na produção de calor após o aumento da temperatura da incubadora em 0,3°C. Esse aumento da produção de calor pode ser o resultado do aumento da temperatura corporal, devido a um aumento no ponto de ajuste termorregulatório (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011). Desta forma, é possível perceber que desde muito cedo durante a incubação, os embriões são responsivos às alterações de temperatura o que leva a rápidas reações endotérmicas.

No entanto, Tazawa et al. (2001) destacaram a reduzida capacidade de controle termorregulatório em embriões com 11 e 12 dias de idade. Esses autores observaram que quando são expostos a temperaturas baixas os embriões nessa idade não conseguiram manter a temperatura do ovo em uma faixa ótima. Os embriões das aves não conseguem manter a sua temperatura corporal em temperaturas ambientes baixas, no entanto o fato de que o embrião responde ao frio com uma mudança apropriada na produção de calor e consumo de oxigênio, é o primeiro passo para a termorregulação (WHITTOW; TAZAWA, 1991). Nichelmann e Tzschentke (2002) explicam que a tolerância apresentada pelos embriões a baixas temperaturas corporais parece fazer parte de sua estratégia térmica para economizar energia.

Em condições normais de incubação, essas variações na temperatura como as aplicadas nos ensaios de manipulação térmica não acontecem, de modo que o aumento de produção de calor observada no período final da incubação é provocado pelo avanço da idade dos embriões. Assim, pode-se inferir que as respostas endotérmicas durante a fase pré-natal têm um efeito final, mas não imediato, sobre a eficiência da termorregulação (NICHELMANN, 2004). Entre os dias 19 e 20 os embriões de galinhas alcançam o platô da produção de calor o que resulta num aumento da temperatura corporal dos embriões. Assim, o aumento na temperatura corporal talvez resulte do aumento na taxa metabólica e aumento no consumo de oxigênio obviamente devido ao aumento do crescimento do embrião (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003).

2.3.3 Mecanismos de dissipação de calor

Em contraste com a baixa eficiência nas reações endotérmicas durante o desenvolvimento embrionário, os eficientes mecanismos pré-natais de perda de calor aparentam ser maiores que os mecanismos de produção de calor (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011). A eficiência dos mecanismos de perda de calor, como as alterações no fluxo sanguíneo na membrana corioalantóide e mecanismos evaporativos de perda de calor, como a respiração são muito restritos, embora tenham grande representação na termorregulação dos embriões (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003).

2.3.3.1 Alterações no fluxo sanguíneo da membrana corioalantóide:

Por volta do 12º dia de incubação tem-se a conclusão do desenvolvimento da membrana corioalantóide, de forma que o embrião se torna capaz de redistribuir o calor por sua circulação e regular sua temperatura dentro de certos limites (MOLENAAR et

al., 2010). Com isso, no terço final de incubação os embriões de aves de desenvolvimento precoce são capazes de reagir a mudanças na temperatura de incubação por meio de alterações no fluxo sanguíneo dessa membrana (TZSCHENTKE, 2008). Um aumento na temperatura de incubação leva a um aumento na temperatura do fluido alantoide, e tem-se apenas uma pequena tendência para a diminuição na produção de calor. Essa diminuição pode ser um mecanismo de defesa, uma forma de termorregulação química secundária que inibe a produção de calor durante a hipertermia (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011).

Foi relatado por Nichelmann e Tzschentke (2003) que o fluxo sanguíneo na membrana corioalantóide aumenta ou diminui durante o aquecimento ou o esfriamento entre o 14º e o 18º dia (reação não adaptativa). Após esse período, a reação se torna adaptativa, o que significa que no 19º e 20º dia de incubação, o fluxo sanguíneo na membrana aumenta durante o aquecimento e diminui durante o resfriamento. A vasodilatação e vasoconstrição são mecanismos termorregulatórios autonômicos que contribuem para a proteção do embrião à hipertermia ou hipotermia (YOUSSEF et al., 2014).

O aumento da temperatura do fluido alantoide, após um aumento da temperatura ambiente (incubadora), pode ser causada pelo aumento no fluxo sanguíneo na membrana corioalantóide. De modo que, mais calor é transportado do embrião para a membrana do ovo levando ao aumento da perda de calor não evaporativo (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003). O embrião é capaz de aumentar a dissipação de calor por dilatação vascular e pode manter a temperatura corporal constante por um tempo limitado (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011). Assim, no final da fase de platô, o fluxo sanguíneo aumenta com o aumento da temperatura de incubação ou diminui com a diminuição da temperatura ambiente (TZSCHENTKE, 2008).

Alterações inespecíficas no fluxo sanguíneo da membrana corioalantóide devido a mudanças na temperatura de incubação já foram encontradas durante o último terço do tempo de incubação (TZSCHENTKE, 2008). Em embriões de frango após bicagem interna, por exemplo, a temperatura do corpo permanece constante por mais de 40 minutos após o início do aumento da temperatura ambiente até 40,5°C, ativando o mecanismo evaporativo de dissipação de calor (TZSCHENTKE; BASTA, 2002).

2.3.3.2 *Mudanças na respiração:*

No final da incubação, os mecanismos de dissipação de calor (fluxo sanguíneo e respiração) no embrião de aves parecem ser mais eficaz em relação ao controle da temperatura corporal do que os mecanismos de produção de calor. Entretanto, ao final deste período ambos mecanismos mostram características semelhantes às aves pós-natal (TZSCHENTKE, 2008). É possível verificar a ocorrência de reações ofegantes no final da fase de incubação, quando os embriões tem sua temperatura corporal aumentada (TZSCHENTKE; RUMPF, 2011). A taxa respiratória dos embriões de aves antes da bicagem externa pode aumentar com o aumento da temperatura de incubação e algumas respostas comportamentais (acústicas) podem ser usadas em algumas espécies de aves para proteção de reações endotérmicas (NICHELMANN; TZSCHENTKE, 2003).

2.4. Condições de incubação

Dentre os setores da produção avícola, a fase de incubação dos ovos é um período crítico da criação, de modo que o ambiente de incubação tem efeito direto sobre a eclodibilidade, qualidade do pinto e no desempenho final da criação. A duração da incubação de ovos de galinha é em torno de 21 dias (TONG et al., 2013), e considerando uma idade de abate de 42 dias, 33,3% da vida do frango ocorre dentro do ovo. Desse modo, o período de incubação é crucial para o adequado desenvolvimento das aves, uma vez que é durante esse período que ocorre a maior parte do desenvolvimento embrionário das mesmas. Sendo assim, cuidados nessa fase irão otimizar o funcionamento do incubatório bem como trarão benefícios para o produtor.

Fatores inerentes às atividades do incubatório, tais como: manejo e estocagem dos ovos, manejo de incubadora, nascedouros e condições de manejo do nascimento até a entrega dos pintos na granja; requerem atenção, de modo que sejam padronizadas dentro do sistema de controle, permitindo modificações quando necessário, para manter a qualidade dos pintinhos de um dia (CASTRO, 1994; BARBOSA et al., 2013). Tem-se então que nos incubatórios o objetivo principal é maximizar a eclodibilidade com um grande número de pintos vendáveis (IPEK; SOZCU, 2017).

Devido à crescente demanda por produtos de origem avícola, a expansão desse mercado, associado com a exigência de que as aves tenham o máximo desempenho e rendimento, faz com que a produção industrial de pintinhos de um dia seja de suma importância para o desenvolvimento da moderna indústria avícola (LAUVERS;

FERREIRA, 2011). Desta forma, a principal meta do incubatório é transformar biologicamente ovos férteis em pintos de um dia no volume, prazo e qualidade desejados, minimizando a incidência de anormalidades e contaminação, de forma a atender às necessidades e expectativas da produção avícola, ao menor custo (TONA et al., 2003).

Dentre as definições de incubação, tem-se que essa é o processo de aplicação de calor nos ovos, sendo o controle desse processo fundamental para a eclosão bem-sucedida (FRENCH, 2009). Ou seja, a incubação é o processo de desenvolvimento do embrião até a eclosão do pinto sob específicas condições de temperatura e umidade (VIOLA et al., 2019). Os pintos de um dia são um importante insumo inicial para granjas e o produto final do incubatório de aves (DECUYPERE; BRUGGEMAN, 2007). A incubação de ovos férteis é o alicerce da cadeia produtiva de aves, pois é dela que se obtém o produto que será explorado no campo, assim seus resultados podem comprometer toda a rentabilidade do segmento (SANTANA et al., 2013).

O manejo de incubação deve ser realizado de maneira rígida e cuidadosa, visto que o êxito da cadeia avícola está diretamente relacionado ao bom desempenho da incubação de ovos (OLIVEIRA; SANTOS, 2018). Para se desenvolver e manter suas funções metabólicas os embriões das aves necessitam de uma fonte de calor, de modo que em condições comerciais esse calor é fornecido pela incubadora. A grande maioria dos ovos de aves é artificialmente incubada em máquinas que devem ser projetadas para controlar com precisão a temperatura interna, para garantir que a temperatura do embrião em desenvolvimento se desvie o mínimo possível do ótimo (FRENCH, 1997).

O desenvolvimento de um embrião durante a incubação sofre influência das condições ambientais - temperatura de incubação, composição do ar e umidade relativa (OLOJEDE et al., 2016). Sendo que a temperatura é considerada o fator mais importante (FRENCH, 1997) pois ela afeta o desenvolvimento embrionário, a eclodibilidade e o desempenho pós-incubação (WILSON, 1990). As trocas físicas que ocorrem entre o ovo e o ambiente externo (ovo e ar da incubadora) incluem transferência de calor e troca de O₂, CO₂ e água. Estes são influenciados pelas características do ovo (tamanho, composição, forma e espessura da casca, porosidade e condutância do calor e do vapor de água), taxa de metabolismo do embrião e condições físicas de incubação, bem como condições de pré-incubação (Figura 2) (BOLELI et al., 2016).

Assim para maximizar a produtividade do incubatório vários elementos que atuam em conjunto durante a incubação artificial devem ser considerados, entre eles os fatores

físicos, representados pela temperatura, umidade relativa do ar, ventilação e viragem dos ovos nas máquinas (BARBOSA et al., 2013).

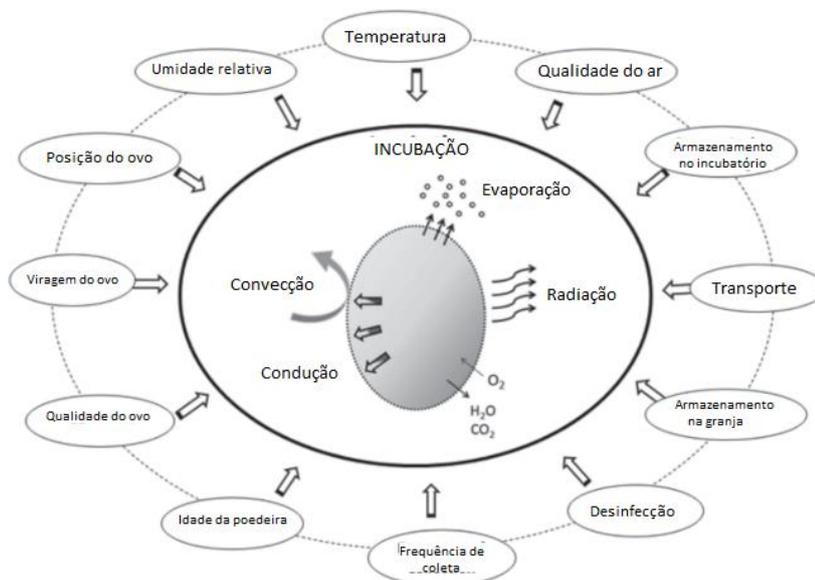


Figura 2. Fatores que afetam o desenvolvimento embrionário.
Fonte: Boleli et al., (2016)

Sob ótimas condições de incubação, os embriões de pintos se desenvolvem normalmente e eclodem em aproximadamente 21 dias (YALCIN; SIEGEL, 2003). Com isso, a temperatura da máquina deve ser adequada para permitir o desenvolvimento do embrião, sendo a temperatura do ar de 37,5°C recomendada para as incubadoras (WILSON, 1990). No entanto, os elementos do ambiente – ovos, paredes, bandejas, influenciam diretamente na carga térmica que incide sobre os ovos, de modo que a temperatura da casca do ovo é diferente daquela encontrada na incubadora e se assemelha a temperatura do embrião.

Os ovos ganham ou perdem calor apenas quando há uma diferença de temperatura entre o ambiente e a casca do ovo, e isso é influenciado por vários fatores associados à qualidade do ovo, condições de perda de água e incubação (BOLELI et al., 2016). Dentre as formas de transferência de calor tem-se: 1) Diferença de temperatura: onde o calor migra do corpo mais quente (ovo) para o corpo mais frio (ar); 2) Umidade relativa: o ar carregado de umidade tem uma capacidade maior de transferência e movimentação de calor; 3) Velocidade do ar: o ar, ao passar pelos ovos, carrega o calor contido nos mesmos;

e 4) Evaporação: ao evaporar-se a água carrega quantidade significativa de calor (CALIL, 2007).

