

## MANIPULAÇÃO TÉRMICA EMBRIONÁRIA COMO INDUTOR DE TERMOTOLERÂNCIA EM AVES DE PRODUÇÃO

Henrique Carneiro Lobato<sup>1\*</sup>, Gabriela Boanerges Dias<sup>2</sup>, Laryssa Fernanda Bernardes<sup>1</sup>, Mariana Cristina Vieira<sup>1</sup>, Victor Fernandes de Araújo<sup>1</sup>, Julia Macedo Fernandes Oliveira<sup>2</sup> e Itallo Conrado de Sousa Araújo<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: [henriqueclobato@hotmail.com](mailto:henriqueclobato@hotmail.com)

<sup>2</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais -UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais -UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

O setor avícola sofre grande pressão internacional para aumentar anualmente a sua produção, uma vez que tem sido considerado um dos responsáveis por suprir a demanda de proteína animal global. E neste panorama, os países tropicais possuem uma desvantagem em relação aos países da zona temperada, pois apresentam grandes picos de temperatura nos períodos quentes do ano e contam com baixa infraestrutura nos galpões<sup>1</sup>. Sendo assim, novas medidas para melhorar a resistência das aves frente ao estresse térmico se mostra necessário, uma vez que há projeção de aumento de temperatura de 1,5°C até 2040<sup>2</sup>.

As aves na natureza possuem dois momentos principais durante o choco, o de recessão e o de sessão, fora do ninho e em incubação, respectivamente<sup>3</sup>. Há registros de que o microclima do ninho afeta diretamente o desenvolvimento embrionário, e que a postura dos ovos em locais mais quentes pode eventualmente favorecer aves menos cuidadosas, e que passam menos tempo no ninho<sup>4</sup>. Sendo assim, pode-se afirmar que a termomanipulação embrionária, ou seja, a modificação do desenvolvimento embrionário por meio da temperatura, ocorre também na natureza, dessa forma se faz possível criar diferentes protocolos de incubação industrial variando a partir do padrão de 37,5°C e 56% de umidade até o 18º dia de desenvolvimento embrionário (DE). Entretanto, esta manipulação deve ser feita de forma planejada, uma vez que o aumento de temperatura possui um efeito bifásico, ligeiras mudanças podem aumentar a vascularização do córioalantóide, aumentar a absorção de gema e aumentar a taxa metabólica, mas podem também resultar alterações no desenvolvimento e até a mortalidade dos embriões<sup>5</sup>. Portanto, medidas para potencializar a aquisição de termotolerância de aves comerciais, e aumentar a produtividade mesmo em situações de estresse calórico, tem sido estudadas. Sendo assim, objetiva-se analisar o conhecimento que foi construído acerca deste tema até chegarmos aos protocolos experimentalmente testados atualmente.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado por meio de pesquisa na plataforma do Google Acadêmico, utilizando o filtro de “maior relevância” e o de “data”, priorizando assim os artigos dos últimos 5 anos. Também foram selecionadas de relevância teses que se relacionavam diretamente ao tema.

### RESUMO DE TEMA

A incubação de ovos férteis precisa de quatro principais fatores físicos: temperatura, viragem, ventilação e umidade, a fim de se gerar um desenvolvimento eficiente do embrião. A termomanipulação permite e estuda as alterações de temperatura como uma ferramenta de baixo custo para aprimoramento destas características físicas<sup>5</sup>. De acordo com Sabry e Yalçın (2023) a temperatura de 37,5 a 38,0°C é a recomendada para que seja possível obter o potencial calórico mínimo à fim de desenvolver o embrião, sem afetar sua taxa de eclosão<sup>6</sup>.

A temperatura é o principal dos quatro fatores físicos que afeta o desenvolvimento embrionário e pós eclosão. Isto se dá pela mudança na quantidade de calor ao qual o embrião fica exposto, que faz com que haja um aumento na expressão de alguns genes, que por sua vez irão modificar a maturação do sistema termorregulador das aves. Sob o aspecto da epigenética, o intuito da termomanipulação é que ocorra uma otimização no período inicial de formação do sistema termorregulador, até as 18 horas iniciais, ou um aperfeiçoamento deste sistema após o seu início, 48 horas de incubação<sup>5</sup>.

