



Maximização da produção de aves selvagens por meio da incubação artificial e manejo de posturas

Maximizing production in wild birds through artificial incubation and layer management

Ricardo José Garcia Pereira¹, Marcel Henrique Blank¹, Bianca Barreto Barbosa^{1,2}

¹Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

²Universidade Federal Rural da Amazônia, Pará, PA, Brasil

Resumo

Apesar dos princípios fisiológicos que regem a postura e incubação de ovos em aves serem os mesmos, nos deparamos com duas realidades bem distintas no que se refere a esses pontos quando comparamos aves domésticas e selvagens. Tanto zoológicos quanto criadores de aves selvagens (comerciais e conservacionistas) geralmente contratam profissionais polivalentes para cuidarem de diferentes questões que englobam desde sanidade e manejo geral dos animais até mesmo nutrição. A consequência mais aparente de tal estratégia é a dificuldade de acesso desses profissionais e instituições a metodologias mais recentes de manejo reprodutivo e de incubação dos ovos. Além disso, técnicos dessas instituições lidam com uma diversidade enorme de grupos e espécies aviárias, circunstância que também dificulta a implementação de determinadas técnicas de manejo e incubação. Por outro lado, na avicultura industrial observa-se um corpo técnico extremamente especializado com imenso volume conhecimento em ambas as áreas (postura e incubação), que atrelado a uma tecnologia de ponta nas diversas segmentações da indústria resulta no incremento dos resultados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é expor alguns conceitos e metodologias que são rotineiramente utilizadas dentro desses tópicos na avicultura industrial que já são (em alguns criadores de outros países) ou podem ser incluídas no manejo cotidiano de aves selvagens.

Palavras-chave: aves, reprodução, manejo reprodutivo, ovos, produção de pintinhos

Abstract

Although the physiological principles that govern egg laying and incubation in birds are the same, we are faced with two very different realities with regard to these points when comparing domestic and wild birds. Both zoos and bird breeders (commercial and conservationist) usually hire multi-skilled professionals to take care of several issues ranging from health and general management to nutrition. The most apparent consequence of such a strategy is the difficulty these professionals and institutions have in accessing more recent methodologies for reproductive management and egg incubation. Additionally, employees from these institutions deal with an enormous diversity of avian groups and species, a situation that also hinders the implementation of certain management and incubation techniques. On the other hand, in poultry industrial poultry there is extremely specialized personnel with immense knowledge in both areas (posture and incubation), which, together with cutting-edge technology in its various industry sectors, provide optimization of results. In this context, the goal of this material is to show some concepts and methodologies that are routinely used in industrial poultry farming and that are already (in some breeders in other countries) or can be included in the daily management of wild birds.

Keywords: Avian, breeding, reproductive management, eggs, chick production

Introdução

A avicultura destaca-se entre os setores do agronegócio brasileiro, atuando em âmbito global como o maior exportador e o segundo maior produtor de carne de frango (1). Em 2019, a receita proveniente da exportação de frango e ovos excedeu 7 bilhões de dólares, valor que reforça a importância da avicultura na economia do país (1). A produção avícola global nas últimas duas décadas apresentou uma notável ascensão, sendo este aumento atribuído principalmente a melhorias genéticas e a adoção de

¹Correspondência: ricpereira@usp.br

Recebido: 27 de outubro de 2021

Aceito: 28 de dezembro de 2021

tecnologias de ponta na cadeia produtiva, a qual aumentou não somente a quantidade como também a qualidade dos produtos (2). Devido ao intenso progresso genético na produção de frangos de corte, indivíduos de linhagens de crescimento rápido levam atualmente apenas 35 dias para alcançar seu peso de abate, ou seja, mais de um terço da vida dessas aves abrange o desenvolvimento embrionário durante a incubação (3,4) (Fig. 1). Desse modo, é inegável que os incubatórios industriais vem se tornando uma divisão estratégica na indústria avícola, juntamente com matrizeiros, avozeiros e bisavozeiros. Evidências disso podem ser encontradas nas inúmeras pesquisas demonstrando que mudanças tanto no manejo de postura quanto nas condições pre-incubação e de incubação otimizam parâmetros de eclosão, qualidade de pintinhos e desempenho pós-eclosão, reforçando a necessidade de um corpo técnico especializado em cada um desses segmentos para o aproveitamento máximo do potencial genético das aves (5).