Os ovos absorvem o calor do ar circundante durante a primeira metade da incubação devido à temperatura do embrião ser ligeiramente menor que a temperatura da incubadora, mas os embriões devem perder calor durante a segunda metade da incubação, conforme sua taxa metabólica e aumento da produção de calor (FRENCH, 1997). Tem-se então que a temperatura ideal de incubação para ovos de galinha é de 37,0 a 38,0°C. Para uma ótima eclodibilidade recomenda-se a incubação dos ovos a uma temperatura de 37,5 a 37,8°C (JOSEPH et al., 2006; LOURENS et al., 2005) com umidade relativa em torno de 55% (ALMEIDA, 2008; SHINDER et al., 2009). À medida que prossegue a incubação, ao invés de se manter uma temperatura única dentro da máquina de incubação, faz-se reajustes que atendam as reais necessidades do embrião, por exemplo, deve-se reduzir a temperatura nos dias finais da incubação, até alcançar 36,8°C (VIOLA et al., 2019).

A incubação artificial ocorre adotando-se algum desses dois processos: o de estágio único ou o de estágio múltiplo. A principal diferença entre eles é a frequência de incubação, onde as incubadoras de estágio único são carregadas uma única vez durante o ciclo de incubação (embriões em mesmo estágio de desenvolvimento) e as de estágio múltiplo abertas duas ou três vezes por semana para o carregamento de novos ovos (embriões de diferentes fases de desenvolvimento) e transferência daqueles que estão com 19 dias, de acordo com a capacidade do nascedouro (MORO, 2007; CALIL, 2009).

Apesar de a incubação em estágio múltiplo ainda ser a mais utilizada nos incubatórios comerciais brasileiros, a incubação em estágio único é mais recomendada. Nas incubadoras de estágio múltiplo os ovos incubados há mais tempo cedem calor para os ovos recém incubados, que embora resulte em um equilíbrio térmico dentro da máquina, pode ocorrer uma elevação excessiva da temperatura, levando a mortalidade embrionária (CALIL, 2009). Nos incubatórios industriais, quando se adota estágios únicos de incubação, são utilizados programas de controle de temperatura, ventilação e umidade durante o ciclo, uma vez que todos os embriões contidos em uma máquina estão no mesmo estágio de desenvolvimento cronológico (MOLENAAR et al., 2010).

Conhecendo o perfil de temperatura de um embrião dentro do ovo durante a incubação e como ele responde às condições ambientais circundantes, especialmente em linhagens modernas de alto rendimento que podem produzir mais calor durante a incubação, os gerentes de incubatórios podem modificar as temperaturas de incubação

para níveis ideais para ovos coletados de uma linhagem específica e idade do lote reprodutor (PEEBLES et al., 2012).

O desenvolvimento embrionário e a duração da incubação são afetados pela redução ou aumento da temperatura de incubação. Incubações realizadas com temperaturas mais baixas que a recomendada tendem a aumentar a duração do período de incubação e temperaturas mais altas diminuem essa duração (WILSON, 1990). Nesse sentido os incubatórios comerciais modernos utilizam sistemas automáticos para o controle de todos os fatores físicos da incubação, tais como: viragem de ovos; temperatura ambiente ajustada de acordo com a temperatura da casca do ovo determinada pelos termosensores; umidade relativa do ar e perda de água dos ovos determinada pelo peso da bandeja de ovos usando sensores de peso; e qualidade do ar (níveis de O₂ e CO₂) (BOLELI et al., 2016).

2.5. Efeito da manipulação térmica durante a incubação de ovos embrionados

Ao longo dos anos houve uma maior seleção genética de frangos de corte para rápido crescimento, no entanto, esse fator coincide com o aumento da produção de calor metabólico, de modo que, esses animais ficam mais vulneráveis aos efeitos adversos das altas temperaturas dos ambientes de criação (TAKAHASHI et al., 2009). Por isso tem-se buscado o desenvolvimento de frangos de corte mais termotolerantes. Sabe-se que em algumas espécies, a exposição a temperaturas elevadas leva a um condicionamento epigenético que resulta em tolerância térmica ao estresse por calor mais tarde na vida (ROSS et al., 2015).

A busca pela determinação de qual fase crítica durante a embriogênese se deve aplicar a manipulação térmica é baseada na hipótese de que o "set point" ou "limiar de resposta" dos sistemas de controle pode ser alterado mais eficientemente durante o desenvolvimento e amadurecimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide (relacionado à termorregulação), eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (que está relacionado ao estresse), ou ambos (PIESTUN et al., 2008). Pesquisas têm sido realizadas com o intuito de obter animais que sejam mais tolerantes ao calor, ou seja, tem-se buscado a minimização dos efeitos negativos das altas temperaturas sobre os animais (TZSCHENTKE; HALLE, 2009; PIESTUN et al., 2015; AL-RUKIBAT et al., 2017; AL-ZGHOUL, 2018).

Nesse sentido surge o interesse em melhor compreender os efeitos epigenéticos provocados pelo calor, segundo Loh et al. (2004) a adaptação epigenética é baseada em mudanças reversíveis na expressão dos genes, que não é devido a mudanças na sequência

do DNA. Ou seja, mudanças epigenéticas são alterações na função do DNA sem alterações na sequência de DNA (SCHOLTZ et al., 2014). Outra definição para epigenética, é que seriam alterações coletivas hereditárias no fenótipo que surgem independentemente do genótipo (TOLLEFSBOL, 2011). Os mecanismos epigenéticos possuem um papel importante no desenvolvimento, crescimento, bem-estar e comportamento dos animais. Estes mecanismos são uma forma de compreender como os fatores ambientais podem resultar em mudanças hereditárias na expressão gênica (SCHOLTZ et al., 2014).

As mudanças epigenéticas podem melhorar a plasticidade do genoma levando a melhores respostas em condições ambientais específicas ou podem prejudicar permanentemente a capacidade de um indivíduo de lidar ou responder a condições ambientais particulares (ROSS et al., 2015). Assim, o clima, a temperatura, a nutrição, doenças e outros fatores ambientais podem modular a expressão fenotípica do genoma do animal através de mecanismos epigenéticos (TOLLEFSBOL, 2011).

Na avicultura, atenção especial tem sido dada aos estudos sobre manipulação térmica durante a incubação ou em uma aclimação nos primeiros dias pós-eclosão, de modo que, as modificações que ocorrem na fase pré-natal ou pós-natal precoce terão impacto significativo na vida do animal. As influências ambientais que ocorrem tanto pré-natais como pós-natais podem influenciar a impressão do perfil epigenético específico das células e resultar em respostas alteradas às condições ambientais (ROSS et al., 2015). A manipulação térmica se baseia no pressuposto de que fatores ambientais, especialmente a temperatura ambiente, exercem forte influência na determinação do "ponto de ajuste" para os sistemas de controle fisiológico durante as "fases críticas do desenvolvimento" (PIESTUN et al., 2015). A fase embrionária é um período sensível quando se trata de programação epigenética, onde muitas das influências epigenéticas sobre a produção animal ocorrem durante este período (SCHOLTZ et al., 2014).

A aquisição de termotolerância em galinhas ocorre entre o terceiro e quinto dia após o nascimento e é caracterizado por alterações na metilação do DNA (KISLIOUK et al., 2010) e na acetilação de histona (YOSSIFOFF et al., 2008). Essa aquisição é parte do processo de desenvolvimento sensorial durante o qual o ponto de ajuste de temperatura é estabelecido. No entanto, o calor durante a incubação de ovos embrionados leva a uma aquisição de tolerância térmica, uma vez que são observadas alterações na expressão de proteínas de choque térmico (*Heat shock protein* - HSP), na concentração de hormônios tireoidianos e corticosterona (BAARENDSE et al., 2007).

Avaliando os efeitos da manipulação térmica (MT) entre os dias 7 e 16 de incubação, Piestun et al. (2015) observaram que as aves que foram submetidas a 39,5°C por 12 ou 24 horas durante a embriogênese exibiram menor concentração plasmática de hormônios tireoidianos e corticosterona quando submetidos a um estresse por calor na fase pós eclosão. Estudando a MT nos últimos quatro dias de incubação, Tzschentke e Halle (2009) observaram que o estímulo quente a curto prazo (38,2 a 38,4°C, 2h por dia) aumentou a eclodibilidade em mais de 1,5% e induziu uma proporção significativamente maior de pintos machos nascidos e no abate esses animais atingiram o maior peso final de engorda e uma menor conversão alimentar em comparação com os machos do controle (37,2–37,4°C) e com os do grupo incubado sob estímulo quente crônico (38,2 a 38,4°C, 24 h por dia).

Estudando a MT durante a embriogênese tardia (aos 16, 17 e 18 dias de incubação), Al-Rukibat et al. (2017) avaliaram o efeito dessa no peso e na temperatura corporal, nos hormônios tireoidianos e na contagem diferencial de glóbulos brancos em frangos de corte. Quando os animais foram submetidos a um desafio térmico (41°C/6h) aos 14 e 42 dias de vida aqueles que eram provenientes da MT apresentaram menor temperatura corporal e diminuição nas concentrações de T3. Também um aumento significativo nas porcentagens de volume celular, heterófilos, monócitos e na relação H/L, e uma redução nas porcentagens de linfócitos. Da mesma forma, Al-Zghoul (2018) observou uma redução na temperatura corporal de frangos (provenientes da MT) quando foram submetidos ao desafio térmico as 14 e 28 dias de idade. Interessante destacar, que no estudo de Al-Zghoul et al. (2013) os frangos submetidos a temperaturas elevadas durante a embriogênese apresentaram maior peso corporal aos 42 dias de idade.

Quando comparado ao grupo controle, a MT resulta em aumentos significativos na expressão do RNAm basal de *HSPs* e fatores de choque térmico (*Heat shock factors – HSFs*) durante a embriogênese e altera suas expressões dinâmicas no tecido muscular após o estresse térmico nos dias 14 e 28 pós-incubação (AL-ZGHOUL; EL-BAHR, 2019). Resultados semelhantes foram encontrados por Al-Zghoul (2018) onde observou-se alteração dos níveis de RNAm basal durante a primeira semana após a eclosão, o que foi associado à aquisição melhorada de termotolerância durante o desafio térmico.

Avaliando as resposta de pintos após manipulação térmica entre o 10° e 18° dia de incubação Al-Zghoul et al. (2013) relataram aumento significativo nos níveis de RNAm muscular de *Hsp70* durante a embriogênese e durante o desafio térmico em pintos pós-eclosão. Para Al-Zghoul et al. (2019) houve também melhora na expressão de

interleucina – 6 (IL-6) e modulação da expressão de genes importantes em suas vias de indução, indicando um aumento da tolerância ao calor.

No ensaio de Piestun et al. (2015) a manipulação térmica contínua durante a embriogênese prejudicou o desempenho dos pintos de corte, mas melhorou sua capacidade de termorregulação em resposta ao desafio térmico principalmente pela redução da produção de calor. Já os resultados encontrados por Al-Rukibat et al. (2017) mostraram que os filhotes submetidos à MT durante a embriogênese tardia respondem melhor ao estresse térmico posteriormente no período de crescimento e desenvolvimento.

Para observar os efeitos da MT durante a incubação de frangos de corte Zaboli et al. (2016) submeteram os animais a um desafio por calor crônico (32 a 36°C e 55% UR das 10:00 às 16:00) do 28 aos 42 dias de idade e constataram uma redução na concentração sanguínea de T3 e T4, no entanto não observaram diferença nos níveis de corticosterona. A diminuição dos níveis plasmáticos dos hormônios da tireoide resulta em uma diminuição da temperatura corporal dos animais, o que caracteriza uma maior termotolerância (MORITA et al., 2016).

Ainda durante a fase final de incubação (16 aos 18 dias), Willemsen et al. (2010) avaliaram o metabolismo dos embriões sob temperaturas acima e abaixo da recomendada, de modo que, sob temperatura elevada observou-se redução nos hormônios tireoidianos e aumento de corticosterona, quando comparados ao tratamento de baixa temperatura e controle. Para esses autores, os embriões do grupo de alta temperatura foram forçados a um estado de desnutrição, uma vez que tiveram crescimento embrionário reduzido e menor consumo de gema, resultando em um peso significativamente menor do pintinho na eclosão. Considerando que os hormônios tireoidianos são indicadores do nível de metabolismo, observou-se uma clara mudança no metabolismo de carboidratos e lipídios.

Estudando a adaptação epigenética de galinhas durante a fase final do desenvolvimento embrionário, Badran et al. (2012) verificaram que os níveis de T3 foram significativamente mais baixos no grupo submetido a temperatura alta de incubação em comparação ao grupo controle durante todos os estágios embrionários. As concentrações de corticosterona foram significativamente maiores no grupo manipulado termicamente do que no grupo controle durante os 14º e 15º dias de incubação.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A manipulação térmica durante a incubação de ovos férteis de frangos de corte pode ser uma alternativa para melhorar a tolerância térmica das aves durante a criação, de modo que pode resultar em melhorias no desempenho zootécnico dos animais quando criados em condições ambientais que normalmente trariam prejuízos a produção. No entanto, são necessárias pesquisas que possam comprovar esses efeitos permitindo que essa manipulação seja aplicada em condições comerciais. Para isso, é preciso determinar qual a temperatura ideal e o momento em que essa deve ser aplicada.

O desenvolvimento de frangos mais tolerantes ao calor pode estimular o crescimento da produção avícola em regiões do Brasil onde as condições ambientais são consideradas menos favoráveis a produção de aves, ou seja, onde as temperaturas ambientais são mais elevadas. Com isso, a avicultura brasileira pode se destacar ainda mais no cenário mundial da produção de carnes de frango.

REFERÊNCIAS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2022**. Disponível em: < <https://abpa-br.org/relatorios/>>.

ABREU, P.G., ABREU, V.M.N. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1-14, 2011.

