

Características do desenvolvimento embrionário de *Gallus gallus domesticus*, em temperaturas e períodos diferentes de incubação

Features of the embryonic development of *Gallus gallus domesticus* in different temperatures and times of incubation

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Paulo Fernando Dias
Departamento de Biologia Celular,
Embrriologia e Genética – CCB
Laboratório de Embrriologia
Universidade Federal de Santa
Catarina – Campus Universitário
Trindade
88040-900 – Florianópolis – SC
e-mail: paulus@mbox1.ufsc.br

1 - Departamento de Biologia
Celular, Embrriologia e Genética
do Centro de Ciências Biomédicas
da UFSC – SC

Paulo Fernando DIAS¹; Yara Maria Rauh MÜLLER¹

RESUMO

Objetivando avaliar o desenvolvimento embrionário de *Gallus gallus domesticus*, foram incubados ovos nas temperaturas de 34,0°C, 37,5°C e 40,0°C, nos períodos de 48, 72 e 96 horas. Avaliaram-se em 81 embriões o comprimento cefalocaudal, o peso total e 6 características morfológicas, utilizando-se um protocolo referindo o desenvolvimento como padrão, acelerado ou defasado. Os dados relativos ao nível de diferenciação das estruturas embrionárias demonstram que os fatores temperatura e tempo de incubação interagem nos processos de morfogênese.

UNITERMOS: Desenvolvimento embrionário; Galináceos; Incubação; Morfogênese.

INTRODUÇÃO

Na moderna avicultura, em que se exige da ave o máximo de desempenho e rendimento, é fundamental o processo de incubação artificial. Mesmo considerando toda a especialização pertinente a esta área, a tarefa de transformar com qualidade o ovo em um pinto de 1 dia permanece carente de conhecimentos referentes às condições de incubação e sua relação com o processo de desenvolvimento embrionário^{11,12,18}.

A embriogênese das aves está diretamente relacionada à temperatura de incubação, estabelecendo-se a polaridade durante a segmentação do ovo, que na galinha se processa no oviduto à temperatura de 40°C aproximadamente^{21,23}. Após a postura, em incubação a 37,5°C¹⁷, completa-se o processo de gastrulação^{13,24} e modela-se progressivamente o organismo^{9,19,20}. Ao final do 4º dia de incubação, evidenciam-se as flexuras e a rotação do sistema nervoso central^{10,16}, que, juntamente com o padrão metamérico dos somitos⁵, arcos branquiais, membros e botão caudal⁴, caracterizam externamente o embrião¹⁴.

No *Gallus gallus domesticus*, o processo de incubação pode realizar-se em temperaturas inferiores ou superiores à considerada mais adequada à espécie. Contudo, modificações efetivas nesse fator podem alterar o padrão de desenvolvimento do organismo, com conseqüente prejuízo à taxa de eclosão².

Níveis diferenciados no desenvolvimento dos tecidos ou sistemas, em cada temperatura de incubação, resultam em idades cronológica e estrutural distintas^{6,7,15}. Nos estudos voltados à ação da temperatura nos processos de morfogênese, a perspectiva de viabilizar a manipulação no período de embriogênese pode representar, para o tempo total de incubação, uma relação tão importante quanto é a do peso do frango em razão do peso do ovo e do pinto ao nascer.

MATERIAL E MÉTODO

Três amostras de 27 ovos incubáveis de *Gallus gallus domesticus* foram mantidas nas temperaturas de 34,0°C, 37,5°C e 40,0°C, subdivididas em 3 grupos de 9 unidades, correspondentes a 48, 72 e 96 horas de incubação. A umidade atmosférica relativa correspondeu a 85% aproximadamente, sendo a renovação do ar possibilitada nos 2 a 3 minutos em que a estufa permaneceu aberta, 3 a 5 vezes ao dia, para a rotação dos ovos. Decorridos aqueles períodos de incubação e após a remoção da casca e suas membranas, os embriões foram pesados e medidos no comprimento cefalocaudal. Os dados foram expressos através da média \pm desvio padrão e as diferenças significativas, evidenciadas por meio da ANOVA e identificadas através do método de comparações múltiplas. Relações biologicamente relevantes entre temperatura e períodos de tempo foram representadas através da análise de regressão utilizando-se o modelo exponencial.

