

Fatores que interferem no desenvolvimento embrionário e seus efeitos nos problemas metabólicos pós-eclosão em frangos de corte

Edgar Orlando Oviedo Rondón e Alice Eiko Murakami*

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil.

*Author for correspondence.

RESUMO. As condições controladas dos matrizeiros e incubatórios permitem manipular alguns problemas da indústria avícola, enquanto o estudo da fisiologia é necessário para encontrar as soluções adequadas. Assim, o desenvolvimento embrionário é influenciado pela nutrição, idade, genética e estado fisiológico da matriz no momento da ovoposição, como também pelo fornecimento adequado de oxigênio desde a ovoposição até a eclosão, e pela temperatura e umidade relativa do incubatório. A hipóxia pré-eclosiva é um estímulo para a bicagem, mas, se o tempo cronológico em que ocorre não é sincrônico com as maturações pulmonar e cardíaca e com o metabolismo embrionário a hipóxia será maior e influenciará o aparecimento de doenças. As linhagens modernas de frangos têm diminuído a produção dos hormônios tiroideanos, ocasionando menor condutância da casca, habilidade materna, atividade glicogênica e armazenamento de glicogênio no embrião para a eclosão, resultando numa maior hipoxia pré-eclosiva, maior incidência da ascite e outros problemas pós-natais.

Palavras-chave: ascite, crescimento, embrião, hipóxia, metabolismo.

ABSTRACT. Interfering factors in chick embryo development and their effect on post-hatching metabolic problems. Breeder farm and hatchery controlled conditions allow the handling of poultry production problems while the study of physiology is necessary to find appropriate solutions. Thus, pre-hatching growth is influenced by nutrition, age, genetics and metabolism of the layer at the laying moment, by adequate oxygen supply from laying to hatching, as well as by hatchery temperature and relative humidity. Pre-hatching hypoxia is a stimulus for pipping but if it is not synchronous to lung and heart maturation and embryonic metabolism, its lasting will favor the occurrence of diseases. Thyroid hormone production has decreased in modern broiler lines thus diminishing eggshell conductance, layer investment, embryo glycolytic activity and glycogen stock resulting in a longer pre-hatching hypoxia and ascite and other post-hatching diseases.

Key words: ascite, chick embryo, development, hypoxia, metabolism.

A última fase da incubação ou prenhez e nascimento é um dos períodos de maior impacto no crescimento pós-natal dos vertebrados, já que é uma mudança drástica de um ambiente aquoso protegido para um meio aeróbico totalmente diferente. Esta fase nas aves inclui absorção de água, retração do saco vitelino, maturação funcional do pulmão, transição de uma respiração cório-alantóide para uma pulmonar, bicagem e nascimento, ocorrendo ao mesmo tempo um desenvolvimento da resposta homeotérmica.

Nesse período, do 18º ao 21º dia de incubação (em frangos e poedeiras), há uma pronunciada mudança em hormônios tiroideanos, corticosteróides, hormônios do eixo somatotrófico,

prolactina, vasotocina e melatonina. Muitas pesquisas sustentam as influências desses hormônios nos processos de maturação, antes e/ou durante o nascimento (Dewil *et al.*, 1996).

No nascimento e na primeira inspiração de ar têm-se observado mudanças na taxa metabólica, relacionadas a alterações na produção de calor e quociente respiratório. É conhecido, também, que neste período ocorre 60% de incremento no consumo de oxigênio nos embriões das aves (Decuyper *et al.*, 1991), e se iniciam os mecanismos de regulação da termogênese (Decuyper, 1984; Tazawa e Ranh, 1987, citados por Decuyper *et al.*, 1991).

Essas observações fazem com que o estudo detalhado dos fatores que afetam este processo e

posterior manipulação dos mesmos possa ter grande impacto na produção avícola, tendo em conta que muitos dos problemas da avicultura podem ser controlados desde o período embrionário. Um destes é a síndrome da ascite (Coleman e Coleman, 1991), pois a seleção genética e diminuição da incidência de ascite, com manejo, pode ser possível sem, necessariamente reduzir a taxa de crescimento (Vereijkem e Albers, 1990). A hipóxia e alta taxa de crescimento das linhagens melhoradas são as bases fisiopatológicas da ocorrência da ascite, podendo surgir no embrião durante o intervalo entre a bicagem e a eclosão (Odom *et al.*, 1995). Por exemplo, conhece-se que a duração da incubação e do período pré-eclosivo tende a ser diferente nas várias linhagens de frangos com desiguais susceptibilidades à ascite. A seleção genética atualmente proporciona que na incubação se trabalhe com embriões de maior potencial genético para crescimento, exigindo melhoria nos conhecimentos de manejo na fase embrionária dos animais melhorados para alta produção, para, assim obter mais pintos recém-nascidos de excelente qualidade.

Uma hipóxia embrionária é a causa de boa parte da mortalidade durante a eclosão e de grandes perdas econômicas nos incubatórios. O efeito da hipóxia sobre a maturação pulmonar normal determina uma maior susceptibilidade a males respiratórios que é outro dos grandes problemas da avicultura. Igualmente, uma hipóxia pré-eclosiva, ocasiona mudanças nos valores normais de exigências energéticas para o metabolismo basal na vida pós-natal, pois os mecanismos metabólicos oxidativos e termorregulatórios também se estabelecem neste período (Christensen *et al.*, 1995).

São vários os fatores externos que influenciam a respiração do embrião (condutância da casca), a duração da incubação e as condições de produção comercial, e: genética, nutrição, idade das matrizes, condições de manejo dos ovos antes da incubação e manipulação do processo de incubação (temperatura, umidade relativa, viragem dos ovos e ventilação). Dentro dos fatores internos, foi demonstrado que as interrelações hormonais endógenas do embrião, junto com a disponibilidade de oxigênio, o metabolismo de nutrientes dentro do ovo e a genética do embrião são as que vão determinar as características da fase final do crescimento embrionário, bem como influenciar o crescimento pós-natal.

Dentro dos hormônios vinculados a mecanismos de regulação do crescimento embrionário, os hormônios tireoideanos triiodotironina (T_3) e a tiroxina (T_4) têm recebido especial atenção, tanto

por sua influência sobre o metabolismo como por existirem diferenças nos níveis desses hormônios entre linhagens susceptíveis e resistentes à ascite.