AFSAL, A., SEJIAN, V., BAGATH, M., KRISHNAN, G., DEVARAJ, C., BHATTA, R. Heat Stress and Livestock Adaptation: Neuro-endocrine Regulation. **International Journal of Veterinary and Animal Medicine**, v. 1(2), 2018. doi: <https://doi.org/10.31021/ijvam.20181108>.

ALMEIDA, P.M. Incubação artificial. **Trabalho de Conclusão de Curso**, Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2008.

AL-RUKIBAT, R.K., AL-ZGHOUL, M.B., HANANEH, W.M. AL-NATOUR, M. Q. AND ABU-BASHA, E.A. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96(1), p. 234-240, 2017 doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pew298>.

AL-ZGHOUL, M.B., DALAB, A.E., ABABNEH, M.M., JAWASREH, K.I., AL BUSADAH, K.A., ISMAIL, Z. B. Thermal manipulation during chicken embryogenesis results in enhanced Hsp70 gene expression and the acquisition of thermotolerance. **Research in Veterinary Science**, v. 95(2), p. 502-507, 2013. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.05.012>.

AL-ZGHOUL, M.B. Thermal manipulation during broiler chicken embryogenesis increases basal mRNA levels and alters production dynamics of heat shock proteins 70

and 60 and heat shock factors 3 and 4 during thermal stress. **Poultry Science**, v. 0, p. 1-10, 2018. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pey225/5039119>.

AL-ZGHOUL, M. B., EL-BAHR, S.M. Basal and dynamics mRNA expression of muscular HSP108, HSP90, HSF-1 and HSF-2 in thermally manipulated broilers during embryogenesis. **BMC Veterinary Research**, v.15(1):83, 2019. doi: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1827-7>.

AL-ZGHOUL, M.B., SALEH, K.M., ABABNEH, M.M.K. Effects of pre-hatch thermal manipulation and post-hatch acute heat stress on the mRNA expression of interleukin-6 and genes involved in its induction pathways in 2 broiler chicken breeds. **Poultry Science**, v. 98(4), p.1805-1819, 2019. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pey499>.

BAARENDSE, P.J.J., DEBONNE, M., DECUYPERE, E., KEMP, B., VAN DEN BRAND, H. Ontogeny of avian thermoregulation from a neural point of view. **World's Poultry Science Journal**, v. 63(2), p. 267-276, 2007. doi: <https://doi.org/10.1017/S0043933907001456>.

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

BLACK, J.L., 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(9), p.1543-1552, 2004. doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.00909>.

BOLELI, I.C., MORITA, V.S., MATOS JR, J.B., THIMOTHEO, M., ALMEIDA, V.R. Poultry Egg Incubation: Integrating and Optimizing Production Efficiency. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 18(2), p. 1-16, 2016. doi: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0292>.

BADRAN, A.M., DESOKY, A., ABOU-EITA, E.M., STINO, F.K. 2012. Epigenetic thermal adaptation of chickens during late embryonic development. **Egypt Poultry Science**, v. 32, p. 675-689, 2012.

CALIL, T.A.C. Princípios básicos de Incubação. **Simpósio sobre Incubação**. P. 19 – 45. FACTA, Campinas, 2007.

CALIL, T.A.C. Incubação estágio único e estágio múltiplo. **Simpósio Goiano de Avicultura**, Goiânia, 2009.

CAMARGO, M. G., FURLAN, M.M.D.P. Resposta fisiológica do corpo às temperaturas elevadas: exercício, extremos de temperatura. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, p. 278-288, 2011.

CAMPOS, P.H.R.F., LE FLOC'H, N., NOBLET, J., RENAUDEAU, D. Physiological responses of growing pigs to high ambient temperature and/or inflammatory challenges.

Revista Brasileira de Zootecnia, v. 46(6), p. 537-544, 2017. doi: <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017000600009>.

CÂNDIDO, M.G.L., TINÔCO, I.F.F., ALBINO, L.F.T., FREITAS, L.C.S.R., SANTOS, T.C., CECON, P.R., GATES, R.S. Effects of heat stress on pullet cloacal and body temperature. **Poultry Science**, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.062>.

CASTRO, A.L. Higiene e controle de qualidade no Incubatório. **Manejo da Incubação**. FACTA, Campinas – SP, 1994.

COSTA, L.S., GARCIA, L.A.F., BRENE, P.R.A. Panorama do setor de frango de corte no Brasil e a participação da indústria avícola paranaense no complexo dado seu alto grau de competitividade. **Anais do IV SINGEP** – São Paulo – SP – Brasil – 2015.

CUNNINGHAM, J.G., KLEIN, B.G. Termorregulação. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Elsevier, Rio de Janeiro. p. 648-656, 2008.

CURTO, F.P.F., NAAS, I.A., PEREIRA, D.F., SALGADO, D.D. Estimativa do padrão de preferência térmica de matrizes pesadas (frango de corte). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 211-216, 2007.

DECUYPERE, E., BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, p. 1037-1042, 2007.

DIONELLO, N.J.L., MACARI, M., FERRO, J.A., RUTZ, F., FERRO, M.I.T., FURLAN, L.R. Respostas fisiológicas associadas à termotolerância em pintos de corte de duas linhagens por exposição a altas temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 79-85, 2002.

FLORIANO, L.S. **Anatomia e fisiologia das aves domésticas**. Rede e-Tec Brasil, Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2013.

FRENCH, N.A. Modeling incubation temperature: the effects of incubator design, embryonic development, and egg size. **Poultry Science**, v. 76(1), p.124-133, 1997. doi: [10.1093/ps/76.1.124](https://doi.org/10.1093/ps/76.1.124)

FURLAN, R.L. Influência da temperatura na produção de frangos de corte. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, n. 7, p 104-135, Chapecó, 2006.

GOMES, A.R.A., LITZ, F.H., MORAIS, H.R., OLIVEIRA, R.P., NASCIMENTO, M.R.B.M. Estresse por calor na produção de frangos de corte. **PUBVET**, v. 6, n. 34, ed. 221, art. 1469, 2012.

HESTER, P.Y., AL-RAMAMNEH, D.S., MAKAGON, M.M., CHENG, H.W. 2015. Effect of partial comb and wattle trim on pullet behavior and thermoregulation. **Poultry Science**, v. 94(5), p.860-866. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pev066>.

IPEK, A., SOZCU, A. Comparison of hatching egg characteristics, embryo development, yolk absorption, hatch window, and hatchability of Pekin Duck eggs of different weights. **Poultry Science**, v. 96(10), p. 3593-3599, 2017. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pex181>.

JOSEPH, N.S., LOURENS, A. MORAN JR, E.T. The effects of suboptimal eggshell temperature during incubation on broiler chick quality, live performance, and further processing yield. **Poultry Science**, v. 85(5), p.932-938, 2006. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/85.5.932>.

KISLIOUK, T., ZIV, M., MEIRI, N. Epigenetic control of translation regulation: alterations in histone H3 lysine 9 post-translation modifications are correlated with the expression of the translation initiation factor 2B (Eif2b5) during thermal control establishment. **Developmental Neurobiology**, v. 70(2), p.100-113, 2010. doi: <https://doi.org/10.1002/dneu.20763>.

LARA, L.J., ROSTAGNO, M.H. Impact of Heat Stress on Poultry Production. **Animals**, v. 3(2), p. 356-369, 2013. doi: <https://doi.org/10.3390/ani3020356>.

LAUVERS, G., FERREIRA, V.P.A. Fatores que afetam a qualidade dos pintos de um dia, desde a incubação até o recebimento na granja. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 16, 2011.

LIN, H., ZHANG, H.F., DU, R. GU, X. H. ZHANG, Z. Y. BUYSE, J., DECUYPERE, E. Thermoregulation responses of broiler chickens to humidity at different ambient temperatures. II. Four weeks of age. **Poultry Science**, v. 84(8), p.1173-1178, 2005. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/84.8.1173>.

LOH, B., MAIER, I., WINAR, A., JANKE, O., TZSCHENTKE, B. Prenatal Development of Epigenetic Adaptation Processes in Poultry: Changes in Metabolic and Neuronal Thermoregulatory Mechanisms. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v. 15(3), p.119-128, 2004. doi: <https://doi.org/10.3184/147020604783637976>.

LOURENS, A., VAN DEN BRAND, H., MEIJERHOF, R., KEMP, B. Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. **Poultry Science**, v. 84(6), p. 914-920, 2005. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/84.6.914>.

LOURENS, A., VAN DEN BRAND, H., HEETKAMP, M.J., MEIJERHOF, R., KEMP, B. Metabolic responses of chick embryos to short-term temperature fluctuations. **Poultry Science**, v. 85(6), p.1081-1086, 2006. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/85.6.1081>.

LOYAU, T., BERRI, C., BEDRANI, L., M'ETAYER-COUSTARD, L., PRAUD, C., DUCLOS, M.J., TESSERAUD, S., RIDEAU, N., EVERAERT, N., YAHAV, S., MIGNON-GRASTEAU, S., COLLIN, A. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality. **Journal Of Animal Science**, v. 91, p. 3674–3685, 2013.

MACARI, M., FURLAN, R.L. **Ambiência na produção de aves em clima tropical**. FUNEP, Piracicaba, 2001.

MACK, L.A., FELVER-GANT, J.N., DENNIS, R.L., CHENG, H. W. Genetic variation alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. **Poultry Science**, v. 92, p. 285-294, 2013.

MARTINEZ, J.E.P. Ácido ascórbico estabilizado com flavonóides cítricos para frangos de corte sob estresse calórico: Efeitos no desempenho e qualidade da carne. **Dissertação**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MCNABB, F.M.A. Avian thyroid development and adaptive plasticity. **General and Comparative Endocrinology**, v. 147(2), p. 93-101, 2006. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.12.011>

MEIJERHOF, R. Incubation principles: what does the embryo expect from us? **Poultry Research Foundation**, Sydney, p. 106-111, 2009.

MOLENAAR, R., REIJRINK, I.A.M., MEIJERHOF, R., DEN BRAND, H.V. Meeting Embryonic Requirements of Broilers Throughout Incubation: A Review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12(3), p.137-148, 2010.

MORITA, V.S., ALMEIDA, V. R., MATOS JUNIOR, J. B. , VICENTINI, T. I., DEN BRAND, H. V., BOLELI, I.C. Incubation temperature alters thermal preference and response to heat stress of broiler chickens along the rearing phase. **Poultry Science**, v. 95(8), p. 1795-1804, 2016. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pew071>.

MORO, D. Conceitos sobre sistemas de incubação: etapa única x etapa múltipla e o conceito de bio-resposta. **Conferência Apinco De Ciência E Tecnologia Avícolas**, Santos – SP, 2007.

MOURA, D.J. Ambiência na avicultura de corte. In: I. J. O. Silva, editor, **Ambiência na produção de aves em clima tropical**. FUNEP, Piracicaba. p. 81-93, 2001.

MUNS, R., MALMKVIST, J., LARSEN, M.L.V., SØRENSEN, D., PEDERSEN, L.J. High environmental temperature around farrowing induced heat stress in crated sows. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 377-384, 2016. doi: <https://doi.org/10.2527/jas2015-9623>.

NASCIMENTO, S.T., SILVA, I.J., MAIA, A.S., CASTRO, A.C., VIEIRA, F.M. Mean surface temperature prediction models for broiler chickens-a study of sensible heat flow. **International Journal of Biometeorology**, v. 58(2), p.195-201, 2013. doi: <https://doi.org/10.1007/s00484-013-0702-7>.

NAVAS, T.O., OLIVEIRA, H.F., CARVALHO, F.B., STRINGHINI, J.H., CAFÉ, M.B., FILHO, P.H. Estresse por calor na produção de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 13, n. 01, 2016.

NICHELMANN, M. Activation of thermoregulatory control elements in precocial birds during the prenatal period. **Journal of Thermal Biology**, v. 29(7), p. 621-627, 2004. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2004.08.030>

NICHELMANN, M., TZSCHENTKE, B. Ontogeny of thermoregulation in precocial birds. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 131(4), p.751-763, 2002. doi: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00013-2](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00013-2).

NICHELMANN, M., TZSCHENTKE, B. Efficiency of Thermoregulatory Control Elements in Precocial Poultry Embryos. **Avian and Poultry Biology Reviews**, v.14(1), p.1-19, 2003. doi: <https://doi.org/10.3184/147020603783727030>.

OLIVEIRA, R.F.M., DONZELE, J.L., ABREU, M.L.T., FERREIRA, R.A., VAZA, R.G.M.V., CELLA, P.S. Efeitos da temperatura e da umidade relativa sobre o desempenho e o rendimento de cortes nobres de frangos de corte de 1 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 797-803, 2006.

OLIVEIRA, G.S., SANTOS, V.M. Manejo de ovos férteis: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 15, p. 8337-8351, 2018.

OLOJEDE, O.C., COLLINS, K.E., WOMACK, S.K., GERARD, P.D., PEEBLES, E.D. Relationships of eggshell, air cell, and cloacal temperatures of embryonated broiler hatching eggs during incubation. **Poultry Science**, v. 95(10), p. 2306-2313, 2016. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pew230>.

PEEBLES, E. D., ZHAI, W., 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(7), p.1536-1541, 2012. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01978>.

PIESTUN, Y., SHINDER, D., RUZAL, M., HALEVY, O., YAHAV, S. The effect of thermal manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and post-hatch thermoregulation. **Journal of Thermal Biology**, v. 33(7), p.413-418, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2008.06.007>.