Cada embrião foi examinado em estereomicroscópio (20X), em relação ao desenvolvimento de flexuras do tubo neural (F), nível de rotação do corpo (R), número de somitos (S), formação dos arcos branquiais (A), morfogênese de membros (M) e nível de curvatura do botão caudal (C). As estruturas embrionárias foram avaliadas utilizando-se um protocolo⁸ elaborado com base em Hamburger; Hamilton¹⁴ e Eyal-Giladi⁹, sendo o nível de desenvolvimento estrutural caracterizado em uma escala de valores contínuos. Para as estruturas acima referidas, os valores padrão da escala nos períodos de 48, 72 e 96 horas (estádios 12HH, 20HH e 23HH)¹⁴, correspondem a:

- 48h \rightarrow F(1) + R(3) + S(5) + A(1) + M(1) + C(2) = (13);

- 72h \rightarrow F(5) + R(5) + S(10) + A(5) + M(3) + C(5) = (33);

- 96h \rightarrow F(7) + R(5) + S(10) + A(6) + M(5) + C(6) = (39).

O somatório das medianas dos valores referentes a cada estrutura, determinado em cada embrião, foi comparado com a soma

correspondente ao padrão (HH), de acordo com o período, caracterizando-se por faixa de temperatura o desenvolvimento (β) em defasado (β^-) padrão (β_p) ou acelerado (β^+).

RESULTADOS

Os registros efetuados ao término dos períodos de incubação mostraram que o menor comprimento cefalocaudal corresponde aos embriões provenientes de ovos mantidos a 34°C por 48 horas e o maior, a 40°C no período de 96 horas. O menor e o maior peso foram verificados em 72 horas de incubação, a 34,0°C e 37,0°C, respectivamente. As médias de comprimento, em cada temperatura, elevaram-se no intervalo de 48 a 96 horas de incubação.

Verificou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias de comprimento das 3 temperaturas, no período de tempo de 96 horas e entre as médias de peso, no período de 72 horas.

A análise de regressão, realizada através do modelo exponencial (Fig. 1), com intervalo de confiança de 95%, apontou relações de significado biológico entre as variáveis peso e comprimento na temperatura de 37,5°C ($R^2 = 61,07$). Nesta condição, no período inicial de incubação, a elevação no comprimento é superior ao aumento do peso e, posteriormente, esta relação se inverte.

Tabela 1

Média e desvio padrão para comprimento e peso dos embriões de acordo com a temperatura e o período de incubação. Laboratório de Embriologia - Florianópolis, SC, 1994.

Temperatura e tempo de incubação	Comprimento (mm)	Peso (g)
34°C	48h	3,328±0,887
	72h	3,933±1,094
	96h	5,043±1,980*
37,5°C	48h	3,533±1,531
	72h	4,600±0,840
	96h	7,488±0,808*
40°C	48h	3,372±0,608
	72h	6,038±1,661
	96h	9,533±2,124*

(*) Significativo ao nível de $p < 0,05$.

Tabela 2

Medianas, totais e ranking, referentes às 6 características morfológicas avaliadas nas 3 temperaturas e períodos de incubação. Laboratório de Embriologia - Florianópolis, SC, 1994.