Por isso, no presente artigo, será descrito e discutido: o processo fisiológico normal da eclosão como é entendido até agora; os fatores externos que têm maior influência no processo pré-natal de embriões de frangos e como eles podem ser manipulados para melhorar a taxa de incubação e diminuir a incidência de ascite; o desenvolvimento da pesquisa e as perspectivas em torno dos hormônios tireoideanos e algumas relações com outros hormônios nesta fase de crescimento embrionário; relações do metabolismo embrionário e os possíveis manejos para diminuir a incidência da síndrome ascítica; as características de composição do ovo e parte do metabolismo embrionário que estão influenciados pelo metabolismo materno durante a formação do ovo e alguns dos fatores nutricionais que podem influenciar a fisiologia da última fase do crescimento embrionário das aves.

Fisiologia do processo da bicagem e eclosão

O final da vida pré-natal engloba uma complexa e coordenada seqüência de eventos. Estes eventos são dependentes do desenvolvimento da musculatura de suporte (*Musculus complexus*) e o do peito (*Musculus pectoralis*), ambos de fibras musculares brancas e modificações dos sistemas circulatório e respiratório e a retração do saco vitelino (Decuyper *et al.*, 1991).

Nas aves e nos répteis, há um período de desenvolvimento onde se têm a cório-alantóide e os pulmões funcionais. Neste período, chamado de parafetal ou peri-natal, a primeira respiração inicia, provavelmente, no momento que o bico penetra a membrana interna da casca, para entrar na câmara de ar do ovo (bicagem interna). Depois, a casca é quebrada pelo “dente do bico” (bicagem externa). Esse período entre bicagem interna, quando a respiração começa, e a bicagem externa dura cerca de 8 a 9 horas. Neste período, a hipóxia pode ter influência radical tanto na sobrevivência do embrião como nos processos metabólicos e no desenvolvimento pós-natal (Decuyper *et al.*, 1991).

Em condições normais, a ruptura da casca ocorre sem penetração da câmara interna. Então, a bicagem externa não ocorre sempre em tempo fixo, depois de iniciar a respiração pulmonar. Fatores como temperatura, umidade relativa, luz, choques, respiração do embrião e troca de gases podem afetar o desenvolvimento de todos os sistemas fisiológicos do embrião ou só alguns componentes de forma desuniforme, podendo ocorrer também uma combinação das duas situações, dependendo da

causa, da duração do mesmo e do período em que é aplicado, ocasionando modificações nos tempos da eclosão (Christensen *et al.*, 1994). Por isso, a coordenação da condutância da casca do ovo, no fornecimento de oxigênio e a eliminação de dióxido de carbono, maturação de tecidos, disponibilidade de energia, taxa metabólica (regulada por um controle multi-hormonal do eixo hipotálamo-hipófise), influência materna, genética e muitos outros fatores ainda a determinar, devem combinar-se numa seqüência exatamente coordenada para que os processos da bicagem e da eclosão ocorram em condições que permitam a eclosão e o normal desenvolvimento pós-natal da ave (Christensen *et al.*, 1995).

A regulação hormonal do processo da eclosão é dada pelo controle do eixo hipotálamo-hipófise, que se estabelece pouco antes da eclosão e principalmente por estímulos tireotrófico, somatotrófico e corticotrófico. O hormônio liberador de tireotrofina (TRH) aumenta as concentrações plasmáticas dos hormônios estimulantes da tireóide, tireotrofina (TSH) e do hormônio de crescimento (GH) (Kühn *et al.*, 1996).

A concentração de triiodotiroxina (T_3), na fase de pré-eclosão, aumenta rapidamente só no momento da transição de respiração cório-alantóide a pulmonar, e os níveis de tiroxina (T_4) não são afetados. Hoje, é conhecido que o hormônio liberador corticotrófico (CRH) também estimula o aumento dos níveis dos hormônios tireoideanos pela liberação dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosterona (glicocorticóides) (Kühn *et al.*, 1996).

Por outro lado, é preciso levar em conta que, pela seleção genética, agora existem animais com uma alta liberação de GH (aves de rápido crescimento) a qual afeta os níveis dos fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF's), especialmente o Tipo I (IGF-I). Este se incrementa no momento da eclosão, ao mesmo tempo que T_3 , por isso é proposta uma relação entre estes dois hormônios que agem na regulação da eclosão.

Igualmente, os níveis de outros hormônios, tais como prolactina, arginina-vasotocina (AVT), mesotocina (MT) e melatonina se incrementam ao final da incubação, podendo estar relacionados com o processo da eclosão.

Primeira respiração pulmonar e eclosão

Para a transição de uma respiração cório-alantóide à respiração pulmonar, a inspiração e oxigenação são importantes. A inspiração está determinada pela disponibilidade de ar e à redução na tensão da superfície alveolar devida à produção de

surfatante; enquanto que para a oxigenação precisa-se de um incremento no suplemento de sangue aos pulmões.

A disponibilidade de ar será discutida mais adiante. A produção de surfatante, que é uma substância fosfolípida (complexo proteico dipalmitoil-lectina DSPC) que reduz a tensão superficial, promove estabilidade pulmonar durante a respiração e dá maior histerese ao ciclo de expansão e compressão. Este surfatante aumenta no embrião depois do 18º dia de incubação, coincidindo com um aumento dos hormônios prolactina, corticosterona e tiroxina (Wittmann *et al.*, 1987), sendo os corticosteróides o principal hormônio envolvido na síntese de DSPC (Decuyperre *et al.*, 1991).

O incremento do fluxo sanguíneo pulmonar no período pré-natal é controlado pelo hormônio ornitoquinina, a forma da bradicinina nas aves, cuja síntese é catalisada pela enzima ornitocalicreína (ACE), as quais se incrementam nos dias 18º e 20º da incubação. A atividade de ornitocalicreína é aumentada depois da entrada do embrião na câmara de ar do ovo, a qual pode ser devido à hipóxia neste período, ocasionando um maior fluxo sanguíneo ao pulmão. Isto poderia ser outra causa do início da bicagem interna e externa, indicando, então a importância de um bom fornecimento de oxigênio para evitar uma hipóxia exagerada no embrião.