PIESTUN, Y., ZIMMERMAN, I., YAHAV, S. Thermal manipulations of turkey embryos: The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. **Poultry Science**, v. 94(2), p. 273-280, 2015. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/peu047>

ROSS, J.W., HALE, B.J., GABLER, N.K., RHOADS, R.P., KEATING, A.F. BAUMGARD, L.H. Physiological consequences of heat stress in pigs. **Animal Production Science**, v. 55(12), p.1381-1390, 2015. doi: <https://doi.org/10.1071/AN15267>

SANTANA, M.H.M., GIVISIEZ, P.E.N., FIGUEIREDO JÚNIOR, J.P., SANTOS, E.G. Avaliação de protótipos de incubadoras sobre os parâmetros embrionários de ovos férteis caipiras. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p.157-162, 2013.

SCHOLTZ, M.M., VAN ZYL, J.P., THEUNISSEN, A. The effect of epigenetic changes on animal production. **Applied Animal Husbandry & Rural Development**, v. 7, p. 7-10, 2014.

SHINDER, D., RUSAL, M., GILOH, M., YAHAV, S. Effect of repetitive acute cold exposures during the last phase of broiler embryogenesis on cold resistance through the life span. **Poultry Science**, v. 88(3), p. 636-646, 2009. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00213>.

SLAWINSKA, A., ZAMPIGA, M., SIRRI, F., MELUZZI, A., BERTOCCHI, M., TAVANIELLO, S., MAIORANO, G. Impact of galactooligosaccharides delivered in ovo on mitigating negative effects of heat stress on performance and welfare of broilers. **Poultry Science**, v. 99(1), p. 407-415, 2020. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pez512>.

SILVA, R.G. **Introdução a Bioclimatologia animal**. Nobel, São Paulo, 2000.

TAKAHASHI, L.S., BILLER, J.D., TAKAHASHI, K.M. **Bioclimatologia zootécnica**. 1 ed, Jaboticabal, 2009.

TAZAWA, H., MORIYA, K., TAMURA, A., KOMORO, T., AKIYAMA, R. Ontogenetic study of thermoregulation in birds. **Journal of Thermal Biology**, v.26, p. 281–286, 2001.

TINÔCO, I.F.F. Ambiente e instalações para a avicultura industrial. **Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola**, n. 3, p 1-86, 1998.

TOLLEFSBOL, T.O. Advances in epigenetic technology. **Methods in Molecular Biology**, v. 791, p.1-10, 2011. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_1.

TONA, K., BAMELIS, F., KETELAERE, B., BRUGGEMAN, V., MORAES, V.M., BUYSE, J., ONAGBESAN, O., DECUYPERE, E. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. **Poultry Science**, v. 82(5), p.736-741, 2003. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/82.5.736>.

TONG, Q., ROMANINI, C.E., EXADAKTYLOS, V., BAHR, C., BERCKMANS, D., BERGOUG, H., ETERRADOSSI, N., ROULSTON, N., VERHELST, R., MCGONNELL, I.M., DEMMERS, T. Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. **Poultry Science**, v. 92(3), p. 620-628, 2013. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02509>.

TZSCHENTKE, B., BASTA, D. Early development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: influence of epigenetic temperature adaptation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 131(4), p. 825-832, 2002. doi: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00020-X)

TZSCHENTKE, B. 2008. Monitoring the development of thermoregulation in poultry embryos and its influence by incubation temperature. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 64(1), p. 61-71. doi: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2008.05.003>

TZSCHENTKE, B., HALLE, I. Influence of temperature stimulation during the last 4 days of incubation on secondary sex ratio and later performance in male and female broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 50(5), p. 634-640, 2009. doi: <https://doi.org/10.1080/00071660903186570>.

TZSCHENTKE, B., RUMPF, M. Embryonic development of endothermy. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v.178(1), p. 97-107, 2011. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.06.004>.

VIOLA, T.H., BEZERRA, T.A., SOBREIRA, R.S., COSTA, B.A., LIMA NETO, A. F. **Considerações técnicas sobre a incubação de ovos de galinhas**. In: E. Meio-Norte (ed.), Teresina – Pi, 2019.

ZABOLI, G.-R., RAHIMI, S., SHARIATMADARI, F., TORSHIZI, M.A.K., BAGHBANZADEH, A., MEHRI, M. Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. **Poultry Science**, v. 96(2), p. 478-485, 2016. doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pew344>.

WELKER, J.S., ROSA, A.P., MOURA, D.J., MACHADO L.P., CATELAN, F., UTTPATEL, R. Temperatura corporal de frangos de corte em diferentes sistemas de climatização. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1463-1467, 2008.

WILLEMSSEN, H., KAMERS, B., DAHLKE, F., HAN, H., SONG, Z., ANSARI PIRSARAEI, Z., TONA, K., DECUYPERE, 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(12), p. 2678-2690, 2010. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00853>.

WILSON, H.R. Physiological requirements of the developing embryo: temperature and turning. **Butterworth** (Publishers) Ltd, Kent, p. 145-156, 1990.

WHITTOW, G.C., TAZAWA, H. The Early Development of Thermoregulation in Birds. **Physiological Zoology**, v. 64(6), p.1371-1390, 1991. doi: <https://doi.org/10.1086/physzool.64.6.30158220>.

YAHAV, S. Alleviating heat stress in domestic fowl: different strategies. **World's Poultry Science Journal**, v. 65(4), p. 719-732, 2009. doi: <https://doi.org/10.1017/s004393390900049x>.

YALCIN, S., SIEGEL, P.B. Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. **Poultry Science**, v. 82(9), p.1388-1392, 2003. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/82.9.1388>.

YOSSIFOFF, M., KISLIOUK, T., MEIRI, N. Dynamic changes in DNA methylation during thermal control establishment affect CREB binding to the brain-derived neurotrophic factor promoter. **European Journal of Neuroscience**, v. 28(11), p. 2267-2277, 2008. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06532.x>.

YOUSSEF, A., EXADAKTYLOS, V., BERCKMANS, D. Modelling and quantification of the thermoregulatory responses of the developing avian embryo: Electrical analogies of a physiological system. **Journal of Thermal Biology**, v. 44, p. 14-19, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.05.006>.

SEGUNDA PARTE

1 **ARTIGO: Efeito da manipulação térmica durante o estágio embrionário nas**
2 **características pós-eclosão de frangos de corte**

3 A.P.A. Leão^a and M.G. Zangeronimo^b

4 *^aDepartamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, 37200-900,*
5 *Lavras, Minas Gerais, Brasil*

6 *^bDepartamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras,*
7 *37200- 900, Lavras, Minas Gerais, Brasil*

8

9 Autor para correspondência: Márcio Gilberto Zangeronimo. Email:
10 zangeronimo@ufla.br

11 Redigido de acordo com as normas de submissão da revista Animal.

12 **Resumo**

13 Objetivou-se avaliar a influência da manipulação térmica durante a incubação de
14 ovos férteis de matrizes de corte sobre os parâmetros de eclosão, desempenho,
15 características de carcaça, vilosidades intestinais, metabolizabilidade de
16 nutrientes e parâmetros imunológicos, bioquímicos e comportamentais de
17 frangos de corte. No 15^o dia de incubação, 864 ovos férteis da linhagem Ross®
18 foram aleatoriamente distribuídos em quatro incubadoras automáticas
19 comerciais. Os tratamentos foram: Ctrl - controle, ovos mantidos a 37,5°C
20 durante todo o período de incubação; T_{3h} - Aumento da temperatura a 39°C
21 durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação; T_{12h} - Aumento da
22 temperatura a 39 °C durante 12 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação; e T_{24h}
23 - Aumento da temperatura a 39 °C durante 24 horas nos dias 16, 17 e 18 de
24 incubação. Após a eclosão, as aves foram alojadas no galpão experimental e
25 mantidas até os 42 dias de idade sob condições normais de criação. O aumento
26 da temperatura por 24 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação reduziu (P<0,05)
27 o ganho de peso e o consumo de ração aos 42 dias de idade. Aos 24 dias, menor
28 temperatura cloacal foi observada (P<0,05) nas aves provenientes de ovos
29 incubados com aumento da temperatura durante 3 horas e maior frequência
30 respiratória aos 31 dias foi observada (P<0,05) quando a temperatura foi
31 aumentada durante 3 ou 12 horas. Aos 42 dias, menor hematócrito foi observado
32 (P<0,05) quando a temperatura de incubação foi aumentada durante 3 ou 24
33 horas e maior expressão gênica de *Hsp70* no fígado (P<0,05) quando a
34 temperatura foi aumentada durante 3 horas. Para os demais parâmetros não se
35 observou diferença entre os tratamentos experimentais. Conclui-se que a
36 manipulação térmica durante a incubação pode influenciar o desempenho e as

37 características fisiológicas relacionadas à termotolerância das aves. O aumento
38 da temperatura de incubação para 39°C durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de
39 incubação pode ser benéfica a termorregulação das aves, sendo que esse
40 aumento de temperatura mantido por 24h prejudica o desempenho dos frangos.

41 **Palavras-chave:** Avicultura; Estresse por Calor; Incubadora; Temperatura;
42 Termotolerância.

43

44 **Implicações**

45 O estresse por calor afeta negativamente a produção de frangos de corte,
46 principalmente quando se trata das linhagens de alta produção. Nesse sentido,
47 pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de minimizar os efeitos
48 negativos do calor. Dentre as alternativas, a manipulação térmica realizada
49 durante a incubação parece resultar em melhorias na termotolerância das aves.
50 No presente estudo o aumento da temperatura de incubação para 39°C por 3
51 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação, não afetou o desempenho e as
52 características de carcaça, e resultou em melhores respostas dos frangos ao
53 calor durante a fase de criação.

54 **Highlights**

- 55 • A manipulação térmica na incubação não afeta os parâmetros de eclosão.
- 56 • 39°C/3horas ao final da incubação aumenta a termotolerância dos frangos
57 na criação.
- 58 • 39°C/24horas ao final da incubação reduz o desempenho dos frangos na
59 criação.

60 • A manipulação térmica na incubação não afeta o rendimento de carcaça
61 aos 42 dias.

62 • A manipulação térmica na incubação não afeta a metabolizabilidade de
63 nutrientes.

64

65 **Introdução**

66 O estresse por calor é um dos principais fatores que afetam
67 negativamente a produção avícola (Awad et al., 2020). Quando a temperatura
68 ambiental se encontra elevada, fora da faixa de conforto térmico, as aves tendem
69 a reduzir o consumo de ração na tentativa de diminuir a produção de calor
70 metabólico (Leksrisompong et al., 2009). Além disso, ocorre um aumento na
71 demanda de energia metabólica para a manutenção da homeotermia
72 (Fernandes et al., 2016). Como resultado, tem-se uma piora na conversão
73 alimentar, redução no ganho de peso, e ainda, aumento da suscetibilidade à
74 doenças o que culmina em prejuízos econômicos ao produtor (Takahashi et al.,
75 2009).

76 O tempo de incubação representa 1/3 do período de vida dos frangos, de
77 modo que tem crescido o interesse para uma melhor compreensão da relação
78 entre o período de desenvolvimento embrionário e o crescimento pós eclosão
79 das aves (Ipek e Sozcu, 2015). Dentre os fatores que influenciam a
80 embriogênese, a temperatura pode ser considerada como principal limitador. Na
81 prática, a temperatura considerada ótima para o desenvolvimento embrionário
82 dos frangos varia entre 37 e 38 °C, sendo comumente utilizada 37,5 °C (Viola et
83 al., 2019). Nesse sentido, tem-se estudado os efeitos da manipulação térmica
84 (MT) durante a incubação.

85 O interesse maior nos protocolos de MT é a aquisição de termotolerância
86 e acredita-se que essa aquisição esteja relacionada com a modificação do
87 mecanismo molecular associada às alterações epigenéticas (Goel et al., 2021).
88 O desenvolvimento de frangos mais tolerantes ao calor, a partir da MT na fase
89 embrionária, depende de fatores como idade de incubação, duração da
90 manipulação e variação de temperatura (Piestun et al., 2008). Amjadian e Shahir
91 (2020) sugerem que a MT deve coincidir com o desenvolvimento do sistema
92 termorregulador dos embriões que de acordo com Piestun et al. (2008) ocorre
93 entre 6 e 16 dias de incubação. No geral, é possível que a MT provoque uma
94 adaptação epigenética responsável por alterações fisiológicas que podem durar
95 até o final da fase de criação dos frangos (Givisiez et al., 2003).

96 A temperatura de incubação é capaz de alterar a preferência térmica e a
97 resposta ao estresse térmico de frangos de corte ao longo da fase de criação
98 (Morita et al., 2016; Rajkumar et al., 2016). Trabalhando com três programas de
99 temperatura (36, 37,5 e 39 °C) após o 13º dia de incubação, Morita et al. (2016)
100 verificaram que frangos provenientes de ovos incubados em temperaturas
101 elevadas apresentaram maior temperatura retal e maior preferência por
102 ambientes quentes durante as duas primeiras semanas de vida, menor nível de
103 T3 plasmático aos 21 e 42 dias e aumento da frequência respiratória em resposta
104 ao desafio térmico.

105 Pintos submetidos à MT durante a embriogênese tardia respondem
106 melhor ao estresse térmico posteriormente no período de crescimento e
107 desenvolvimento (Al-Rukibat et al., 2017). Al-Zghoul e El-Bahr (2019) relataram
108 maior peso e rendimento de carcaça em frangos aos 35 dias provenientes de
109 ovos incubados a 38,5 e 39,0°C por 18 horas entre o 12º e 18º dia de incubação.