Temperatura	34,0°C			37,5°C			40,0°C			
	Tempo	48h	72h	96h	48h	72h	96h	48h	72h	96h
Medianas										
(F)	1	3	4	1	5	7	2	4	7	
(R)	1	2	3	3	5	5	3	5	5	
(S)	3	8	10	5	10	10	7	10	10	
(A)	1	2	5	1	5	6	2	5	6	
(M)	1	1	1	1	3	5	1	3	6	
(C)	1	2	3	2	5	6	2	5	6	
Totais	8	18	26	13	33	39	17	32	40	
β	-	-	-	p	p	p	+	-	+	

Os dados referentes à mediana, baseados na morfologia embrionária nos 3 períodos de tempo, indicaram que o desenvolvimento (β) na temperatura de 37,5°C corresponde ao padrão (HH) e a 34°C apresenta-se defasado (β^-). A 40°C o desenvolvimento mostrou-se acelerado (β^+), excetuando-se o ocorrido nas 72 horas de incubação (Tab. 2 e Fig. 2).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os processos de morfogênese são relevantes para o estabelecimento progressivo da forma e, no período embrionário, predominam sobre as características estruturais específicas. O tamanho, o peso e as características morfológicas de um organismo podem ser representados através de medidas e escores estruturais, passíveis de caracterizar na ontogenia a influência de fatores relacionados ao ambiente de incubação^{3,9}. Os dados referentes à biometria e morfologia (Tab. 1 e 2) demonstram que a temperatura influencia a organização das estruturas embrionárias, determinando acelerações ou retardamentos no ritmo do desenvolvimento e evidenciando um comportamento interativo com o tempo de incubação (Fig. 1 e 2).

Os resultados referentes ao comprimento cefalocaudal, no período de 96 horas de incubação (Tab. 1), e as características do sistema nervoso, somitos, membros e alantóide, expressas nos escores morfológicos (Tab. 2), indicam que, a 40°C, há uma aceleração nos processos de morfogênese, em comparação com o ritmo de desenvolvimento ocorrido à temperatura de 34°C. Esta condição é semelhante à descrita na literatura⁷, onde há registro de que embriões incubados a 40°C desenvolveram-se duas vezes mais rápido que a 35°C. Enquanto os dados de comprimento denotam uma elevação proporcional à cronologia da morfogênese embrionária, o mesmo não se verifica em rela-

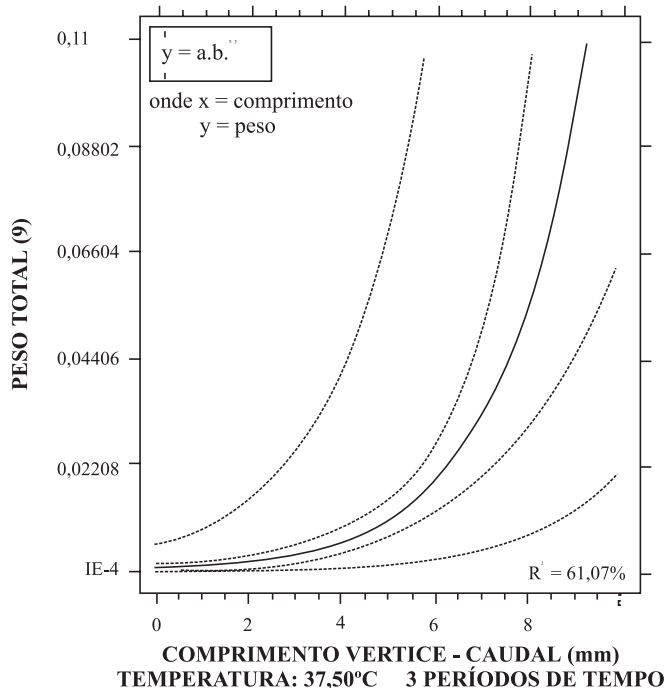


Figura 1

Análise de regressão realizada através do modelo exponencial, entre as variáveis peso total (g) e comprimento cefalocaudal (mm), na temperatura de 37,5°C.