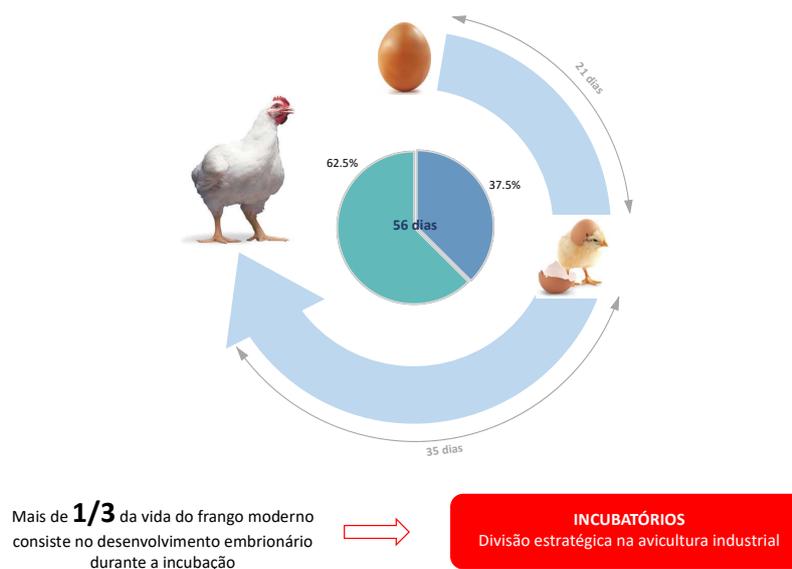


Figura 1. Perspectiva da duração da vida embrionária de um frango de linhagem de crescimento rápido frente ao tempo total de vida. Essa relação enfatiza a posição estratégica que os incubatórios industriais alcançaram nas últimas décadas dentro da estruturação da indústria avícola.

Diversas lições aprendidas na avicultura industrial podem ser incorporadas na rotina de criadouros comerciais e conservacionistas de aves selvagens ou zoológicos com o intuito de maximizar a reprodução de espécies raras, ameaçadas ou de grande interesse comercial. Estrategicamente, isso salvaria muito tempo dessas entidades ao adequar informações, procedimentos e tecnologias usadas no cotidiano de uma indústria que possui volume de recursos e pesquisa infinitamente maiores para otimizar os resultados zootécnicos, além de vários especialistas que notadamente focados em reprodução e incubação artificial. Porém, por motivos difíceis de entender ou explicar, na prática vemos muito pouco desse conhecimento sendo integrado ao manejo reprodutivo diário de aves selvagens, trazendo prejuízos não só comerciais (para aqueles criadores de visam lucro) como também biológicos quanto nos referimos a conservação de espécies. O emprego de profissionais multifuncionais cuidando de inúmeras demandas da criação (p.e. sanidade, nutrição, manejo, gestão de funcionários, etc.), a falta de registros (ou quando há registros a ausência de análise dos mesmos) e a imensa variedade de espécies a serem trabalhadas são alguns dos fatores que reduzem as chances de maximização reprodutiva de um plantel de aves selvagens. Desse modo, o intuito desse conteúdo é exemplificar algumas idéias, procedimentos e técnicas usadas na indústria avícola que podem facilmente ser introduzidas em criações de aves selvagens gerando um incremento de resultados tanto para instituições que visam o lucro quanto para aquelas que buscam a propagação de espécies raras ou ameaçadas.