110 Avaliando as resposta de pintos após MT entre o 10° e 18° dia de incubação Al-
111 Zghoul et al. (2013) relataram aumento significativo nos níveis de RNAm
112 muscular de *Hsp70* durante a embriogênese e durante o desafio térmico em
113 pintos pós-eclosão.

114 Os efeitos da MT sobre os resultados de eclosão e características pós-
115 eclosão, precisam ser melhor esclarecidos. Diante do exposto, objetivou-se
116 avaliar a influência da manipulação térmica durante a incubação sobre as
117 características de eclosão, desempenho e termotolerância em frangos de corte.

118

119 **Material e métodos**

120 ***Local***

121 O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia
122 do Departamento de Medicina Veterinária e no setor de Avicultura do
123 Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

124 ***Incubação***

125 Ovos da linhagem Ross[®] oriundos de matrizes com idade média de 38
126 semanas foram adquiridos de um incubatório comercial e em seguida foram pré-
127 aquecidos a 28°C por 9 horas, fumigados com formaldeído e permanganato de
128 potássio na relação 2:1 e incubados em incubadora automática (Luna 480,
129 Chocmaster, Piraquara-PR, Brasil) ajustada para 37,5 °C e 65% de umidade,
130 alocada em sala climatizada a 20 °C, no laboratório de Fisiologia e Farmacologia
131 da UFLA. A viragem dos ovos foi programada para cada 2 horas.

132 Uma ovoscopia foi realizada no 15° dia e então 864 ovos com
133 desenvolvimento embrionário foram pesados (57,26 ± 3g) e distribuídos em

134 quatro incubadoras (Luna 480, Chocmaster, Piraquara-PR, Brasil) com
135 diferentes ajustes de temperaturas: ovos incubados em condições constantes de
136 temperatura (37,5 °C) até o final da incubação (Ctrl - controle); aumento da
137 temperatura (39,0 °C) nos dias 16, 17 e 18 de incubação durante 3 (T_{3h}), 12 (T_{12h})
138 e 24 (T_{24h}) horas/dia. A umidade relativa foi mantida em 60% até o final do
139 período de incubação. Os programas de temperatura foram definidos com base
140 em informações obtidas na literatura (Morita et al., 2016; Rajkumar et al., 2016).
141 O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, formado por quatro
142 tratamentos e quatro lotes (repetições no tempo) com 54 ovos cada.

143 No 16^o, 17^o e 18^o dias de incubação as temperaturas das cascas foram
144 mensuradas e registradas de forma aleatória em dois ovos/tratamento/repetição
145 em três momentos: antes, no tempo médio e ao final da MT, usando uma câmera
146 termográfica com resolução 0,1 e exatidão de 1,5% (TG165-X, FLIR[®],
147 Wilsonville, EUA). No 19^o dia o rolamento das chocadeiras foi desligado e as
148 temperaturas foram gradativamente reduzidas a 37,3, 37,0 e 36,8 °C nos dias
149 19, 20 e 21 de incubação (Viola et al., 2019). Após a eclosão, as aves vivas foram
150 quantificadas, pesadas e vacinadas contra Marek. Ainda duas aves de cada
151 tratamento/repetição (n=8) foram abatidas para a pesagem dos órgãos à
152 eclosão. A eclodibilidade (% de aves eclodidas/total de ovos incubados), peso
153 vivo (g) e peso dos órgãos à eclosão (g) foram avaliados.

154 ***Desempenho e características de carcaça***

155 Após a eclosão, as aves de cada tratamento foram alojadas em galpão
156 experimental de alvenaria telado sendo dois boxes de 12 aves/tratamento/lote,
157 totalizando 32 unidades experimentais (4 aves/m²). Os boxes (2,0 × 1,5 m) com
158 piso de cimento foram forrados com maravalha e providos de bebedouro infantil

159 durante a primeira semana e substituídos pelo bebedouro pendular a partir dessa
160 idade, e comedouros tubulares. O aquecimento do ambiente foi feito por meio de
161 campânulas com lâmpadas infravermelhas durante os primeiros dias de vida e
162 posteriormente foram mantidas em condições naturais, com temperaturas
163 reguladas por meio de cortinas. As aves receberam luz artificial por 24 horas e
164 todas receberam a mesma dieta *ad libitum*, assim como a água. As rações
165 experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais para
166 frangos de corte misto de desempenho médio superior (Rostagno et al., 2017)
167 de acordo com cada fase de criação (Tabela 1). O monitoramento da
168 temperatura e da umidade relativa do ar foi realizado às 7:00 e às 17:00 por meio
169 de termohigrometro digital (Simpla, TH02, Asko[®], São Leopoldo, Brasil). No
170 início e ao final de cada período de criação as aves, as rações fornecidas e as
171 sobras foram pesadas para determinação do ganho de peso (g) e do consumo
172 de ração (g). A conversão alimentar (g/g) foi calculada pela relação
173 consumo:ganho de peso.

174 Aos 21 e aos 42 dias de idade uma ave de cada box (total de 8
175 aves/tratamento) foi selecionada de acordo com o peso mais próximo do peso
176 médio da parcela, permaneceu em jejum de 6 horas, foi pesada novamente e
177 abatida por deslocamento cervical e posterior sangria na artéria jugular para a
178 coleta de amostras. As aves foram depenadas e evisceradas e as carcaças sem
179 cabeça e pés foram pesadas. O rendimento de carcaça (peso da carcaça limpa
180 e eviscerada / peso vivo antes do abate × 100), do peito (peso do peito com
181 osso/peso da carcaça × 100) e das coxas mais sobrecoxas (em relação ao peso
182 da carcaça × 100) foram avaliados. Também foram coletados e pesados os

183 órgãos linfoides (timo, baço e bursa de Fabricius) para a determinação do peso
184 relativo em relação ao peso vivo.

185 ***Parâmetros sanguíneos***

186 Aos 1, 21 e 42 dias de idades uma gota do sangue fresco obtida das aves
187 abatidas (n=8) foi utilizada para mensuração da concentração de glicose
188 utilizando-se o kit Accu-Check® (Roche, São Paulo, Brasil).

189 Para determinar o hematócrito, 2/3 de microcapilares foram preenchidos
190 com as amostras sanguíneas e depois centrifugados a 3000 x g por 10 minutos.
191 Em seguida, com o auxílio de uma régua graduada de 30cm calculou-se o
192 percentual do sangue ocupado pelas hemácias. Os microcapilares foram então
193 seccionados no limite entre o plasma e os elementos figurados do sangue, sendo
194 uma gota do plasma depositada no refratômetro analógico (RHC-200ATC,
195 Danoplus, Mainland, China) para determinação de proteína plasmática total
196 (PPT) em g/dL por refratometria.

197 Também foram colhidas uma amostra de sangue em 2/3 do tubo a vácuo
198 sem anticoagulante para as análises bioquímicas. As amostras foram
199 centrifugadas a 3000 x g por 10 minutos e o soro foi coletado e armazenado (-
200 80 °C) para a posterior análise. Os níveis séricos de corticosterona e T3 foram
201 mensurados por meio de kits ELISA (Cat.No. E0098Ch e Cat.No. E0022Ch,
202 respectivamente, Bioassay Technology Laboratory, Xangai, China).

203 Aos 42 dias de idade foi feito o esfregaço sanguíneo para posterior
204 contagem diferencial de leucócitos e relação heterofilos/linfócitos.

205

206

207 Expressão gênica de Proteínas do Choque Térmico (Hsp70)

208 Aos 42 dias de idade, uma amostra de fígado foi coletada assepticamente,
209 depositada em tubos *nuclease-free* e armazenada a -80 °C para a determinação
210 da expressão gênica de *Heat Shock Protein (HSP70)* (Rajkumar et al., 2016). O
211 desenho dos primers alvo e referência foi realizado usando sequências
212 registradas e publicadas no banco de dados público GenBank, da plataforma
213 National Center for Biotechnology Information (NCBI). (Acesso número: ACTB
214 (NM_205518.1), GAPDH (NM_204305.1) e HSP70 (J02579.1)). Os primers
215 foram desenhados utilizando o software OligoPerfect Designer (Invitrogen,
216 Karlsruhe, Alemanha) e sintetizados (Invitrogen, Carlsbad, EUA) - ACTB
217 (F:GATCTGGCACCACACTTTCT R:TCTTCTCTCTGTTGGCTTTGG),
218 GAPDH (F: AGATGCAGGTGCTGAGTATG
219 R:CTGAGGGAGCTGAGATGATAAC) e HSP70 (F:
220 GGATGAAGCCAACAGAGATAGG R: TTGTCCTGGTCACTGATCTTTC). O
221 RNA total foi extraído de 50 mg de uma amostra de fígado usando QIAzol
222 (QIAGEN, Valencia, Espanha). O RNA isolado foi tratado com DNA-free DNase
223 (Ambion, Austin, USA) de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade
224 (ng/μL) e qualidade (260/280 e 260/230) de RNA foram avaliadas usando um
225 espectrofotômetro (DeNovix DS-11, Wilmington, EUA) a 260 nm. O RNA total foi
226 submetido a eletroforese em 1,0% (m/v) de gel de agarose corado com gel de
227 ácido nucleico GelRed (Biotium, Hayward, EUA). Suas bandas de rRNA 28S e
228 18S foram analisadas usando um E-gel Imager Camera Hood (Life
229 Technologies, Neve Yamin, Israel) para checar uma possível degradação. A
230 síntese de cDNA foi realizada usando o HighCapacity cDNA Reverse
231 Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, EUA) de acordo com as

232 instruções do fabricante, e as amostras foram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A qPCR
233 em tempo real (RT-qPCR) foi realizada em um sistema Eppendorf Realplex
234 (Eppendorf, Hamburg, Alemanha) em um sistema de detecção SYBR Green
235 (Applied Biosystems, Foster City, EUA). PCRs foram incubadas em uma placa
236 de 96 poços a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 min, em seguida $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 min, seguido por 40
237 ciclos de $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15s e $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min.

238 As análises de RT-qPCR de cada gene estudado foi realizada usando
239 cDNA de oito repetições biológicas (aves), com duas repetições técnicas por
240 repetição biológica. Os resultados da RT-qPCR foram normalizados pelo método
241 do ciclo de limiar (CL) para a expressão dos genes de referência β -actin and
242 GAPDH (gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase). Os níveis de expressão relativa
243 foram calculados de acordo com o método descrito por Pfaffl (2001), com base
244 nos valores de CL que são corrigidos pela eficiência de amplificação para cada
245 par de primers.

246 ***Morfometria intestinal***

247 Para avaliação da morfologia da mucosa intestinal, amostras de 1 a 2cm
248 do jejuno foram coletadas aos 21 dias de idade, sendo avaliadas 8
249 aves/tratamento. As amostras foram lavadas com solução fisiológica para
250 remoção do conteúdo intestinal e colocadas em formalina tamponada a 10% por
251 24 horas. Em seguida, procedimentos histológicos de rotina foram aplicados.
252 Inicialmente as amostras foram desidratadas em soluções com concentrações
253 crescentes de etanol, depurado em xileno, incorporado em parafina,
254 microtomizado a $4,0\text{ }\mu\text{m}$, dispostos em lâminas, secas a 37°C durante a noite e
255 então corados com hematoxilina e eosina. As imagens foram analisadas usando
256 um microscópio Olympus (CX31; Olympus, Tóquio, Japão) acoplado a uma

257 câmera digital Altra (SC30, Olympus, Tóquio, Japão) usando o ImageJ software
258 (Ferreira e Rasband, 2012). Um total de 10 leituras foram feitas por lâmina. A
259 altura das vilosidades e a profundidade das criptas foram medidas. A altura foi
260 mensurada a partir da ponta das vilosidades até a sua junção com a cripta. A
261 profundidade da cripta foi definida como a profundidade da invaginação entre
262 vilosidades adjacentes. Posteriormente a relação vilosidade:cripta foi calculada.

263 ***Desafio térmico***

264 Aos 10, 17, 24 e 31 de idade das aves foram realizados testes de desafio
265 térmico (Walstra et al., 2010). Para este teste quatro câmaras climáticas acrílicas
266 (80 × 80 × 80 cm) equipadas com aquecedores, ventiladores e umidificadores
267 foram utilizadas (Schiassi et al., 2015). Em cada dia de teste, uma ave de cada
268 box experimental (n=8) foi selecionada aleatoriamente e levada até o Laboratório
269 de Ambiência do Departamento de Engenharia da Universidade Federal de
270 Lavras para a realização do teste. Durante os testes, os animais foram mantidos
271 durante 45 minutos sob a temperatura ambiente média obtida no dia anterior, à
272 qual já estavam supostamente adaptadas. Posteriormente, a temperatura da
273 câmara foi elevada em 5 °C. As aves foram expostas ao desafio por calor durante
274 45 minutos. Após a temperatura da câmara retornar à temperatura inicial, as
275 aves permaneceram nesse local por mais 45 minutos. A umidade relativa foi
276 fixada em 60% e a velocidade do ar em 0,2 m/s durante todo o período de análise
277 (Schiassi et al., 2015).

278 A cada 45 minutos de teste (antes do desafio, ao final do desafio e 45
279 minutos após) a temperatura cloacal (TC) foi mensurada por meio de
280 termômetros digitais e a frequência respiratória (FR) pela observação dos
281 movimentos por minuto. Após os testes, as aves foram marcadas para que não

282 fossem usadas nos testes nas semanas seguintes. Essa exclusão foi feita para
283 evitar a adaptação de frangos às câmaras.