Nas situações de estresse térmico pode haver ruptura da função imunológica do intestino, possivelmente pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\gamma$ . Esta quebra de proteção pode causar desequilíbrio do sistema imunológico local e favorecer a colonização de bactérias patogênicas e afetar a capacidade de absorção de nutrientes pelo intestino das aves<sup>7</sup>. Xu et al. (2023) utilizaram um protocolo de incubação com 39,5°C e 65% UR, com 3 horas por dia, do 16DE ao 18DE, e

encontrou-se uma redução na inflamação intestinal, devido a diminuição da produção de lipopolissacarídeos (LPS) de origem bacteriana, esse resultado demonstra que a termomanipulação embrionária pode atuar melhorando o sistema imune<sup>8</sup>.

O aumento da expressão gênica ou *imprinting* nas aves, pode ser entendido como um impulso para modificar um traço do organismo e se realizado da forma correta, pode induzir uma mudança fenotípica permanente. Dessa forma, ao alterar a temperatura durante a incubação há uma maior produção de efetores endógenos que irão atuar nos quimiorreceptores do embrião e assim modificar a expressão gênica em favor de uma melhora no desempenho e maior adaptação ao ambiente fora da zona de conforto térmico<sup>9</sup>. Esta maior adaptação ou termotolerância é o foco da termomanipulação embrionária, principalmente para aves criadas nos países tropicais<sup>1</sup>.

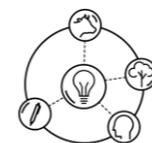
Uma demonstração da adaptabilidade dos animais termicamente manipulados é a capacidade de reduzir sua taxa metabólica, uma forma de analisar este fator é a redução de temperatura corporal (TC) em situações de estresse calórico em vida adulta. Saleh et al., (2020) estudaram a manipulação térmica com protocolo de 39,0°C e 65% de umidade relativa (UR), entre 10-18DE, por 18h/d, e estimularam as aves em vida adulta à uma temperatura controle de 25°C e de estresse cíclico de 35°C do 28-35 dia, tornando assim possível verificar a redução da TC nos animais em estresse cíclico por calor<sup>10</sup>. Em convergência, Al-Zghoul et al. (2019) utilizaram 39,0°C e 65% UR por 18 horas, do 10º ao 18º DE, e também observaram redução da temperatura corporal nos animais adultos<sup>11</sup>. Estes resultados são uma demonstração da maior capacidade de adaptabilidade dos animais termicamente manipulados<sup>11</sup>.

Um dos principais marcadores pró-inflamatórios, utilizados para aferir capacidade de termotolerância dos animais após estresse térmico em vida é a IL-6, uma vez que possui capacidade protetiva tecidual<sup>12</sup>. Al-Zghoul et al. (2019), utilizaram protocolo de 39,0°C e 65% UR por 18 horas/dia, de 10-18DE, e após estressá-los com 40°C, durante 7 horas, no 28º dia de vida, observaram aumento do mRNA da IL-6 no fígado e baço nos animais termicamente tratados, demonstrando que este marcador está presente nos animais TM, que consequentemente possuem uma maior proteção tecidual ao estresse oxidativo causado pelo calor<sup>11</sup>.

O *Heat Shock Protein* (HSP) é uma proteína de choque por aquecimento e seu efeito principal é de proteção à morte celular e aos efeitos da agregação proteica causada pelo estresse térmico<sup>13</sup>. Al-Zghoul et al. (2019) observaram aumento do HSP 70 nos animais termicamente manipulados<sup>11</sup>. Assim como Leão (2022) encontrou maior expressão de HSP no fígado nas aves ao utilizar 39°C, durante 3 horas, do 16 ao 18 DE, denotando assim um possível eixo de ação, para explicar como ocorre a termotolerância nos animais TM<sup>14</sup>.