Conceitos da avicultura industrial interessantes para produção de aves selvagens

Um ponto em comum entre a avicultura industrial e as diferentes modalidades de criação de aves

selvagens é o objetivo final de gerar o maior número possível de pintinhos/ filhotes de boa qualidade. Todavia, apesar dessa confluência de objetivo raramente vemos zoológicos ou criadouros (mesmo aqueles comerciais) pronunciando termos como “ovos incubáveis”, “qualidade de pintinho” ou “número de ovos por matriz”. Essa abordagem zootécnica do plantel deve ser adotada em qualquer uma das situações acima para que possamos otimizar não só nossas instalações como também mão-de-obra, ainda mais em circunstâncias em que não há um retorno financeiro direto com a venda de filhotes (p.e. zoológicos e criadouros conservacionistas). Neste sentido, alguns dos índices que regem a dinâmica do manejo de aves reprodutores comerciais e incubatórios industriais são: (1) número de ovos incubáveis, (2) número de pintinhos produzidos por matriz, e (3) qualidade dos filhotes. Por sua vez, tais índices são dependentes de uma série de fatores que vão desde a produção no matrizeiro, avozeiro ou bisavozeiro (p.e. número ovos por matriz, postura de ovos no chão ou ninho, qualidade do ovo, fertilidade, etc.), ao transporte (p.e. temperatura, umidade e agitação durante o transporte), até a incubação (p.e. recebimento e estocagem dos ovos, pré-aquecimento, controle dos diversos fatores durante a incubação, cuidados durante e pós-nascimento).

Infelizmente, a realidade observada nesses anos de visitas técnicas e parcerias demonstra que pouquíssimos criadouros de aves selvagens no país (se algum) tem registros sistematizados ou realizam levantamentos sobre sua produtividade. Por exemplo, ninguém menciona sobre seus valores médios de ovos ou filhotes produzidos por matriz de seu plantel. Esse é um dado essencial para se ter uma noção de o quão lucrativo ou dispendioso é a sua instalação ou negócio, ou para estabelecer metas visando a maximização de sua produção. Assim, se nem um cálculo simples como esse é realizado pela ampla maioria das instituições imaginem perguntar números mais refinados como fertilidade, taxa de eclosão ou eclodibilidade. Assim, cabe aos proprietários e profissionais desses estabelecimentos refletir sobre a necessidade de levantarmos essas informações para que o manejo reprodutivo possa ser inicialmente monitorado para só então ser aprimorado. Igualmente importante é proprietários e profissionais entenderem que não se pode abraçar o mundo, e que para as empresas avícolas atingirem os índices zootécnicos atuais, profissionais especializados de diversas vertentes (sanitaristas, nutricionistas, técnicos em reprodução e incubação, geneticistas, etc.) são constantemente procurados para auxiliarem em diferentes problemas.

Fatores inerentes a maximização da produção de filhotes em aves selvagens

A maximização de resultados reprodutivos é um processo multifatorial que compreende desde a seleção dos reprodutores e melhorias do manejo (incluindo da postura), até aprimoramentos referentes a pré-incubação e incubação artificial dos ovos (Fig. 2). Nos itens abaixo tentaremos sumarizar os pontos mais relevantes desse processo, dando em alguns momentos exemplos provenientes da avicultura industrial.



Figura 2. Aspectos que devem ser considerados durante o planejamento da maximização da produção de filhotes de aves selvagens em cativeiro.

Reprodutores

Para incrementar a produção de filhotes devemos considerar alguns fatores inerentes a cada ave previamente a reprodução. Assim, um dos fatores prévios à reprodução é a seleção dos reprodutores de acordo com o critério de interesse da instituição. No que diz respeito a conservação, o manejo de espécies raras e ameaçadas realizado em zoológicos e criadores tem como objetivo manter ou incrementar uma população de segurança (*backup*) para seus coespecíficos na natureza, garantindo a integridade e manutenção da variabilidade genética e fenotípica de uma determinada espécie. Neste sentido, o conceito biológico de espécie precisa ser preconizado previamente a formação dos casais, utilizando indivíduos originários de populações naturais intercruzantes que mantenham uma variabilidade genética sem perda da característica fenotípica. Por outro lado, a seleção de reprodutores para fins comerciais não exige tais critérios, uma vez que a manutenção da característica genética e fenotípica das populações de vida-livre nem sempre é priorizada. Assim, a produção de híbridos ou proles com variações na plumagem atrelada a mutações (albinismo, flavismo, leucismo, lutinismo e melanismo) pode ser preconizada visando um maior valor comercial como, por exemplo, nas aves do gênero *Agapornis* (Fig. 3) (6).