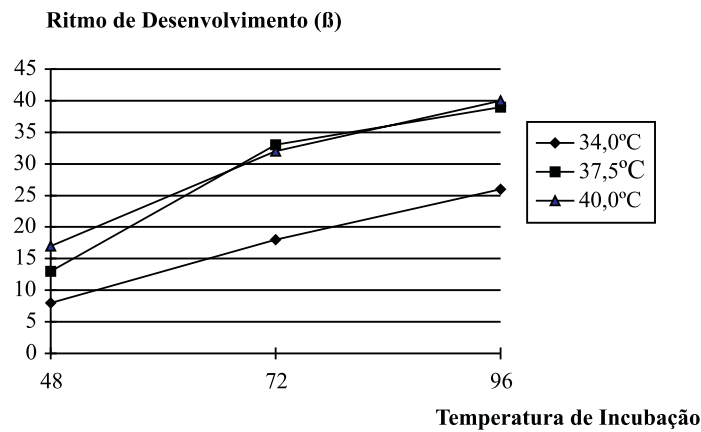


Figura 2

Ritmos de desenvolvimento no intervalo de temperaturas de 34°C a 40°C, nos períodos de incubação de 48, 72 e 96 horas, com base no somatório dos escores morfogenéticos.

ção ao peso (Tab. 1), onde os maiores valores pertencem à temperatura de 37,5°C, sugerindo ser esta a mais adequada ao aumento do peso do embrião. As variações no peso das amostras observadas no estudo podem resultar de diferenças individuais, mas também sugerem que a massa corporal é alternadamente acumulada e mobilizada em função energética, durante o crescimento. A Fig. 1 mostra que o comprimento cefalocaudal e os processos de diferenciação da superfície embrionária são priorizados em relação ao acúmulo de massa corporal. Em conformidade com a literatura¹, taxas máximas de crescimento são verificadas inicialmente no sistema nervoso e, após, no tecido adiposo.

As alternâncias quanto aos escores morfogenéticos, registradas nas 72 horas, a 37,5°C e 40°C (Tab. 1 e Fig. 2), traduzem o comportamento ondulatório da curva de desenvolvimento²², onde a diferenciação dos tecidos ou estruturas não ocorre uniformemente ao longo do tempo de incubação.

Os dados de comprimento e o nível de desenvolvimento das estruturas estudadas demonstram que, à temperatura de 40°C, nos períodos de 48 e de 96 horas de incubação, ocorre aceleração nos processos de morfogênese embrionária.

SUMMARY

With the aim to evaluate the embryonic development of *Gallus gallus domesticus*, hatching eggs were incubated at temperatures of 34.0°C, 37.5°C and 40.0°C and in time periods of 48h; 72h and 96h. In 81 embryos, besides the head-rump length and total weight determination, 6 characteristics were evaluated through morphological scores. Median values that, at the three incubation times, differ from the standard scores, represent accelerated or retarded development. The length and developmental level of embryonic structures, increase with temperature and time elevations, characterizing the interaction in the studied factors, related with the morphogenetic processes.