Em relação aos parâmetros de eclosão, Amjadian et al. (2020) utilizaram protocolo de incubação de 39,5°C e 65% de UR por 3 h/dia, do 11 a 16DE e não obtiveram resultados diferentes entre os tratamentos quanto à taxa de eclosão, janela de nascimento e a qualidade dos pintos<sup>15</sup>. Assim como Leão (2022) que utilizaram 39°C, por 3 horas/dia, do 16º ao 18º DE, e não também não encontraram diferença entre os tratamentos para pintos em relação ao peso ao nascer e eclodibilidade<sup>14</sup>. Já outros pesquisadores utilizaram 39,0°C, durante 18 horas, do 10 ao 18 DE, e encontraram uma redução da taxa de eclosão<sup>13</sup>. Os resultados negativos podem ser explicados pela perda de água devido a maior temperatura interna no embrião, que ao favorecer a desidratação, reduz a taxa de eclosão, compensando o ganho de energia calórica em potencial da termomanipulação<sup>16</sup>. Já os resultados que não demonstraram diferença entre os tratamentos, podem ser explicados pelas diferenças genéticas das linhagens ou por um protocolo não tão desafiador<sup>6</sup>.

Um dos principais ganhos da termomanipulação é a melhoria no desempenho de aves que sofrem com o desafio térmico durante a criação até o abate. Isto pode ser comprovado por Saleh et al. (2020) que ao realizarem a manipulação térmica do 10 a 18DE, elevando a temperatura para 39,0°C e a 65% de umidade relativa por 18 h/dia, observaram que



## XII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

aves do tratamento com alteração de temperatura apresentaram maior peso final aos 37 dias de idade <sup>10</sup>. Este resultado pode ser explicado por Collin et al. (2007), que demonstraram uma maior eficácia de termomanipulação em características de desempenho, quando esta foi realizada em período tardio <sup>17</sup>.

Em contrapartida, Oksbjerg et al. (2019) não descreveram efeito na conversão alimentar e no peso médio aos 32 dias dos animais quando alterou a temperatura de 36,5°C para 37,5°C do 4-7 DE, por 24 horas <sup>18</sup>. Resultados que corroboram com o encontrado por Zaboli et al. (2017), que realizaram um experimento com elevação de parâmetros de 37,8°C e 56% de umidade para 39,5°C e 65% de umidade, 7-10 DE, por 12 horas e durante o desenvolvimento elevaram a temperatura à 36-38°C do terceiro ao quinto dia de vida, por 24 horas descobrindo assim que o consumo não diferiu em nenhum período da vida, e demonstra que a elevação de temperatura em incubação e posterior estresse cíclico não necessariamente altera o consumo da ave <sup>19</sup>. Estes resultados também podem ser explicados por Collin et al. (2007), uma vez que foram realizados em períodos mais iniciais da incubação <sup>17</sup>.

Ainda, a termomanipulação embrionária é capaz de afetar a composição das células musculares dos embriões em desenvolvimento, Piestun et al. (2015) utilizaram protocolo de 39,5°C, durante 12 horas, do 7 ao 16DE, e encontraram aumento da proliferação de mioblastos nos músculos peitorais dos pintos na primeira semana <sup>20</sup>. Assim como em um artigo recente de Meteyake et al. (2023) que demonstraram que a manipulação térmica com 39,5°C e 65%, do 10 ao 18° DE, por 6 e 12 horas, reduziu significativamente a perda por gotejamento do músculo peitoral maior; demonstrando assim, mais uma finalidade da termomanipulação <sup>1</sup>.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A termomanipulação se mostra como uma ferramenta eficaz e de baixo custo. Conforme apresentado, cada protocolo possui um objetivo específico e seu uso não deve ser realizado para compensar erros de manejo em campo, falhas nutricionais ou dificuldades com infra-estrutura. As diferenças entre os experimentos, seja por idade de matriz, linhagem do frango, nutrição, e desafio sanitário interferem na padronização e na criação de um protocolo que possa ser utilizado pelos incubatórios industriais.