Em geral, a avaliação do histórico reprodutivo é utilizada como preditivo de fertilidade e capacidade reprodutiva, uma vez que avalia de forma indireta tanto a capacidade fisiológica, como também a experiência reprodutiva da ave em executar processos atrelados a reprodução (i.e., corte, cópula, incubação e criação dos filhotes). Neste sentido, existe um consenso que aves no início da idade reprodutiva apresentam maior dificuldade em reproduzir, principalmente devido a incompatibilidade comportamental (i.e., agressividade, desinteresse e estresse) e falta de experiência reprodutiva. De fato, a experiência social inicial desempenha um papel importante na preferência sexual e comportamental. Para aves nascidas em cativeiro, a experiência de socialização referida como impressão sexual (*imprinting*) tem implicações críticas para programas de reprodução em cativeiro, onde aves criadas por tratadores humanos ou por pais de espécies próximas podem apresentar dificuldade em reproduzir com coespecíficos (7). Além disso, diferenças individuais de personalidade devem ser consideradas previamente o pareamento, uma vez que as aves desenvolvem preferências durante seu pareamento (8).

Outro aspecto importante pré-pareamento é a avaliação da idade das aves reprodutoras. Aves de vida longa como acipitrídeos e psitacídeos demandam de um período prolongado para atingir a maturidade sexual quando comparado a passeriformes e outras aves de vida curta. Em harpias (*Harpia*



Figura 3. Coloração natural e algumas variações de cores de quatro espécies de *Agapornis*. (a) *A. fischeri*: coloração selvagem, (b) *A. fischeri*: turquesa, (c) *A. personatus*: coloração selvagem, (d) *A. personatus*: variações de azul (homozigótico e heterozigótico), (e) *A. roseicollis*: coloração selvagem, (f) *A. roseicollis*: opalino, (g) *A. lilianae*: coloração selvagem, (h) *A. lilianae*: lutino. Figura adaptada de van der Zwan *et al.*, 2019. (Imagens: Mr. Dirk van Den Abeele).

harpyja), o início da atividade esteroidogênica pode ser observada somente após 3,5 anos de idade (9) com completa maturidade sexual somente após os 5-6 anos de idade (10), assim, um pareamento precoce muitas vezes pode inviabilizar o sucesso reprodutivo. Nesse sentido, não podemos confundir puberdade



com maturidade sexual, embora aves púberes ou no início da fase reprodutiva até possam produzir gametas e prole, sua qualidade é reduzida quando comparado a aves em plena maturidade sexual (11–14). Por outro lado, aves senis podem apresentar uma redução da fertilidade e eclodibilidade devido a maior suscetibilidade dos gametas a ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (13). Além disso, reduzidas taxas de eclodibilidade vem sendo relacionadas a alterações no estágio de desenvolvimento e metabolismo embrionário durante a incubação de ovos provenientes de reprodutores senis(15).

O tratamento adequando de doenças (e.g., Clamidofilose, Doença de Gumboro, Doença de Newcastle, Influenza aviária, Micoplasmose, Salmonelose, etc.) deve ser realizado previamente a formação dos casais, evitando, assim, possíveis perdas ou suspensão da atividade reprodutiva para o tratamento das aves. Infelizmente, a reprodução em cativeiro é muitas vezes desafiadora devido à baixa fertilidade dos machos ligada a redução da variabilidade genética das populações (16). Nesse sentido, a avaliação espermática pode ser uma ferramenta valiosa na seleção de reprodutores aptos a reproduzir. Um exemplo disso é que machos comprovadamente férteis apresentam maior porcentagem de amostras com células moveis comparado a machos sem histórico reprodutivo (17). Com relação as fêmeas, uma avaliação da atividade esteroidogênica pode contribuir na seleção de aves com atividade folicular (18).