284 ***Metabolizabilidade dos nutrientes***

285 Para o ensaio de metabolismo foram utilizados 128 pintinhos, machos e
286 fêmeas, com 15 dias de idade não pertencentes ao ensaio de desempenho, mas
287 mantidas nas mesmas condições em galpão experimental. As aves foram
288 alojadas em grupos de quatro, separadas por sexo, em gaiolas metabólicas (50
289 x 50 x 50 cm) com piso telado e providas de bebedouro de pressão (1 por gaiola)
290 e comedouro tipo calha localizado em toda a extensão dianteira. As gaiolas
291 permaneceram em sala equipada com exaustores no do setor de avicultura do
292 DZO/UFLA. Cada tratamento foi representado por 8 unidades experimentais
293 (n=8).

294 Até o 25º dia de idade foram mantidas quatro aves por gaiola. Do 25º dia
295 em diante, foram mantidas três. O monitoramento da temperatura e da umidade
296 relativa do ar foi realizado às 7:00 e às 17:00, por meio de termohigrômetro digital
297 (Simpla TH02, Asko®, São Leopoldo, Brasil) localizados no interior das gaiolas.

298 As excretas foram coletadas aos 22, 23 e 24 dias de idade e também aos
299 35, 36 e 37 dias, sempre pela manhã, seguindo a metodologia de coleta total de
300 excretas (Rodrigues et al., 2002). Durante o período de coleta, as bandejas foram
301 revestidas com plástico resistente, a fim de se evitar perdas. As rações (Tabela
302 1) foram mantidas em baldes identificados com cada parcela. Vinte e quatro
303 horas antes do início do período de coleta, os baldes tiveram a quantidade de
304 ração pesada, os comedouros esvaziados e imediatamente reabastecidos. Ao
305 final do período de coleta, os comedouros foram novamente esvaziados e as
306 sobras (comedouro + balde) pesados para a determinação do consumo.

307 Das excretas, todo material estranho como penas e partículas de rações
308 foram removidos antes das amostras serem acondicionadas em sacos plásticos
309 previamente identificados, pesadas e armazenadas em freezer até o final do
310 período experimental, quando foram descongeladas e homogeneizadas.
311 Amostras de 400 gramas de excretas foram submetidas a uma pré secagem em
312 estufa de ventilação forçada (55°C) durante 72 horas. Posteriormente, foram
313 novamente pesadas para a determinação da matéria pré-seca a 55°C e moídas
314 em moinho tipo faca, com peneira de dois milímetros.

315 As amostras foram para a determinação dos teores de matéria seca (MS),
316 cinzas, extrato etéreo e nitrogênio (N), assim como a amostra da ração, seguindo
317 as técnicas descritas por Silva e Queiroz (2002). Com base nos resultados
318 laboratoriais, foram avaliados os coeficientes de metabolizabilidade da matéria
319 seca, da proteína e do extrato etéreo das rações.

320 ***Análises estatísticas***

321 A eclodibilidade foi analisada usando o modelo linear generalizado (GLM)
322 para distribuição binomial com a função logit (Lourens et al., 2005). As demais
323 variáveis foram submetidas ao teste de normalidade e homoscedasticidade de
324 variância e então submetidas à análise de variância (ANAVA). Quando as
325 pressuposições da análise de variância não foram atendidas, os dados foram
326 transformados por função logarítmica. Em caso de diferença estatística, as
327 médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5%. O peso à eclosão foi
328 analisado usando delineamento em blocos casualizados com quatro tratamentos
329 e dados desbalanceados. No teste de desafio térmico foi analisada a interação
330 entre os tratamentos (T) e momento de avaliação (MA) para FR e TC. Para as
331 demais, o delineamento em blocos ao acaso com quatro tratamentos e oito

332 repetições foi utilizado. Toda análise estatística foi realizada no software STATA
333 16.0.

334

335 **Resultados**

336 ***Características de eclosão***

337 A eclodibilidade, o peso dos pintinhos à eclosão, parâmetros sanguíneos
338 e peso relativo de órgãos das aves pós eclosão não foram influenciados ($P>0,05$)
339 pela manipulação térmica durante a incubação (Tabela 2).

340 ***Desempenho***

341 Menor consumo de ração foi observado ($P<0,05$) a partir dos 21 dias de
342 criação das aves (Tabela 3). O ganho de peso não foi influenciado ($P>0,05$) até
343 os 33 dias de idade, porém, menor valor foi observado ($P<0,05$) aos 42 dias
344 quando o programa T_{24h} foi utilizado. Não houve efeito ($P>0,05$) da MT dos ovos
345 sobre a conversão alimentar das aves.

346 ***Parâmetros sanguíneos, peso de órgãos, características de carcaça e*** 347 ***expressão gênica no fígado***

348 Aos 21 dias de idade, o peso das aves, parâmetros sanguíneos, peso
349 relativo dos órgãos e morfometria da mucosa intestinal não foram afetados
350 ($P>0,05$) pela MT durante a incubação (Tabela 4). Aos 42 dias de idade também
351 não foram observadas alterações nos parâmetros sanguíneos e no peso relativo
352 dos órgãos, com exceção do hematócrito, que foi menor ($P<0,05$) quando os
353 programas T_{3h} e T_{24h} foram utilizados. Também não houve diferenças ($P>0,05$)

354 nas características de carcaça. Ainda nessa idade, as aves provenientes de ovos
355 submetidos ao T_{3h} apresentaram (P<0,05) maior expressão gênica de *Hsp70* no
356 fígado.

357 ***Desafio térmico***

358 A manipulação térmica durante a incubação de ovos não influenciou
359 (P>0,05) a frequência respiratória das aves submetidas ao desafio térmico aos
360 10, aos 17 e aos 24 dias de idade (Tabela 6). Aos 31 dias, maior frequência
361 respiratória foi observada nas aves provenientes de ovos submetidos ao T_{3h} e
362 T_{12h} antes, durante e depois do desafio. Quanto à temperatura cloacal, menores
363 valores foram observados (P<0,05) no T_{3h}, antes, durante e depois do desafio
364 das aves com 24 dias de idade (Tabela 7). Não houve efeito (P>0,05) da MT
365 durante a incubação sobre a temperatura cloacal nas demais idades avaliadas.

366 ***Metabolizabilidade dos nutrientes***

367 Não houve efeito (P>0,05) da MT durante a incubação sobre a
368 metabolizabilidade da matéria seca, cinzas, lipídeos e proteínas das rações
369 avaliadas aos 24 e aos 37 dias de idade das aves.

370

371 **Discussão**

372 Com base na literatura percebe-se que não há uma definição sobre a
373 melhor idade embrionária, tempo e temperatura de exposição dos ovos a MT
374 para obtenção de resultados significativos na incubação e de reposta a criação
375 em estresse térmico por calor. Os resultados encontrados no presente estudo
376 podem auxiliar futuras experimentações e também na tomada de decisões sobre

377 os aspectos técnicos da MT em incubatórios industriais, uma vez que se pode
378 observar que talvez a temperatura de 39° C nos tempos e períodos estudados
379 não seja capaz de desencadear respostas epigenéticas esperadas.

380 A busca pela determinação de qual fase crítica durante a embriogênese
381 se deve aplicar a MT é baseada na hipótese de que o "set point" ou "limiar de
382 resposta" dos sistemas de controle pode ser alterado mais eficientemente
383 durante o desenvolvimento e amadurecimento do eixo hipotálamo-hipófise-
384 tireóide (relacionado à termorregulação), eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (que
385 está relacionado ao estresse), ou ambos (Piestun et al., 2008). Assim, as
386 influências ambientais pré-natais podem influenciar a impressão do perfil
387 epigenético específico das células e resultar em respostas alteradas às
388 condições ambientais (Ross et al., 2015). Desse modo, o calor durante a
389 incubação de ovos embrionados leva a uma aquisição de tolerância térmica,
390 devido as alterações na expressão de proteínas de choque térmico (*Heat shock*
391 *protein - HSP*), na concentração de hormônios tireoidianos e corticosterona
392 (Baarendse et al., 2007).

393 A temperatura interna no ovo está diretamente relacionada ao
394 desenvolvimento embrionário e à eclodibilidade, uma vez que pode haver
395 bloqueio, ativação e alteração da velocidade com que as reações químicas
396 acontecem nos tecidos (Matos Júnior et al., 2020). No presente estudo, embora
397 a temperatura dos ovos tenha sido superior durante a MT das incubadoras, as
398 características de eclosão não foram afetadas. Esse resultado difere dos
399 encontrados por Leksrisompong et al. (2007). Esses autores observaram efeito
400 negativo no peso vivo e dos órgãos à eclosão quando a temperatura da casca
401 foi superior a 39,5°C a partir do 14° dia de incubação. Do mesmo modo, quando

402 submeteram os ovos a 39°C por 18h entre os dias 10 e 18 de incubação, Tarkhan
403 et al. (2020) constataram uma redução na eclodibilidade. Zaboli et al. (2016)
404 constataram uma redução na eclodibilidade quando submeteram os ovos a
405 39,5°C durante 12 horas/dia entre o 7° e 16° dia de incubação. Esses resultados
406 podem estar relacionados à idade embrionária na qual a MT foi realizada,
407 evidenciando que os embriões são mais suscetíveis as variações de temperatura
408 nas fases iniciais do período embrionário. Semelhantemente aos resultados do
409 presente estudo, Yahav et al. (2004) não observaram efeitos negativos na
410 eclodibilidade e no peso à eclosão quando elevaram a temperatura da
411 incubadora para 38,5°C durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação.
412 Esses resultados sugerem que os embriões têm capacidade de responder ao
413 aumento da temperatura ambiente na fase final do seu desenvolvimento.

414 Quando as aves se encontram acima da faixa de conforto térmico,
415 mudanças comportamentais e fisiológicas ocorrem no organismo a fim de facilitar
416 a dissipação do calor ou minimizar sua produção metabólica. Em temperaturas
417 elevadas a eficiência da perda de calor por processos sensíveis diminui
418 (Takahashi et al., 2009) assim é necessário fazer uso de outras vias, seja a perda
419 de calor por evaporação (aumento da FR) ou alterações nas taxas metabólicas
420 por alterações hormonais, como na concentração de hormônios tireoidianos
421 (Cândido et al., 2020).

422 Dentre as mudanças fisiológicas, observa-se um aumento nos níveis de
423 corticosterona (Vinoth et al., 2018) e redução nos níveis de triiodotironina (T3)
424 no sangue (Zaboli et al., 2016). Estes hormônios estão envolvidos na regulação
425 do metabolismo que se reflete na redução no consumo de ração. No presente
426 estudo não foram observados aumentos na concentração desses hormônios nas

427 aves recém-eclodidas e nem nas demais fases. Esse resultado sugere que o
428 aumento da temperatura durante a MT pode não ter sido suficiente para induzir
429 uma resposta fisiológica ao estresse. Zaboli et al. (2016) destacaram que frangos
430 submetidos a MT durante a incubação (39,5°C durante 12 horas/dia entre o 7° e
431 16° dia) exibiram mais resistência ao estresse por calor apresentando menor
432 mortalidade e melhor desempenho pós-eclosão das aves. Por outro lado, Ipek e
433 Sozcu (2015) constataram que o peso de abate aos 42 dias de idade foi menor
434 nos frangos provenientes de ovos incubados a 38,9 - 40,0°C entre o 10° e 18°
435 dia.

436 De acordo com Matos Júnior et al. (2020), a temperatura a qual os
437 embriões são submetidos durante a incubação tem efeito nas respostas dos
438 frangos frente ao ambiente de criação. No presente estudo não foram
439 observadas mudanças nas respostas fisiológicas das aves quando o teste do
440 desafio térmico foi aplicado. Por outro lado, observou-se que as aves
441 provenientes do T_{3h} apresentaram maior FR aos 31 dias de idade, menor
442 temperatura cloacal aos 24 dias, menor porcentagem de hematócrito e ainda
443 maior expressão de *Hsp70* no fígado aos 42 dias. Em conjunto essas variáveis
444 evidenciam que uma MT de curta duração pode ter efeito positivo na
445 termorregulação dos frangos de corte durante a fase de criação. Aminoroaya et
446 al. (2016) afirmam que, em condições normais, a *Hsp70* é sintetizada
447 constitutivamente e que quando as aves são expostas a condições de estresse
448 pode haver um aumento na expressão de *Hsp70* em resposta a um maior
449 número de proteínas desnaturadas que precisam de redobramento. A menor
450 porcentagem de hematócrito pode estar relacionada com um aumento no volume
451 plasmático, que acaba resultando em uma diluição das hemácias, associado a

452 um aumento no fluxo sanguíneo observado na vasodilatação periférica
453 importante mecanismo de perda de calor nas aves (Nascimento et al., 2013).

454 Alagawany et al. (2017) explicam que a redução no CR devido ao estresse
455 por calor pode levar a mudanças na estrutura do epitélio intestinal, de modo que
456 os processos de digestão e absorção são comprometidos. No presente estudo
457 embora menor CR tenha sido observado no T_{24h} não foi constatado efeitos
458 negativos na morfologia intestinal, e nem na metabolizabilidade dos nutrientes.

459 Conclui-se que a manipulação térmica durante a incubação pode
460 influenciar o desempenho e as características fisiológicas relacionadas à
461 termotolerância das aves. O aumento da temperatura de incubação para 39°C
462 durante 3 horas nos dias 16, 17 e 18 de incubação pode ser benéfico a
463 termorregulação das aves, sendo que esse aumento de temperatura mantido por
464 24h prejudica o desempenho dos frangos.