A respiração pulmonar tem como pré-requisito remover o líquido amniótico que invade o trato respiratório, ocorrendo um dia antes da eclosão. Com isto, há uma perda normal de água do ovo ao final da incubação de 14% do peso inicial, a qual está em função da condutância da casca e na fase final à atividade de prolactina, AVT e aldosterona, para diminuir o volume de líquido alantóide. No 18º dia de incubação, a atividade de filtração glomerular renal é incrementada a $2,11 \pm 0,8$ ml/hora, comparada à atividade que tem ao 10º dia de $0,61 \pm 0,8$ ml/h (Murphy *et al.*, 1991).

Igualmente, para que a eclosão possa ter sucesso, é preciso a retração do saco vitelino, que será a fonte de nutrientes do pintinho para a eclosão, horas depois (Puvadolpirod *et al.*, 1997). Essa retração está ligada ao controle dos hormônios tireoideanos T_3 e T_4 (Decuyperre *et al.*, 1991). Também esta retração do saco vitelino é dependente do tipo de lipídeo que a matriz depositou na gema do ovo (Latour *et al.*, 1995).

Influência da condutância da casca no fornecimento de oxigênio para o embrião

O crescimento do embrião é diretamente dependente do fornecimento de oxigênio. O ovo é um sistema que suporta a vida do embrião e só precisa de aquecimento, viragem periódica e

oxigênio. O ovo respira pela difusão do oxigênio através de microscópicos poros da casca. Esta observação é a base do conceito biológico de condutância da casca que pode determinar a quantidade de energia para o embrião, a maturação final dos tecidos e o início da eclosão (Christensen *et al.*, 1995).

Esta condutância, além de intercâmbio de gases, regula a perda de água, gás carbônico (CO₂) e calor. A medida dessa condutância do ovo intacto é representada pela primeira lei de Ficks, a qual estabelece que a quantidade de um gás difundido numa unidade de tempo através dos poros da casca será proporcional à área dos poros disponíveis, para difusão, e à diferença entre a concentração do gás difundido nos lados externo e interno do poro. Ou seja, aumentando a área disponível para difusão de um gás e aumentando a diferença de concentração daquele gás, através da casca, aumenta a taxa de passagem. Medindo o fluxo do gás e dividindo pela diferença de concentração deste gás, através dos poros, se obtém a condutância (Ranh *et al.*, 1979).

$$G_{H_2O} = (A_p / L) (D_{H_2O} / RT)$$

G_{H_2O} = Condutância em mg de H₂O/dia/torr

A_p = Área total de poros da casca em cm²

L = Espessura da casca em cm

D = Difusibilidade de um gás

$1/RT$ = Coeficiente de capacitância cm³.torr⁻¹=mm

Hg.

Pode-se obter o mesmo valor pela medida de perda de água e diferenças nas pressões de vapor de água.

$$G_{H_2O} = (M_{H_2O}/D) \div (P_1 - P_0)$$

M_{H_2O} = Massa de água perdida em mg

D = Período de tempo em dias

P_1 = Pressão de vapor de água dentro da casca em torr.

P_0 = Pressão de vapor de água fora da casca em torr.

A teoria da condutância estabelece um estado ou período de platô no consumo de oxigênio do ovo que estimula muitos processos fisiológicos da bicagem e eclosão. Para o estudo desse processo nas aves, os perus são um excelente modelo, porque apresentam a taxa de sobrevivência mais baixa naquele período pré-eclosivo entre todas as espécies avícolas.

Ar e Rahn (1978), citados por Christensen (1995), demonstraram a interdependência da condutância, duração do período de incubação e o

peso do ovo. Estes fatores definem a constante de condutância.

$$\frac{G_{H_2O} \times I}{W} = K$$

G_{H_2O} = Condutância em mg de H₂O/dia/torr

I = Duração do período de incubação em dias

W = Peso do embrião em gramas.

K = 5,13 ± 0.86 SD

Segundo esta equação, pode-se fazer algumas inferências. Por exemplo, como o peso do ovo (W) aumenta com a idade da matriz, ocorrem perdas menores de água (M_{H_2O}) em ovos que vêm de aves maiores. Igualmente, a seleção genética aumentou o peso do ovo em 45% e diminuiu as constantes de condutância, sugerindo que os embriões das aves selecionadas têm menor acesso ao oxigênio do que as aves não melhoradas ou que precisam mudar o período de incubação (I) (Coleman e Coleman, 1991). Portanto, é possível que, ao menos dentro de espécies e entre linhagens, os embriões têm alterado alguns mecanismos metabólicos, de acordo com as condições existentes (homeorrese) para cumprir com a constante de condutância.

No 19º dia (platô) aumenta a necessidade de oxigênio e a difusão não pode suprir essa exigência, apresentando uma hipóxia que estimula o embrião à bicagem interna e à eclosão. Este estímulo pode ser também neurofisiológico ou por mudanças do equilíbrio ácido-básico e/ou pressão de gases ou combinação destes fatores (Ranh *et al.*, 1979).

Para que ocorra a eclosão do embrião, no período final da incubação, deve-se satisfazer vários requisitos: 1. A perda de água deve ser 12% a 14% em relação ao peso inicial; 2. A concentração de dióxido de carbono na câmara de ar deve aumentar de 0,25% para 6%; 3. A concentração relativa de oxigênio deve diminuir de 20,9% para 14%. A condutância da casca determina todas estas condições. As tensões de gases dependem da constante de condutância da casca e mantêm um papel fisiológico importante na fase final da incubação e no estabelecimento dos valores normais do equilíbrio ácido-básico do sangue (Christensen, 1995).

A perda de água pela difusão de vapor é um dos requisitos para uma eclosão normal. Se não fosse assim, o efeito aditivo da água metabólica aumentaria o conteúdo de água do ovo. É conhecido que por cada grama de gordura metabolizada da gema origina-se uma grama de água. A pressão de vapor dentro do ovo é de 44 torr. E para que o ovo perca peso, é necessário que a pressão de vapor externa, no microclima da incubadora, seja de 15 torr.,

equivalente a uma umidade relativa de 45%. É mais fácil que essa umidade externa aumente do que diminua, por isso a probabilidade de morte embrionária pela inadequada perda de água é maior (Ranh *et al.*, 1979).