UNITERMS: Embryonic development; Fowes; Incubation; Morphogenesis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALBERCH, P.; GOULD, S.J.; OSTER, G.F.; WAKE, D.B. Size and shape in ontogeny and phylogeny. **Paleobiology**, v.5, n.3, p.296-317, 1979.
- 2- ALDA, T.R.B.L. Causas de mortalidade embrionária e deformidades do embrião. In: PINHEIRO, M.R. **Manejo da incubação**. São Paulo : FACTA, 1994. p.160-77.
- 3- BOWDEN, H.C.; WILBY, O.K.; BOTHAM, C.A.; ADAM, P.J.; ROSS, F.W. Assessment of the toxic and potential teratogenic effects of four glycol and two derivatives using the hydra regeneration assay and rat whole embryo culture. **Toxicology in Vitro**, v.9, n.5, p.773-81, 1995.
- 4- CATALA, M.; TEILLET, M.A.; LE DOUARIN, N.M. Organization and development of the tail bud analyzed with the quail - chick chimaera system. **Mechanisms of Development**, v.51, n.1, p.51-65, 1995.
- 5- CHRIST, B.; ORDAHL, C.P. Early stages of chick somite development. **Anatomy and Embryology**, v.191, p.381-96, 1995.
- 6- DELPHIA, J.M.; ELLIOTT, J. The effect of high temperature incubation upon the myocardial glycogen in the chick embryo. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, v.14, n.3, p.273-80, 1965.
- 7- DEUCHAR, E.M. The effect of a high temperature shock on early morphogenesis in the chick embryo. **Anatomy**, v.86, p.443-58, 1952.
- 8- DIAS, P.F.; MÜLLER, Y.M.R. Um modelo para estudos de desenvolvimento em aves, testado em embriões de *Gallus gallus domesticus*. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 11., Caxambu, 1994. **Resumos**. p.323.
- 9- EYAL-GILADI, H. The early embryonic development of the chick, as an epigenetic process. **Critical Review of Poultry Biology**, v.3, p.143-66, 1991.
- 10- FLYNN, M.E.; PIKALOW, A.S.; KIMMELMAN, R.S.; SEARLS, R.L. The mechanism of cervical flexure formation in the chick. **Anatomy and Embryology**, v.184, p.411-20, 1991.
- 11- GONZALES, E. Embriologia e desenvolvimento embrionário. In: PINHEIRO, M.R. **Manejo da incubação**. São Paulo : FACTA, 1994. p.43-59.
- 12- GUADAGNIN, C. Manejo da incubação, transferência e nascimento. In: PINHEIRO, M.R. **Manejo da incubação**. São Paulo : FACTA, 1994. p.95-107.
- 13- GUMBINER, B.M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. **Cell**, v.84, n.3, p.345-57, 1996.
- 14- HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. **Journal of Morphology**, v.88, p.49-92, 1951.
- 15- HARRISON, J.R. Morphogenesis of chick embryo *in vitro* after exposure to lowered temperature *in ovo*. **Physiological Zoology**, v.30, n.3, p.187-97, 1957.
- 16- LE DOUARIN, N.M.; GRAPIN-BOTTON, A.; CATALA, M. Patterning of the neural primordium in the avian embryo. **Cell and Developmental Biology**, v.7, p.157-67, 1996.
- 17- MAGALDI, M.A. Incubacion. In: MAGALDI, M.A.L. **Produccion de aves**. Buenos Aires : Cathedra, 1974. p.259-78.
- 18- MARQUES, D. **Manual do incubador**. São Paulo : CASP, 1986. p.9-184: Do ovo ao pinto.
- 19- MOURY, J.D.; SCHOENWOLF, G.C. Cooperative model of epithelial shaping and bending during avian neurulation: autonomous movements of the neural plate, autonomous movements of the epidermis and interactions in the neural plate / epidermis transition zone. **Developmental Dynamics**, v.204, n.3, p.323-37, 1995.
- 20- PATTEN, B.M. **Early embryology of the chick**. 4.ed. Philadelphia : Blakiston, 1951. 244p.
- 21- SCHOENWOLF, G.C. Formation and patterning of the avian neuraxis: one dozen hypotheses. **Ciba Foundation Symposium**, v.181, p.25-50, 1994.
- 22- SEILACHER, A. **Construction, morphology and evolution**. Berlin : Springer-Verlag, 1991. p.253-71. Self-organization mechanisms in morphogenesis and evolution.
- 23- TRIPLETT, R.L.; MEIER, S. Morphological analysis of the development the primary organizer in avian embryos. **Journal of Experimental Zoology**, v.220, p.191-206, 1982.
- 24- VAKAET, L. The initiation of gastrular ingression in the chick blastoderm. **American Zoology**, v.24, p.555-62, 1984.

Recebido para publicação: 28/02/1997
Aprovado para publicação: 26/02/1998