Manejo posturas

Após a seleção dos reprodutores, técnicas de manejo podem ser empregadas com o objetivo de maximizar a produção de filhotes. No entanto, previamente a aplicação destas técnicas devemos entender quais são as particularidades que tangem a sazonalidade reprodutiva de cada espécie a fim de definir possíveis janelas de postura. Embora outros fatores como precipitação, oferta de alimento e local para a nidificação possam exercer pressão sobre a atividade reprodutiva, o principal mediador é o fotoperíodo (19). Dessa forma, uma ferramenta amplamente utilizada na avicultura industrial são os programas de luz visando o incremento do desempenho reprodutivo (20–22). Apesar do comprovado sucesso dos programas de luz na avicultura industrial, a utilização dessa técnica em aves selvagens ainda é escassa mesmo após estudos experimentais terem comprovado a eficiência da manipulação do fotoperíodo no incremento da atividade reprodutiva em falconiformes, passeriformes e Sphenisciformes (23–26).

Por outro lado, o controle do fotoperíodo também pode ser utilizado para inibir a atividade reprodutiva, onde a redução da exposição a luz pode induzir o início da muda de penas (27). Embora haja evidências do envolvimento de hormônios tireoidianos, esteroides sexuais e corticosteroides, o momento da muda está relacionado principalmente com o aumento da prolactina (28), e pode ser utilizado como uma importante dica do término da estação reprodutiva. No entanto, esse mecanismo ainda é inserto, principalmente se considerarmos que elevadas concentrações de prolactina são observadas também na fase de incubação dos ovos (28). Myers *et al.* (29) mostraram que a concentração de prolactina se eleva após a postura dos ovos e durante a incubação, tanto nas fêmeas como nos machos de calopsita (*Nymphicus hollandicus*). Além disso, o estímulo visual da presença de ovos no ninho pode ser um fator responsável na diminuição da testosterona em machos, chagando a atingir níveis inferiores a 2% dos valores observados durante a fase de pré-postura (período de maior atividade de cópula) (30). A literatura tem demonstrado que a prolactina induz um *feedback* negativo sobre a secreção de GnRH no hipotálamo, reduzindo a produção de esteroides sexuais (testosterona, estradiol e progesterona)(19). Nesse sentido, um manejo intensivo realizado em granjas comerciais está relacionado a retirada dos ovos dos ninhos e gaiolas com o objetivo de minimizar os estímulos visuais e táteis da presença do ovo sobre a produção de prolactina e, conseqüentemente, na formação da placa de choco e interrupção da atividade reprodutiva (31).

Similarmente, Francisco *et al.* (32) demonstraram em espécies de psitacídeos que a retirada de ovos contribui para novas posturas, aumentando o número de filhotes produzidos em uma única estação reprodutiva. Por outro lado, a retirada de filhotes não contribuiu com o aumento da produção durante a estação reprodutiva, principalmente devido ao efeito do aumento da prolactina associada ao período de incubação dos ovos. A retirada de ovos para subseqüente incubação artificial é uma ferramenta comprovada no aumento da produção de filhotes em várias espécies ameaçadas como Grou-americano (*Grus americana*), e condor da Califórnia (*Gymnogyps californianus*)(33). Portanto, fica claro que a retirada de ovos pode ser uma importante ferramenta na maximização da produção de filhotes de aves selvagens, principalmente se consideramos que muitas espécies apresentam dificuldade em incubar os ovos em cativeiro (34).

Apesar disso, a maximização da produção de filhotes apenas será atingida através do



comprometimento da equipe técnica. Além do cuidado com as matrizes e recinto, a frequente checagem dos ninhos durante a estação reprodutiva é fundamental para evitar perdas. Além disso, a organização e análise dos dados obtidos no criadouro é extremamente importante na tomada de decisões relacionadas ao manejo das aves. Dessa forma, as principais informações que devem ser analisadas são:

1. Taxa de postura (porcentagem de fêmeas ovipondo).
2. Taxa de eclosão (porcentagem de ovos eclodidos/total de ovos ovipostos).
3. Produção acumulativa de ovos (número total de ovos ovipostos durante a vida reprodutiva).
4. Taxa de fertilidade (porcentagem de ovos férteis).
5. Taxa de eclodibilidade (porcentagem de ovos eclodidos/total de ovos férteis).