Na situação de incubação em altas altitudes, os coeficientes de difusibilidade de gases respiratórios (D_{H_2O}/RT) da Lei de Ficks se incrementam pela diminuição da pressão parcial de oxigênio. Por isso, aumenta a troca de gás através da casca e a condutância também incrementa. Se a condutância é maior, com um peso constante do ovo, o período de incubação deve aumentar para manter a constante de condutância. O embrião possui a habilidade de adaptar-se às mudanças da condutância da casca e à pressão de oxigênio, pelos ajustes fisiológicos ligados ao coração e ao fígado.

A casca é responsável pela saída de dióxido de carbono e vapor de água do ovo, mas o fluxo de oxigênio para o embrião depende da casca e das membranas internas do ovo (Rahn *et al.*, 1979). Então, a oxigenação do embrião não termina na captura de oxigênio para dentro do ovo e saída de CO_2 . O transporte desses gases dentro do embrião pelos vasos sanguíneos do cório-alantóide também tem uma grande importância. Numa hipóxia, os embriões respondem com uma maior afinidade ao oxigênio, menor atividade metabólica (maior tempo de incubação) e menor crescimento tanto em órgãos (pulmão e coração), como em peso total, pelo atraso no crescimento.

Em condições comerciais, fornecer oxigênio adicional à incubadora não é tarefa fácil, mas, se as condições de ventilação e fornecimento de ar fresco são deficientes, as mesmas podem ser melhoradas. A condutância da casca pode melhorar pela melhor nutrição da matriz, especialmente pela administração de iodo e por métodos de manejo da pré-incubação, como lavagem com soluções de hipoclorito de sódio, que, além de diminuir a contaminação microbiana, melhoram a difusão de gases respiratórios para evitar a hipóxia pré-eclosivo. No entanto, a condutância da casca pode ser obstruída por tratamentos com outro tipo de desinfetantes que tamponam os poros da casca, o que aumentará a incidência da ascite nos frangos (Odom *et al.*, 1995).

Atividade hormonal durante o crescimento embrionário e sua influência na hipóxia pré-eclosiva

Dentre os estímulos que provocam a bicagem interna, encontra-se um estímulo dos hormônios tireoideanos junto com os adrenocorticóides e a melatonina, responsáveis pela maturação dos tecidos intestinal, pulmonar, osmorregulação e desenvolvimento da homeotermia. O pico de

concentração de tiroxina ocorre antes da bicagem interna. Em embriões de linhagens selecionadas para crescimento mais rápido, susceptíveis à ascite, se observa menor atividade tireoideana (relação T_4/T_3 e atividade de 5'-deiodinase hepática), durante a eclosão (McNabb *et al.*, 1993), comparados com linhagens resistentes à síndrome (Cristensen *et al.*, 1995; Decuypere *et al.*, 1995; Dewil *et al.*, 1996; Dunnington *et al.*, 1996). Isto também foi estudado em perus de linhagem melhorada (Christensen *et al.*, 1995).

Assim, como a duração do intervalo entre o início da respiração pulmonar e a eclosão (tempo mais propício para uma hipóxia pré-natal) é dependente de tiroxina, as aves melhoradas são mais susceptíveis à ascite (Decuypere *et al.*, 1991). Frangos de linhagens susceptíveis à ascite demoram em média 8 a 10 horas a mais para que ocorra a eclosão. Uma explicação desta demora pode ser a de que níveis menores de T_3 e T_4 têm influência em um menor metabolismo e acúmulo de glicogênio no coração e fígado, fonte de energia para a bicagem interna e a saída da casca.

Os níveis altos de hormônios tireoideanos nas aves não melhoradas, não susceptíveis à ascite, ou o fornecimento adicional de T_3 e T_4 ou precursores destes, ocasionam uma eclosão mais precoce. Devido a estes fatores que correspondem à própria genética do animal, não se pode mudar esta susceptibilidade, mas o fornecimento de oxigênio deve ser o melhor possível ou a seleção genética deverá ser feita de acordo com os níveis de hormônios tireoideanos (Chineme e Buyse, 1995).

Por outro lado, parece que não existem diferenças significativas na liberação pulsátil de GH entre aves melhoradas e não melhoradas, mas existem diferenças significativas de IGF-I, sendo maior em aves susceptíveis à ascite (16.1 ± 2.5 ng/ml), comparadas às aves "resistentes" (12.8 ± 1.9 ng/ml) (Dewil *et al.*, 1995). Isto pode ser uma causa para maior acúmulo de proteína na linhagem susceptível à ascite, que junto com a menor taxa de degradação de proteína derivam em mais massa muscular no crescimento e em maiores necessidades de oxigênio.

As catecolaminas, dopamina e epinefrina, por serem hormônios envolvidos com o estresse, são ativados pela hipóxia na última fase da incubação, antes da bicagem, sendo a norepinefrina a mais importante, pois é encontrada uma alta correlação entre este hormônio e a glicose, já que a norepinefrina é um dos mediadores da glicólise anaeróbica para a sobrevivência do embrião numa hipóxia pré-eclosiva.

Foram reportadas alterações na resposta adrenal ao estresse, na função da célula adrenocortical

atribuída a alelos autossomais e aos ligados ao sexo em frangos não melhorados (Carsia e Weser, 1986), indicando que essa resposta pode haver mudado em aves melhoradas.

A melatonina (N-acetil-5-methoxitriptamina) é um hormônio que é sintetizado na glândula pineal, na retina e no intestino. É possível que a melatonina reajuste o *set-point* da temperatura corporal, como ocorre em aves silvestres que mudam a taxa metabólica no inverno. Igualmente, foi medida a afinidade dos receptores de melatonina nos diversos tecidos, sendo o pulmão e o baço os mais afins ao hormônio. Isto sugere a possibilidade de a melatonina ser um hormônio importante na regulação dos sistemas cárdio-pulmonar, excretório, termorregulatório, do comportamento, imune e neuro-endócrino (Pang *et al.*, 1996).

Os trabalhos de Song *et al.* (1995) e Pang *et al.* (1996) encontraram que o pico de densidade (concentração de melatonina por unidade de tecido) de melatonina se observava 2 dias depois da eclosão (medida no baço), e isto pode dar uma idéia da participação deste hormônio em resposta ao estresse do nascimento e ao estabelecimento do metabolismo aeróbico e à termorregulação.