465 **Comitê de ética**

466 Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pela Comissão
467 de Ética no uso de Animais da Universidade Federal de Lavras – UFLA, sob
468 protocolo de número 028/18.

469 **Referências**

470 Alagawany, M., Farag, M.R., Abd El-hack, M.E., Patra, A., 2017. Heat stress: effects on
471 productive and reproductive performance of quail. *Worlds Poultry Science Journal* 73(4),
472 747–756. Doi: 10.1017/S0043933917000782.

473 Al-Zghoul, M.B., El-Bahr, S.M., 2019. Thermal manipulation of the broiler embryos:
474 expression of muscle markers genes and weights of body and internal organs during
475 embryonic and post-hatch days. *Bmc Veterinary Research* 15. Doi: 10.1186/s12917-
476 019-1917-6.

477 Al-Zghoul, M.B., Dalab, A.E., Ababneh, M.M., Jawasreh, K.I., Al Busadah, K.A., Ismail,
478 Z. B. 2013. Thermal manipulation during chicken embryogenesis results in enhanced

- 479 Hsp70 gene expression and the acquisition of thermotolerance. *Research in Veterinary*
480 *Science*, 95(2), 502-507. Doi: 10.1016/j.rvsc.2013.05.012.
- 481 Al-Rukibat, R.K., Al-Zghoul, M.B., Hananeh, W.M. Al-Natour, M. Q. And Abu-Basha, E.A.
482 2017. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and
483 temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler
484 chickens. *Poultry Science*, 96(1), 234-240. Doi: 10.3382/ps/pew298.
- 485 Amjadian, T., Shahir, M.H., 2020. Effects of repeated thermal manipulation of broiler
486 embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance. *International Journal*
487 *of Biometeorology* 64(12), 2177-2183. Doi: 10.1007/s00484-020-02012-w.
- 488
- 489 Aminoroaya, K., Sadeghi, A.A., Ansari-Pirsaraei, Z., Kashan, N., 2016. The effects of
490 cyclical higher incubation temperatures on body and organs weights, thyroid hormones
491 and *Hsp70* gene expression of newly hatched broiler chicks. *Kafkas Universitesi*
492 *Veteriner Fakultesi Dergisi*. 22 (4), 613-618. Doi: 10.9775/kvfd.2016.15213.
- 493 Awad, E.A., Najaa, M., Zulaikha, Z.A., Zulkifli, I., Soleimani, A.F., 2020 Effects of heat
494 stress on growth performance, selected physiological and immunological parameters,
495 caecal microflora, and meat quality in two broiler strains. *Asian-Australians Journal*
496 *Animal Science* 33(5), 778 – 787. Doi: 10.5713/ajas.19.0208.
- 497 Baarendse, P.J.J., Debonne, M., Decuyper, E., Kemp, B., Van Den Brand, H. 2007.
498 Ontogeny of avian thermoregulation from a neural point of view. *World's Poultry Science*
499 *Journal*, 63(2), 267-276. Doi: 10.1017/S0043933907001456.
- 500 Cândido, M.G.L., Tinôco, I.F.F., Albino, L.F.T., Freitas, L.C.S.R., Santos, T.C., Cecon,
501 P.R., Gates, R.S. 2020 Effects of heat stress on pullet cloacal and body temperature.
502 *Poultry Science*. Doi: 10.1016/j.psj.2019.11.062.
- 503 Fernandes, J.I.M., Santos, T.C., Kaneko, I.N., Horn, D., Leyter, J.r., Pasa, C.L.B., 2016.
504 Effect of thermal embryonic manipulation on the quality of male and female broiler meat
505 submitted to thermal stress pre-slaughter. *Brazilian Journal of Poultry Science* 18(2),
506 343-349. Doi: 10.1590/1806-9061-2015-0073.
- 507 Ferreira, T., Rasband, W., 2012. *ImageJ User Guide*, IJ 1.46r. Page 6. Disponível em:
508 <http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>.
- 509 Givisiez, P.E.N., Furlan, R.L., Malheiros, E.B., Macari, M. 2003. Incubation and rearing
510 temperature effects on Hsp70 levels and heat stress response in broilers. *Canadian*
511 *Journal of Animal Science* 83(2), 213-220. Doi: 10.4141/A02-038.
- 512 Goel, A., 2021. Heat stress management in poultry. *Journal of Animal Physiology and*
513 *Animal Nutrition* 00, 1–10. Doi: 10.1111/jpn.13496.
- 514 Ipek, A., Sozcu, A., 2015. The effects of high setter and hatcher temperatures during
515 incubation on slaughter weight and carcass yield in broilers. *Turkish Journal of Veterinary*
516 *and Animal Sciences* 39, 450-454. Doi:10.3906/vet-1406-30.
- 517 Leksrisonpong, N., Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Brannan, K.E., Brake, J.,
518 2007. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body

- 519 weight and organs of chicks. *Poultry Science* 86, 2685–2691. Doi:10.3382/ps.2007-
520 00170.
- 521 Leksrisompong, N., H. Romero-Sanchez, P. W. Plumstead, K. E. Brannan, S. Yahav,
522 and J. Brake. 2009. Broiler incubation. 2. Interaction of incubation and brooding
523 temperatures on broiler chick feed consumption and growth. *Poult. Sci.* 88:1321–1329.
- 524 Lourens, A., Van den Brand, H., Meijerhof, R., Kemp, B., 2005. Effect of eggshell
525 temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch
526 development. *Poultry Science* 84, 914-920.
- 527 Matos Júnior, J.B., Vicentini, T.I., Almeida, A.R., Morita, V.S., Sgaviolli, S., Boleli, I.C.,
528 2020 Hatching phase influences thermal preference of broilers throughout rearing. *PLoS*
529 *ONE* 15(7): e0235600. Doi:10.1371/journal. Pone.0235600.
- 530 Morita, V., Almeida, V.R., Matos Júnior, J.B., Vicentini, T.I., van den Brand, H., Boleli,
531 I.C., 2016 Incubation temperature alters thermal preference and response to heat stress
532 of broiler chickens along the rearing phase. *Poultry Science* 95(8), 1795-1804. Doi:
533 10.3382/ps/pew071.
- 534 Nascimento, S.T., Silva, I.J., Maia, A.S., Castro, A.C., Vieira, F.M. 2013. Mean surface
535 temperature prediction models for broiler chickens-a study of sensible heat flow.
536 *International Journal of Biometeorology*, 58(2), 195-201. Doi: 10.1007/s00484-013-
537 0702-7.
- 538 Pfaffl, M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-
539 PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 2002–2007. Doi: 10.1093/nar/29.9.e45.
- 540 Piestun, Y., Shinder, D., Ruzal, M., Halevy, O., Yahav, S. 2008. The effect of thermal
541 manipulations during the development of the thyroid and adrenal axes on in-hatch and
542 post-hatch thermoregulation. *Journal of Thermal Biology*, 33(7), 413-418. Doi:
543 10.1016/j.jtherbio.2008.06.007.
- 544 Rajkumar, U., Vinoth, A., Shanmugam, M., Rajaravindra, K., Rama Rao, S.V., 2016.
545 Effect of embryonic thermal exposure on heat shock proteins (Hsps) gene expression
546 and serum T3 concentration in two broiler populations. *Journal of Applied Animal*
547 *Research* 26(4), 260-267.
- 548 Rodrigues, P.B., Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Gomes, P.C., Nunes, R.V., Toledo,
549 R.S., 2002. Valores energéticos da soja e subprodutos da soja, determinados com
550 frangos de corte e galos adultos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(4), 1771-1782.
- 551 Ross, J.W., Hale, B.J., Gabler, N.K., Rhoads, R.P., Keating, A.F. Baumgard, L.H. 2015.
552 Physiological consequences of heat stress in pigs. *Animal Production Science*, 55(12),
553 1381-1390. Doi: 10.1071/AN15267.
- 554 Rostagno, H.S., et al., 2017. Brazilian tables for poultry and swine: Composition of
555 feedstuffs and nutritional requirements, 3ª edição, 251. Universidade Federal de Viçosa,
556 Viçosa-MG, Brasil.

- 557 Schiassi, L., Yanagi Júnior, T., Ferraz, P.F.P., Campos, A.T., Silva, G.R., Abreu, L.H.P.,
558 2015. Comportamento de frangos de corte submetidos a diferentes ambientes térmicos.
559 Engenharia Agrícola Jaboticabal 35(2), 390-396.
- 560 Silva, D.J., Queiroz, A.C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3ª
561 edição, 235. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.
- 562 Takahashi, L.S., Biller, J.D., Takahashi, K.M. 2009. Bioclimatologia zootécnica. 1 ed,
563 Jaboticabal.
- 564 Tarkhan, A.H., Saleh, K.M.M., Al-Zghoul, M.B., 2020. *HSF3* and *Hsp70* expression
565 during post-hatch cold stress in broiler chickens subjected to embryonic thermal
566 manipulation. *Veterinary Science* 7, 49. Doi:10.3390/vetsci7020049.
- 567 Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Shanmugam, M. , Uthrakumar, A., Suji, S., Rajkumar,
568 U. 2018. Evaluation of DNA methylation and mRNA expression of heat shock proteins in
569 thermal manipulated chicken. *Cell Stress Chaperones* 23(2):235-252. Doi:
570 10.1007/s12192-017-0837-2.
- 571 Viola, T.H., Bezerra, T.A., Sobreira, R.S., Costa, B.A., Lima Neto, A. F. 2019.
572 Considerações técnicas sobre a incubação de ovos de galinhas. In: E. Meio-Norte (ed.),
573 Teresina – Pi.
- 574 Walstra, I., ten Napel, J., Kemp, B., van den Brand, H., 2010. Temperature manipulation
575 during layer chick embryogenesis. *Poultry Science* 89(7), 1502-1508. Doi:
576 10.3382/ps.2009-00568.
- 577 Yahav, S., Sasson Rath, R., Shinde, D., 2004. The effect of thermal manipulations during
578 embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, body weight and
579 thermoregulation after hatch. *Journal of Thermal Biology* 29, 245–250. Doi:
580 10.1016/j.jtherbio.2004.03.002.
- 581 Zaboli, G.R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K., Baghbanzadeh, A., Mehri,
582 M. 2016. Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male
583 broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Poultry Science*, 96(2), 478-485. Doi:
584 <https://doi.org/10.3382/ps/pew344>.

585 **Tabela 1** Composição centesimal das rações para frangos de corte misto de
 586 desempenho médio superior de acordo com as fases de criação.

Ingredientes (%)	Idade das aves (dias)			
	1 a 7	8 a 21	22 a 33	34 a 42
Milho	46,941	48,379	53,608	62,570
Farelo de Soja 46%PB	45,754	43,489	37,988	30,334
Óleo de Soja	3,115	4,350	5,019	4,322
Fosfato Bicálcico	1,997	1,724	1,417	1,075
Calcário	0,962	0,861	0,793	0,668
Sal (NaCl)	0,509	0,496	0,472	0,447
DL-Metionina 99%	0,334	0,318	0,292	0,237
L-Lisina HCl 78,8%	0,099	0,090	0,132	0,162
L-Treonina 98%	0,034	0,033	0,039	0,026
Premix Vitamínico ¹	0,100	0,100	0,080	0,060
Premix Mineral ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Coccidiostático ³	0,060	0,060	0,060	0,000
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
Nutriente	Composição Calculada			
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3000	3100	3200	3250
Cálcio %	1,020	0,909	0,790	0,634
Fósforo disponível %	0,486	0,434	0,369	0,296
Sódio %	0,221	0,215	0,206	0,196
Proteína digestível %	22,560	21,700	19,730	17,105
Metionina digestível %	0,658	0,633	0,583	0,499
Lisina digestível %	1,355	1,293	1,192	1,033
Treonina digestível %	0,885	0,858	0,786	0,681
Triptofano digestível %	0,296	0,283	0,253	0,212

587 ¹Composição por kg de produto premix vitamínico: Ácido Fólico (min.) 902,5 mg; Acido
 588 Pantotênico (min.) 12,0 g; Biotina (min.) 77,0 mg; Niacina (min.) 40,0 g; Vitamina A (min.)
 589 8.800.000,0 UI; Vitamina B1 (min.) 2.499,0 mg; Vitamina B12 (min.) 16.200,0 mcg; Vitamina B2
 590 (min.) 5.704,0 mg; Vitamina B6 (min.) 3.998,4 mg; Vitamina D3 (min.) 3.000.000,0 UI; Vitamina
 591 E (min.) 30.000,0 UI; Vitamina K3 (min.) 2.198,1 mg. ²Composição por kg de produto premix
 592 mineral: Cobre (Min.) 7.000,0 mg; Ferro (Min.) 50,0 g; Iodo (Min.) 1.500,0 mg; Manganês (Min.)
 593 67,5 g; Selênio (min.) 349,6 mg; Zinco (Min.) 45,6 g. ³Narasina.

594 **Tabela 2** Eclodibilidade, peso à eclosão, parâmetros sanguíneos e peso de órgãos de
 595 pintinhos com 1 dia de idade proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica
 596 durante a incubação.