Além disso, o protocolo ideal para qualquer situação ainda não existe, também pelo fato de que ao almejar um fator benéfico, como por exemplo a melhoria no desempenho, que comumente ocasiona-se uma redução de eclosão, perda da qualidade da carne, redução de termotolerância, dentre outros. O que pode-se dizer é que já há a indicação de uso de 39,5°C e 65% UR, do 7-16DE, por 12 horas, países tropicais, a fim de se obter animais TM com maior capacidade de resistência ao estresse calórico. A melhor maneira de criar um protocolo futuro é padronizando os experimentos, com objetivos concretos sobre o intuito daquele protocolo, e com linhagens, fase da vida, estresse calórico, e nutrição bem estabelecidos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Meteyake, H. T. et al. Thermal manipulation during incubation: effects on embryo development, production performance, meat quality, and thermal tolerance of broiler chickens. *J Worlds Poult Res.* 13:29–40. doi:10.36380/jwpr.2023.3. 2023.
2. Fan, x. et al. Global surface air temperatures in cmip6: historical performance and future changes. *Environmental Research Letters*, v. 15, n. 10, p. 104056–104056. 2020.
3. Álvarez, E. et al. Behavioural responses of great tits to experimental manipulation of nest temperature during incubation. *Ornis Fenn.* 2014.
4. Mueller, A. J. et al. Nest microclimate during incubation affects posthatching development and parental care in wild birds. *Sci Rep.* 9:5161. doi:10.1038/s41598-019-41690-4. 2019.
5. Costa, B. T. A. et al. Thermal manipulations of birds during embryogenesis. *Worlds Poult Sci J.* 76:843–851. doi:10.1080/00439339.2020.1823302. 2020.
6. El Sabry, M. I., Yalcin, S. Factors influencing the development of gastrointestinal tract and nutrient transporters' function during

the embryonic life of chickens-A review. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 1–10. doi:10.1111/jpn.13852. 2023.

7. Tellez, G. Evaluation of a lactic acid based probiotic on leaky gut and microbiome associated with salmonella enteritidis infection and feed restriction in broiler chickens. *Approaches Poult. Dairy Vet. Sci.* 1. doi:10.31031/apdv.2017.1.501. 2017.
8. Xu, P. et al. Chicken embryo thermal manipulation alleviates postnatal heat stress-induced jejunal inflammation by inhibiting transient receptor potential v4. *Ecotoxicol Environ Saf.* 256. doi:10.1016/j.ecoenv.2023.114851. 2023.
9. Tzschentke, B. Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. *Poult Sci.* 86:1025–1036. doi: [10.5114/biolsport.2023.124842](https://doi.org/10.5114/biolsport.2023.124842). 2007
10. Saleh, K. M. M. et al. Embryonic thermal manipulation affects the antioxidant response to post-hatch thermal exposure in broiler chickens. *Animals.* 10. doi:10.3390/ani10010126. 2020.
11. Al-Zghoul, M. B., et al. 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. *Poult Sci.* 98:1805–1819. doi:10.3382/ps/pey499. 2019.
12. Phillips, N. A. et al. Clanton. Protection of intestinal injury during heat stroke in mice by interleukin-6 pretreatment. *J Physiol.* 593:739–753. doi:10.1113/jphysiol.2014.283416. 2015.
13. Tarkhan, A. H., K. M. M. Saleh, and M. B. Al-Zghoul. HSF3 and Hsp70 expression during post-hatch cold stress in broiler chickens subjected to embryonic thermal manipulation. *Vet Sci.* 7:1–12. doi:10.3390/vetsci7020049. 2020.
14. Leão, Ana Patrícia. Manipulação térmica durante a incubação de ovos como medida para amenizar o estresse por calor em frangos de corte. Tese de programa em pós-graduação em zootecnia (doutorado) - Universidade Federal de Lavras. 2022.
15. Amjadian, T.; Hossein Shahir, M. Effects of repeated thermal manipulation of broiler embryos on hatchability, chick quality, and post-hatch performance. *Int J Biometeorol.* 64:2177–2183. doi:10.1007/s00484-020-02012-w/Published. 2020.
16. Sozscu, A., A. İpek. Incubation conditions affect chick quality and broiler performance. *J Agr Fac of Bur Ulu Uni.* 139-146. 2013.
17. Collin, A. et al. Environment, well-being, and behavior effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on thermotolerance and breast muscle characteristics in broiler chickens. *Poult Sci.* 795-800. Doi:10.1093/ps/86.5.795. 2007.
18. Oksbjerg, N., et al. Incubation temperature effects on muscle weight, bone strength and walking ability in broilers. *European Poultry Science/Archiv für Geflügelkunde* 83.264. 2019.
19. Zaboli, gholam-reza et al. Thermal manipulation during pre and post-hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Poultry Science*, v. 96, n. 2, p. 478-485, 2017.
20. Piestun, Y. et al. Thermal manipulation during embryogenesis affects myoblast proliferation and skeletal muscle growth in meat-type chickens. *Poult Sci.* 94:2528–2536. doi:10.3382/ps/pev245. 2015.