Song *et al.* (1995) determinaram que o pico de ligação hormônio-receptor da melatonina, medida no rim do frango, ocorre entre o 9º e 14º dia, que coincide com a idade em que se atinge a plenitude na habilidade termorregulatória nas aves. Tendo em conta as considerações anteriores e sabendo que este hormônio começa a liberar-se desde o 10º dia de desenvolvimento embrionário, é possível que durante a eclosão a melatonina também regule alguns mecanismos cardiopulmonares e um melhor entendimento de sua função naquele processo poderia contribuir para melhorar a resposta às variações de temperatura ambiental (Rozemboin e Miara, 1995), que parecem estar relacionadas ao aparecimento de doenças metabólicas como a ascite e a síndrome da morte súbita.

Influências dos fatores externos na incubação e eclosão

Depois da fertilização, o embrião é continuamente afetado pelo ambiente. Variáveis, como temperatura, umidade relativa, ventilação, viragem dos ovos, posição dos ovos e a luz, devem ser controladas para uma ótima incubação.

E quanto à temperatura, os embriões são basicamente pecilotermos durante a incubação e, pelo aumento no metabolismo, só respondem a uma baixa de temperatura de 3°Celsius (°C), a partir do 19º dia de incubação. Por isso, a temperatura é um fator crítico para o crescimento embrionário

especialmente no último período. Aumentos de temperatura resultam em períodos mais curtos de incubação, porém é discordante dos processos normais de maturação de tecidos, de produção de hormônios tireoideanos, metabolismo, consumo de oxigênio e mudança nas constantes da condutância pela diminuição do período de incubação, o que pode ocasionar uma hipóxia pré-natal. Sabe-se, por exemplo, que um aumento em 0,5°C afeta o metabolismo de carboidratos no período de hipóxia (Christensen, 1993).

Al-Hassani (1993) conduziu um estudo com o objetivo de comparar a resposta pré e pós-eclosiva de embriões, expostos ao estresse pelo frio (temperatura de 30°C) no 12º ou 16º dia de incubação, com embriões cujos ovos foram incubados em condições normais de temperatura, encontrando que a eclodibilidade, o peso ao 20º dia de incubação e aos 7 dias pós-eclosão foram maiores nos embriões expostos ao estresse pelo frio. Igualmente, a mortalidade destes embriões foi menor aos 7 dias e o nível de glicogênio foi mais alto e o peso do fígado menor. Isto indica que a diminuição da temperatura na incubadora, em algumas fases do crescimento, pode servir para que o embrião ajuste seu metabolismo e maturação dos tecidos para fazer a eclosão com sucesso e ter menores problemas na vida pós-natal.

A temperatura do ovo necessária para o desenvolvimento do embrião depende de temperatura de incubação, produção de calor metabólico do embrião e condutância térmica entre o ovo e o ar circundante (Tullet, 1990).

$$T_{\text{ovo}} = T_{\text{inc}} + (H_{\text{emb}} - H_{\text{perda de água}}) / K$$

T_{ovo} = Temperatura do ovo em °Celsius

T_{inc} = Temperatura da incubadora em °Celsius

H_{emb} = Produção de calor em Watts

$H_{\text{perda de água}}$ = Perda de calor do embrião pela evaporação da água, em Watts.

K = Condutância térmica do ovo e características limites do ar ao redor do ovo (Watts por Celsius)

$$K = (0.97 \cdot U^{0.6}) M^{0.58}$$

U = Velocidade do ar (cm/seg)

M = Massa do ovo (gramas)

Segundo esta equação, uma boa velocidade do ar melhora a condutividade térmica (k) do ovo. Por outro lado, existe probabilidade de que haja variações nas temperaturas ótimas para incubação entre ovos ou linhagens de frangos (French, 1997).

A umidade relativa correta tanto na incubadora como no nascedouro garantem a perda de água

necessária para a eclosão. Uma excessiva umidade ocasiona fechamento dos poros da casca e hipóxia antes da idade cronológica normal. Isto, também, pode ser a causa de que a concentração de CO₂ e O₂ na câmara de ar não seja ótima, tendo maiores possibilidades de hipóxia entre a bicagem interna e externa.

Normalmente, a umidade da incubadora expressa-se em termos de umidade relativa, mas as máquinas incubadoras regulam a umidade interna pela medida do bulbo úmido para regular os umificadores. Por isso, os ajustes manuais devem ser feitos, observando também o bulbo seco. Igualmente, deve-se observar que o sistema de resfriamento ("coolers" evaporativos) produz alta umidade, sendo que esta pode acumular-se em regiões da máquina, se a ventilação não for a correta, ocasionando fechamento dos poros da casca do ovo.

Se a fonte de água para o "cooler" estiver fria, pode haver queda aparente da temperatura causando ligação automática da máquina, fechando também o sistema de ventilação. Isto acontece porque quase todos os modelos de incubadoras não permitem entrada de ar externo para dentro da máquina quando o aquecedor estiver ligado, para diminuir o gasto de energia, causando, assim diminuição no fornecimento de ar fresco, incrementando a probabilidade de ascite. Tem-se observado que há menor incidência de ascite em frangos que são produzidos em incubatórios de clima quente, onde o ar externo e a água permanecem à temperatura ideal para os propósitos de incubação.

Coleman e Coleman (1991) encontraram que a ventilação inadequada do sistema da incubadora resultava em diminuição da concentração de oxigênio, incompleta maturação do sistema cardiopulmonar, já que a hipóxia impede a multiplicação das células cardíacas, ocasionando um coração menor, que terá que fazer mais esforço para bombear um volume sanguíneo similar e, a longo prazo derivará numa maior incidência de ascite. A ventilação é ainda mais importante em regiões com maior umidade relativa, pois reduz a umidade; por outro lado, em altas altitudes, o sistema de ventilação das máquinas incubadoras pode incrementar a tensão de oxigênio ao redor dos ovos (Abdellatif, 1993).

O fluxo de ar dentro da máquina incubadora influencia a distribuição da temperatura efetiva sobre a superfície e no interior dos ovos. Este deve variar de acordo com a atividade metabólica do embrião, pois os embriões, depois da segunda metade da incubação (10 dias), começam a produzir mais calor do que aquele perdido pelo processo evaporativo na casca e é requerido um maior fluxo de ar para retirar

esse calor adicional, para que não afete os outros ovos e não eleve a temperatura do mesmo. Em condições de produção comercial, deve-se tratar de oferecer ar fresco todo o ano, pois de acordo as condições climáticas do ar fora da máquina, nos corredores do incubatório ou de onde se toma o ar para ventilar a máquina, se faz necessário aquecer ou resfriar o ambiente para evitar problemas nos sistemas de controle térmico da máquina.