Variáveis	Tratamento ¹				SEM	P valor
	Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		
Incubadora (°C) ²	37,5	39,0	39,0	39,0	-	-
Casca (°C) ³	40,2	41,9	42,1	42,0	-	-
Eclodibilidade (%)	93,1 ± 1,7	93,1 ± 1,7	88,0 ± 2,2	89,4 ± 2,1	-	0,07
Peso à eclosão (g)	43,6 ± 0,2	43,5 ± 0,2	43,5 ± 0,2	43,5 ± 0,2	-	0,96
Glicose (mg/dL)	292,4	284,0	289,5	272,4	8,2	0,85
Hematócrito (%)	39,70	30,13	38,53	32,90	1,58	0,10
Corticosterona (ng/mL)	3,04	3,44	2,92	2,93	0,16	0,54
Tri-iodothyronina (ng/mL)	1,50	1,84	1,49	1,80	0,09	0,07
Timo (%)	0,49	0,42	0,47	0,42	0,03	0,75
Bursa (%)	0,15	0,17	0,14	0,13	0,01	0,27
Baço* (%)	0,05	0,03	0,04	0,04	0,00	0,74
Fígado (%)	2,67	2,43	2,58	2,55	0,05	0,26
Corção* (%)	0,86	0,76	0,79	0,74	0,02	0,11
Intestino (%)	4,83	3,90	4,64	4,57	0,19	0,41

597 ¹ **Ctrl** (controle - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** -
 598 Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de
 599 incubação, **T_{12h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos
 600 dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante
 601 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. ²Temperatura da incubadora durante a MT;
 602 ³Temperatura da casca do ovo durante o tempo médio da MT. *Dados transformados por função
 603 logarítmica.

604 **Tabela 3** Condições ambientais durante a criação e desempenho de frangos de corte
 605 provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.

Idade das aves	Temperatura média (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Umidade relativa (%)
1 a 7	28,8	32,6	23,5	41,6
7 a 14	25,5	29,4	22,2	66,1
14 a 21	24,5	27,9	21,2	60,8
21 a 28	23,9	27,5	20,0	64,9
28 a 35	25,5	29,7	20,5	56,3
35 a 42	23,9	28,8	20,4	71,6

Variável	Tratamento ¹				SEM	P valor
	Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		
Consumo de ração (g)						
1 a 21 dias	1081 ^a	1067 ^a	1069 ^a	1036 ^b	10,7	0,05
1 a 33 dias	2923 ^a	2895 ^a	2874 ^a	2800 ^b	27,2	0,03
1 aos 42 dias	4782 ^a	4813 ^a	4728 ^a	4593 ^b	53,6	0,05
Ganho de peso (g)						
1 a 21 dias	876	875	878	835	14,5	0,14
1 a 33 dias	2069	2065	2012	1979	33,3	0,21
1 aos 42 dias	2941 ^a	2950 ^a	2919 ^a	2849 ^b	26,8	0,05
Conversão alimentar						
1 a 21 dias	1,24	1,22	1,22	1,25	0,0	0,46
1 a 33 dias	1,42	1,41	1,43	1,42	0,0	0,84
1 aos 42 dias	1,63	1,63	1,62	1,62	0,0	0,89

606 ¹ **Ctrl** (controle - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** -
 607 Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de
 608 incubação, **T_{12h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos
 609 dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante
 610 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. ^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na linha
 611 diferem pelo teste Scott-Knott (P≤0,05).

612 **Tabela 4** Parâmetros sanguíneos, peso dos órgãos e morfometria intestinal de frangos
 613 aos 21 dias de idade provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante
 614 a incubação.

Variáveis	Tratamento ¹				SEM	P valor
	Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		
Peso (g)	904,5	869,25	865,25	863,87	15,46	0,13
Glicose (mg/dL)	318,0	317,0	323,5	304,0	6,7	0,48
Hematócrito (%)	33,92	27,63	30,99	26,88	1,41	0,23
Proteína plasmática total (g/dL)	1,343	1,343	1,343	1,343	0,000	0,72
Corticosterona (ng/mL)	2,07	2,15	2,12	2,16	0,12	0,99
Tri-iodothyronina (ng/mL)	1,45	1,59	1,66	1,52	0,11	0,96
Timo (%)	0,52	0,49	0,51	0,62	0,03	0,54
Bursa (%)	0,22	0,21	0,26	0,23	0,01	0,51
Baço* (%)	0,08	0,09	0,09	0,09	0,00	0,64
Fígado (%)	2,39	2,48	2,64	2,50	0,04	0,21
Coração* (%)	0,64	0,63	0,62	0,71	0,02	0,19
Intestino (%)	4,91	4,97	5,10	5,14	0,10	0,73
Altura de vilosidade (µm)	1211,71	1120,71	1149,03	1203,25	48,93	0,80
Profundidade de cripta µm)	215,85	216,93	207,37	196,7	6,69	0,49
vilosidade:cripta (µm/ µm)	5,81	5,2	5,65	6,19	0,24	0,49

615 ¹ **Ctrl** (controle– - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** –
 616 Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de
 617 incubação, **T_{12h}** – Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos
 618 dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** – Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante
 619 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. *Dados transformados por função logarítmica.

620 **Tabela 5** Parâmetros sanguíneos, peso relativo dos órgãos, expressão de *Heat shock*
 621 *protein 70 (Hsp70)* no fígado, rendimento de carcaça e cortes de frangos aos 42 dias de
 622 idade provenientes de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.

Variáveis	Tratamento ¹				SEM	P valor
	Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		
Peso (g)	3030,50	3008,75	2973,00	2911,25	53,29	0,14
Glicose* (mg/dL)	302,50	303,50	285,25	296,87	6,51	0,72
Hematócrito (%)	28,06 ^a	24,27 ^b	30,42 ^a	25,91 ^b	0,78	0,01
Proteína plasmática total (g/dL)	1,343	1,344	1,343	1,343	0,000	0,28
Corticosterona (ng/mL)	3,11	3,44	3,21	3,07	0,18	0,86
Tri-iodothironina (ng/mL)	1,68	1,93	1,55	1,64	0,09	0,43
Timo (%)	0,49	0,54	0,54	0,49	0,02	0,80
Bursa (%)	0,17	0,14	0,16	0,15	0,01	0,68
Baço* (%)	0,11	0,10	0,10	0,10	0,01	0,61
Fígado (%)	1,98	1,95	1,91	1,91	0,03	0,85
Coração* (%)	0,47	0,47	0,50	0,47	0,01	0,52
Intestino (%)	3,90	3,59	3,71	3,43	0,07	0,10
<i>Hsp70</i> no fígado	1,000 ^a	1,640 ^b	1,035 ^a	0,920 ^a	0,166	0,04
Heterófilo (%)	30,5	38,87	32,25	30,20	7,83	0,99
Linfócito (%)	63,83	60,37	61,58	64,71	7,29	0,95
H/L	0,51	0,54	0,52	0,50	0,19	0,99
Peso ao abate (g)	2935,25	2926	2860,25	2832,25	53,20	0,23
Carcaça (%)	75,94	75,27	76,13	76,06	0,33	0,121
Peito (%)	36,93	39,40	38,36	38,41	0,41	0,23
Coxa+sobrecoxa (%)	28,17	27,17	27,66	27,22	0,29	0,40

623 ¹ **Ctrl** (controle - - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** -
 624 Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de
 625 incubação, **T_{12h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos
 626 dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante
 627 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. *Dados transformados por função logarítmica.
 628 ^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

Tabela 6 Frequência respiratória durante o teste de desafio térmico de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.

Idade das aves	Momento de avaliação	Temperatura (°C) ¹	UR (%) ²	Tratamento ³				SEM	P valor		
				Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		Tratamento (T)	Momento de avaliação (MA)	T*MA
10 dias	Antes do desafio	26,4±0,3	59,6±1,6	60,5	64,5	60,5	57,5	3,4	0,76	0,47	0,75
	Logo após o desafio	31,3±0,4	57,4±1,4	61,5	64,0	58,0	63,5				
	45 minutos após	26,7±0,3	59,9±0,8	57,0	55,5	58,0	55,0				
17 dias	Antes do desafio	25,2±0,4	59,8±0,9	63,0 ^a	63,5 ^a	63,5 ^a	67,0 ^a	3,2	0,63	0,002	0,85
	Logo após o desafio	29,9±0,3	59,5±0,8	67,5 ^a	63,0 ^a	61,0 ^a	62,5 ^a				
	45 minutos após	25,2±0,3	60,1±0,8	56,5 ^b	58,0 ^b	53,5 ^b	57,5 ^b				
24 dias	Antes do desafio	23,8±0,3	60,0±0,7	60,0	55,5	60,5	64,5	6,1	0,42	0,09	0,99
	Logo após o desafio	28,5±0,3	59,6±0,9	65,0	61,0	59,0	69,0				
	45 minutos após	23,9±0,4	59,9±0,8	52,5	49,5	56,5	57,5				
31 dias	Antes do desafio	24,8±0,4	59,5±1,6	55,0 ^{Bb}	63,5 ^{Ab}	58,5 ^{Ab}	44,0 ^{Bb}	8,1	0,01	<0,001	0,94
	Logo após o desafio	29,5±0,4	58,9±1,3	79,5 ^{Ba}	93,0 ^{Aa}	94,0 ^{Aa}	65,0 ^{Ba}				
	45 minutos após	24,8±0,3	60,1±0,7	50,5 ^{Bb}	57,0 ^{Ab}	59,5 ^{Ab}	46,0 ^{Bb}				

¹Temperatura da câmara durante os testes de desafio térmico. ² Umidade relativa do ar nas câmaras durante os testes de desafio térmico. ³Ctrl (controle - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, T_{3h} - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação, T_{12h} - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação e T_{24h} - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. ^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna dentro de cada idade das aves diferem pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

Tabela 7 Temperatura cloacal durante o teste de desafio térmico de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.

Idade das aves	Momento de avaliação	Temperatura (°C) ¹	UR (%) ²	Tratamento ³				SE M	P valor		
				Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		Tratamento (T)	Momento de avaliação (MA)	T*MA
10 dias	Antes do desafio	26,4±0,3	59,6±1,6	40,2	40,3	40,4	40,5	0,1	0,09	0,15	0,38
	Logo após o desafio	31,3±0,4	57,4±1,4	40,2	40,5	40,7	40,5				
	45 minutos após	26,7±0,3	59,9±0,8	40,2	40,4	40,2	40,4				
17 dias	Antes do desafio	25,2±0,4	59,8±0,9	40,8 ^a	40,6 ^a	40,5 ^a	40,7 ^a	0,1	0,79	<0,001	0,95
	Logo após o desafio	29,9±0,3	59,5±0,8	40,9 ^a	40,7 ^a	40,7 ^a	40,5 ^a				
	45 minutos após	25,2±0,3	60,1±0,8	40,4 ^b	40,3 ^b	40,3 ^b	40,3 ^b				
24 dias	Antes do desafio	23,8±0,3	60,0±0,7	40,7 ^{Aa}	40,6 ^{Ba}	40,9 ^{Aa}	40,8 ^A	0,1	0,00	<0,001	0,78
	Logo após o desafio	28,5±0,3	59,6±0,9	40,9 ^{Aa}	40,8 ^{Ba}	41,0 ^{Aa}	40,9 ^A				
	45 minutos após	23,9±0,4	59,9±0,8	40,6 ^{Ab}	40,4 ^{Bb}	40,6 ^{Ab}	40,8 ^A				
31 dias	Antes do desafio	24,8±0,4	59,5±1,6	41,0 ^a	41,1 ^a	41,2 ^a	40,9 ^a	0,1	0,09	<0,001	0,97
	Logo após o desafio	29,5±0,4	58,9±1,3	41,1 ^a	41,2 ^a	41,4 ^a	41,2 ^a				
	45 minutos após	24,8±0,3	60,1±0,7	40,8 ^b	40,8 ^b	40,9 ^b	40,7 ^b				

¹Temperatura da câmara durante os testes de desafio térmico. ² Umidade relativa do ar nas câmaras durante os testes de desafio térmico. ³**Ctrl** (controle- - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação, **T_{12h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. ^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna dentro de cada idade das aves diferem pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

Tabela 8 Metabolizabilidade da matéria seca, cinzas, lipídeos e proteína de frangos de corte proveniente de ovos submetidos a manipulação térmica durante a incubação.

Coeficientes de metabolizabilidade (%)	Tratamento ¹				SEM	P valor
	Ctrl	T _{3h}	T _{12h}	T _{24h}		
22 a 24 dias de idade*						
Matéria seca	72,16	72,33	72,03	71,39	0,18	0,33
Cinzas	89,71	89,28	89,88	89,60	0,27	0,57
Lipídeos	90,79	90,40	90,68	90,57	0,19	0,83
Proteína bruta	65,15	66,19	65,03	66,07	0,46	0,72
35-37 dias de idade*						
Matéria seca	74,04	74,86	74,22	74,20	0,52	0,90
Cinzas	88,95	88,90	89,12	89,03	0,21	0,97
Lipídeos	90,39	90,20	90,30	90,19	0,12	0,94
Proteína	67,82	69,64	70,19	68,96	0,55	0,41

¹ **Ctrl** (controle - - incubação dos ovos a 37,5 °C durante todo o período de incubação, **T_{3h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 3 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação, **T_{12h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 12 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação e **T_{24h}** - Aumento da temperatura de incubação para 39 °C durante 24 horas/dia nos dias 16, 17 e 18 de incubação. *22 a 24 dias: temperatura máxima 28,3°C, mínima 20,8°C e umidade relativa 62,25%. 35 a 37 dias: temperatura máxima 29,7°C, mínima 21,6°C e umidade relativa 64,94%.