Outro fator a ser considerado é a viragem dos ovos (90°, cada hora), necessária para um desenvolvimento normal do embrião (Tullet e Deming, 1987). Isto é obtido nas máquinas incubadoras por uma inclinação de 45° das bandejas. Observando o espaço entre bandejas no momento da viragem, verifica-se que alguns modelos de incubadora dificultam o passagem do fluxo de ar, fazendo que este seja desuniforme para os ovos. Se não existir um bom fluxo de ar ou se este não for uniforme, as diferenças de temperatura, fornecimento de oxigênio e saída de CO₂, não serão adequadas para um desenvolvimento fisiológico e cronológico coordenado do embrião, incrementando-se as probabilidades de hipóxia (Tullet e Deming, 1987).

A posição dos ovos, no momento de introduzi-los nas bandejas da incubadora, é fundamental para a formação da câmara de ar do ovo e também aumenta a probabilidade de que o processo de eclosão ocorra pela via da bicagem interna. Possivelmente, uma correta posição do ovo permite que as trocas de gases através da casca sejam normais durante o processo de incubação. Então, é necessário avaliar todos os fatores anteriores, relativos à máquina incubadora, para melhorar a eclodibilidade, diminuir a mortalidade pela hipóxia pré-natal ou seus efeitos e, deste modo, obter um ótimo estabelecimento dos mecanismos termorregulatórios e metabólicos no embrião de acordo com a linhagem e as condições ambientais que o pintinho enfrentará.

Metabolismo embrionário pode influenciar hipóxia pré-eclosiva

O estado de desenvolvimento pode ser assíncrono, no período de platô de consumo de oxigênio, com a taxa metabólica determinada geneticamente nos embriões de linhagens melhoradas. A seleção genética parece afetar o metabolismo embrionário e os embriões das linhagens modernas têm maior eficiência na utilização de nutrientes do ovo, resultando em um crescimento mais rápido (Dunnington e Siegel, 1996).

A fonte energética normal do embrião na primeira fase do desenvolvimento é o lipídeo

acumulado na gema (Decuyper, 1991). A conversão metabólica de ácidos graxos dos lipídeos da gema para ácidos graxos poliinsaturados é necessária para numerosas atividades dos tecidos embrionários em crescimento, formação de membranas e células cerebrais e da retina. A síntese de eicosanóides provenientes dos ácidos graxos é importante para estimular a diferenciação de mioblastos e condrócitos e, considerando que a bicagem é dependente do desenvolvimento muscular, o tipo de ácido graxo também afeta uma hipóxia pré-natal (Watkins, 1995).

Quando a quantidade de oxigênio for insuficiente, o embrião usará menos lipídeos e mais glicogênio dos tecidos como fonte de energia, pois necessita-se menos oxigênio para metabolizar carboidratos que lipídeos, isto em preparação para a hipóxia do estado de platô pré-eclosiva. Existe uma menor capacidade nos embriões das aves melhoradas para acumular glicogênio em tecidos, sugerido como uma consequência da baixa atividade dos hormônios tiroideanos. O fígado produz e acumula o glicogênio e o coração só acumula, pois este último não tem atividade de gluconeogênese (Christensen *et al.*, 1995).

As linhagens melhoradas têm menor capacidade para ressintetizar glicose a partir de lactato (atividade da enzima Glicose 6-fosfato), nos músculos ou de proteína e ácidos graxos, nos rins. Por isso, os embriões dependem da influência materna, pois esta e o fornecimento de oxigênio tendem mudar as taxas metabólicas (Christensen *et al.*, 1994) com o propósito de que seu desenvolvimento seja sincrônico com a idade da hipóxia. Então, existem diferenças genéticas nos padrões de metabolismo com base na constituição genética, com o objetivo de compensar variações na constituição de sólidos do ovo e nas constantes de condutância. A matriz influencia o metabolismo embrionário pelas características de condutância da casca, ocasionando diferenças na entrada de oxigênio e no tipo de substrato a oxidar como nutriente, o que também modifica as necessidades de oxigênio (Christensen, 1996).

Por último, o metabolismo embrionário de microminerais também é afetado por breves períodos de hipóxia na última fase de crescimento alterando o peso das membranas extra-embriônicas e a mobilização e homeostase dos micro-minerais. Assim, uma hipóxia resultará, por exemplo, em aumento nos níveis de ferro com incremento na hemoglobina e hematócrito (Richards, 1997).

Influência materna no crescimento embrionário

Tem sido observado que alguns fatores genéticos da matriz, junto com as condições fisiológicas no

momento da formação do ovo, influenciam as características da casca, tais como a condutância, espessura, número e diâmetro dos poros, como a atividade da glicose 6-fosfatase para a gliconeogênese, a concentração de glicose sanguínea do embrião durante a eclosão e o tipo e quantidade de energia disponível para o embrião; este último, dado pela influência materna no ovo (Christensen *et al.*, 1994).

As diferenças nestas características são determinadas pela idade da matriz (Yafei e Noble, 1990; Tomas *et al.*, 1995), etapa da postura (Christensen, 1994), tempo de ovoposição (Oguike, 1995), e tipo de linhagem (Nir *et al.*, 1990; Christensen, 1993, 1995). Dentro dos fatores da matriz, que podem influenciar o metabolismo do embrião, os hormônios tiroideanos, especialmente T_3 , parecem ter uma maior importância.

As aves adultas selecionadas para rápido crescimento têm afetado o processo de deiodização do T_4 a T_3 , bloqueado pelo GH ou IGF-I, o que resulta em menores níveis de T_3 , maior peso relativo dos ovos, comparando-os com aves não melhoradas e com uma menor condutância da casca. Dessa forma, a administração de triiodotironina (T_3), na dieta a matrizes de linhagens melhoradas, reduz as concentrações sanguíneas de T_4 , aumenta o T_3 e melhora a condutância da casca, aumentando a eclodibilidade. O iodo é um substrato para a produção do hormônio tiroideano que parece afetar a formação dos poros do ovo (Christensen, 1991). Um fornecimento adequado de iodo de acordo com a linhagem melhora a eclodibilidade e parece que as matrizes de linhagens melhoradas precisam até dez vezes mais dos requisitos determinados pelo NRC (1994), pois o valor de 0,35mg/kg de alimento foi determinado por Creek *et al.* (1957), citado pelo NRC (1994), em aves Plymouth Rock, as quais têm sido selecionadas para rápido crescimento por mais de 35 gerações (Dunnington e Siegel, 1996).

Existem diferenças dadas pela seleção genética quanto à influência materna entre linhagens de frangos. Christensen (1995) encontrou que matrizes da linhagem melhorada Arbor Acres influenciaram mais no albume e menos na gema dos ovos, comparados a aves não melhoradas. A diferença em acúmulo de sólidos na gema indica o tipo de fonte mais disponível para o embrião. Desse modo, entre mais sólidos na gema, o ovo conterá mais gordura e com mais sódios no albume, o ovo tenderá a conter mais carboidratos, ambos constituindo o total de energia investida.

A gema contém só lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) de 25 a 46nm de diâmetro, que são as únicas VLDL que passam através da lâmina

granulosa basal do ovário e se ligam aos receptores apolipoproteínas B (ApoB) para a endocitose, na formação da gema, para permitir que seja liberado o óvulo. É possível que a presença ou ausência de certos ácidos graxos na dieta seja desejável para a formação da gema e posterior desenvolvimento embrionário (Lin *et al.*, 1991; Tomas *et al.*, 1995).

A eficiente formação de VLDL pode ser afetada por fatores, como quantidade de alimento consumido, idade da matriz (Latour *et al.*, 1995) e a capacidade dos tecidos para metabolizar o tipo de ácido graxo. Mudanças no metabolismo do colesterol no interior do fígado da matriz podem afetar diretamente a habilidade materna para formar VLDL ou responder a certas dietas ricas em gorduras.

Estabelecer a causa e os efeitos das mudanças do metabolismo dos lipídeos em matrizes de acordo com o linhagem e o melhor tipo de ácido graxo que elas podem metabolizar para um depósito lipídico adequado para o crescimento embrionário é um área interessante para pesquisa, já que baixas taxas de incubação em matrizes pesadas jovens têm sido associadas com reduzida mobilização de lipídeos da gema pelo embrião, por causa da alterada composição de ácidos graxos da gema (Tullet, 1990).

Igualmente, alterações nas propriedades coloidais das lipoproteínas, tais como diâmetro e conformação de apoproteína B, que podem ocorrer em situações de estresse nutricional ou climático, por deficiência de aminoácidos ou liberação de hormônios esteróides, também podem ocasionar diferenças na utilização de gema pelo embrião (Griffin, 1992).

Excesso de gordura da matriz ou peso elevado da mesma ocasiona uma maior atividade da lipase lipoproteica presente no epitélio vascular, o que reduz a quantidade de VLDL para formação da gema. Isto pode ser tão crítico como interromper a postura, mas pode influenciar na existência de uma menor participação materna na gema, ainda que os problemas relacionados com gordura e ácidos graxos nas dietas de matrizes, às vezes, possam ocorrer em lotes comerciais sem serem detectados (Wilson, 1997).

Como o ovo é um sistema fechado, em termos de substâncias orgânicas, todos os nutrientes para o desenvolvimento embrionário devem ser fornecidos pela matriz, quando o ovo é formado. Por isso, alguns nutrientes essenciais como microminerais e vitaminas devem ser fornecidos na ração da matriz de acordo com o nível de produção e a idade da mesma. Dentro das exigências de vitaminas estabelecidas pelo NRC (1994) é de observar que este não tem sido alterado há mais de 10 anos. No entanto, o melhoramento genético, o tamanho do ovo e os níveis de produção aumentaram (Whitehead, 1996).

Referências bibliográficas

- Abdellatif, M.A. Effect of season on fertility, hatchability and embryonic mortalities of chicken eggs under high altitude environment at Gitege - Burundi. *Assiut Veter. Med. J.*, 56:120-127, 1993.
- Al-Hassani-D. Production and biochemical studies on chick embryos under cold stress. *Ind. J. Anim. Sci.*, 63(1):46-49, 1993.
- Bagley, L.G.; Christensen, V.L. Hatchability, hematological indices, and growth of turkey embryos incubated at high altitude with supplemented oxygen during the first and fourth weeks of incubation. *Poultry Sci.*, 70(2):358-365, 1991.
- Carsia, R.V.; Weser, H. Genetic dependent alterations in adrenal stress response and adrenocortical cell function of the domestic fowl. *Proceed. Soc. Exper. Biol. Med.*, 188:99-103, 1986.
- Coleman, M.A.; Coleman, G.E. Ascites control through proper hatchery management. *World Poultry*, 20(10):33-35, 1991.
- Chineme, C.N.; Buyse, N. Interaction of genotype, egg shell conductance and dietary T₃ supplementation in the development of heart syndrome and ascites in broiler chickens. *Archiv fur Geslugelkunde*, 59(2):129-234, 1995.
- Christensen, V.L.; Donaldson, W.E.; Ort, J.F. Influence of diet mediated maternal thyroid alterations on hatchability and metabolism of turkey embryos. *Poultry Sci.*, 70:1594-1601, 1991.
- Christensen, V.L., Havenstein, G.B.; Davis, E.S. Egg characteristics, carbohydrate metabolism and hatchability of commercial turkey eggs. *Poultry Sci.*, 73(2):236-244, 1994.
- Christensen, V.L. Factors affecting hatchability of turkey embryos. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 6(1):71-82, 1995.
- Christensen, V.L.; Havenstein, G.B.; Davis, E.S. Egg characteristics, carbohydrate metabolism and thyroid hormones in late chick embryos from different genetic lines. *Poultry Sci.*, 74(3):551-562, 1995.
- Darras, V.M.; Buyse, J.; Decuyper E. Hormonal and nutritional influence on thyroid hormone deiodinating enzymes. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 6(4):314, 1995.
- Decuyper, E.; Dewil, E.; Kühn, R. The hatching process and the role of hormones. *Avian incubation*, London: Butterworth-Heinemann. 1991. p.239-256.
- Decuyper, E., Kühn, E.R.; Clijmans, B. Effect of blocking T₄ monoiodination on hatching in chickens. *Poultry Sci.*, 61:1194-1201, 1995.
- Dewil, E., Buys, N.; Buyse, J. GH pulsatility does not differ between ascites resistant and sensitive broiler chickens. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 6(4):263, 1995.
- Dewil, E.; Buys, N.; Albers, A.A. Different characteristics in chick embryos of two broiler lines differing in susceptibility to ascites. *Brit. Poultry Sci.*, 37:1003-1013, 1996.
- Dunnington, E.A.; Siegel, P.B. Long-term divergent selection for eight-week body weight in white plymouth rock chickens. *Poultry Sci.*, 75(10):1764-1771, 1996.

- French, N.A. Modeling incubation temperature: The effects of incubator design, embryonic development, and egg size. *Poultry Sci.*, 76(1):124-133, 1997.
- Griffin, H.D. Manipulation of yolk cholesterol: a physiologist's view. *World's Poultry Sci.*, 45:101, 1992.
- Kühn, E.R.; Geris, K.A.; Berghman, E.R.; Decuyper, E. Multifactorial hypothalamic control of the thyroid axis during growth and development of the chicken. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 6(4):313, 1996.
- Latour, M.; Peebes, D.; Boyle, R.C. Broiler breeder age on serum lipids and yolk retention in newly hatched chicks. 84 th. Annual Meeting Poultry Science Association. *J. Poultry Sci. Assoc.*, 74(Supplem. 1), 1995.
- Lin, D.S., Connor, W.E.; Anderson, G.S. The incorporation of n-3 and n-6 essential fatty acids into the chick embryo from eggs yolks having different fatty acid compositions. *Pediatric Res.*, 28(6):601-605, 1991.
- McNabb, F.M.A.; Dunnington, E.A.; Siegel, P.B. Perinatal thyroid hormones and hepatic 5'-deiodinase in relation to hatching time in selected lines of chickens. *Poultry Sci.*, 72:1764-1771, 1993.
- Murphy, M.J.; Brown S.C.; Clark N.B. Compartmental analysis and glomerular filtration in chick embryos. *Amer. J. Physiol.*, 6(261):1478-1483, 1991.
- National Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry*. Ninth Revised Edition, Washington D.C.: National Academy Press, 1994. 155 p.
- Nir, I.; Dunnington, E.; Siegel, P.B. Composition of eggs from dwarf and normal chickens before incubation and at hatching in lines selected for 56-day body weight. *Poultry Sci.*, 69(9):1621-1624, 1990.
- Odom, T.M.; Rosebaum, L.M.; Jeffrey, J.S. Experimental reduction of eggshell conductance during incubation. I. Effect on the susceptibility to ascites syndrome. *Avian Dis.*, 39:821-829, 1995.
- Oguike, M.A. Influence of ovoposition time on some functional properties of egg shell of the domestic fowl, kept in warm humid tropics. *Nig. J. Anim. Product.*, 22(2):1-4, 1995
- Pansky, T.; Peebes, E.D.; Doyle, S.M. Effects of broiler age, diet and cuticle removal on eggshell conductance and embryogenesis. 84 th. Annual meeting Poultry Science Association. *Offic. J. Poultry Sci. Assoc.*, 74(Supplem. 1):2, 1995.
- Puvadolpirod, S.; Thompson, J.R.; Green, J.; Latour, M. Influence of yolk on blood metabolites in perinatal and neonatal chickens. *Growth, Develop. and Aging*, 67(1):39-45, 1997.
- Pang, S.F.; Pang C.S.; Poon, A.M.S. An overview of melatonin and melatonin receptors. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 8(1):217-228, 1996.
- Rahn, H.; Ar, A.; Paganelli, C. How bird eggs breathe. *Scient. Amer.*, 240(46):38-45, 1979.
- Richards, M.P. Trace mineral metabolism in the avian embryo. *Poultry Sci.*, 76(1):152-164, 1997.
- Rozenboim, D.W.; Miara, L. The role of melatonin in thermoregulation behavior of white leghorn laying hens. 84th Annual Meeting of Poultry Science Association. *Offic. J. Poultry Sci. Assoc.*, 74(supl. 1):77, 1995.
- Song, Y.; Poon, A.M.S.; Brown G.M.; Pang, S.F. Ontogeny of 2[¹²⁵I]iodomelatonin binding sites in the chicken (*Gallus domesticus*) kidney and spleen. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 73:685. Abstract.
- Swann, G.S.; Brake J. Effect of dry bulb temperature, relative humidity and eggshell conductance during days 17 to 21 of incubation on egg weight loss and chick weight. *Poultry Sci.*, 69(4):545-553, 1990.
- Tomas, P.E.; Peebes, D.; Doyle, S.M. Effects of saturated and unsaturated dietary fat sources on broiler breeder performance and eggshell quality through post peak production. 84th Annual Meeting Poultry Science Association. *Offic. J. Poultry Sci. Assoc.*, 74, supl. 1. 1995.p. 2.
- Tullet, S.F.; Deming, D.C. Failure to turn eggs during incubation. Effects on embryo weight, development of the chorioalantoides and absorption of albumen. *Brit. Poultry Sci.*, 28:239-243, 1987.
- Tullet, S.G. Science and art of incubation. *Poultry Sci.*, 69:1-15., 1990.
- Vereijken, A.J.; Albers, G.A. The genetics of ascites susceptibility in broilers. *Proceedings of VIII European Poultry Conference*, Barcelona: 525-528. 1990.
- Walzen, R.L. Lipoproteins and the laying hen: Form follows function. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 7(1):31-64, 1996.
- Watkins, B.A. Biochemical and physiological aspects of polyunsaturates. *Poultry and Avian Biol. Rev.*, 6(1):1-18, 1995.
- Wilson, H.R. Effects of maternal nutrition on hatchability. *Poultry Sci.*, 76(1):134-143, 1997.
- Wittmann, J.; Schmidt, P.; Schraner, I. Activity of putative pulmonary ornithokallikrein and angiotensin-converting enzyme during the onset of lung respiration in the chick embryo. *J. Exper. Zool.*, Suppl. 1:219-226. 1987.
- Whitehead, D.C. Los requerimientos vitamínicos vigentes. *Avicult. Profes.*, 14(1):23-25, 1996.
- Yafei, N.; Noble, R.C. Further observations on the association between lipid metabolism and low embryo hatchability in eggs from young broiler birds. *J. Exper. Zool.*, 253(3):325-329. 1990.

Received on October 27, 1997.

Accepted on May 25, 1998.