Manipulação (coleta e transporte) e estocagem dos ovos

A coleta de ovos é uma etapa de rotina nas granjas de matrizes, avós e bisavós, e falhas nesse procedimento podem resultar em quedas na produção acumulativa de ovos por matriz, no número de ovos incubáveis e, por conseguinte, no número de pintinhos produzidos por matriz. Esse aspecto do manejo reprodutivo é tão essencial (dada suas consequências diretas na indução do choco e no surgimento de ovos de piso) que muitas granjas tecnificam suas coletas de ovos via a instalação de ninhos automatizados para ampliar o número de coletas por dia (de hora em hora, por exemplo). No entanto, isso não significa dizer que granjas que utilizam coleta manual possuam um manejo de posturas ruim, pois em muitos casos essas instalações executam de 6 até 12 coletas de ovos no período entre 5:00 e 14:00 (período em que grande parte das posturas ocorrem). Empresas provedoras de genética recomendam que sejam realizadas no mínimo 4 coletas de ovos nos ninhos por dia (35). Como mencionado anteriormente, essa alta frequência na inspeção dos ninhos tem por objetivo impedir que as fêmeas entrem em choco e a postura de ovos na cama suja (piso). Isso reforça mais uma vez a importância do comprometimento da equipe na inspeção regular dos ninhos em um criadouro em variados períodos do dia (especialmente em se tratando de aves selvagens que dependendo da espécie pode realizar a postura pela manhã, tarde ou noite). O piso é um local de maior contaminação e na rotina de um matriseiro os ovos coletados neste local são separados dos ovos dos ninhos para que o incubatório possa administrar os riscos de contaminação. O acúmulo de sujidades na casca eleva o número de microorganismos por centímetro quadrado, aumentando as chances de os mesmos permearem a casca, transmitindo doenças aos embriões em desenvolvimento, gerando ovos contaminados ou “bomba” (que ao explodirem dentro das incubadoras contaminam não só a máquina como todos os ovos ao seu redor), diminuindo assim a taxa de eclosão do lote. Efeitos similares da contaminação microbiana na viabilidade e incubação dos ovos em diversos grupos de aves selvagens já foram igualmente descritos (36–38). Todavia, dificilmente vemos em criadouros separando em função do seu grau de sujidades.

Após a coleta, o ovo em aves domésticas é inspecionado minuciosamente quanto a sua qualidade para ser classificado como incubável de acordo com seu tamanho, limpeza, conformação, e qualidade de casca. Ovos incubáveis na avicultura industrial têm a extremidade larga contendo uma pequena câmara de ar e uma extremidade fina claramente identificável. Obviamente, essa é uma característica que não deve ser levada em consideração para muitas espécies devido as particularidades fisiológicas de cada grupo (por exemplo Strigiformes geralmente apresentam ovos redondos). Para matrizes de frango de corte, a casca dos ovos incubáveis também deve ser lisa, sem trincas ou ondulações, não devendo apresentar sujidades e manchas de sangue (39). Apesar dessa rigorosidade ser extremamente difícil de ser adaptada a realidade dos criadouros de aves selvagens, é importante ter esse conceito em mente para compreender alguns dos porquês da eclodibilidade em aves comerciais ser tão elevada. Ainda como recomendação do processo industrial, são realizados registros e o monitoramento contínuo das deformidades, sujidades e outras anormalidades encontradas nos ovos não incubáveis pois este, pode fornecer informações importantes sobre o status sanitário das reprodutoras e do lote (39), além de problemas associados ao manejo como a má nutrição e o estresse. Esse talvez seja um dos maiores ensinamentos que a avicultura comercial pode trazer a todos aqueles que trabalham com aves selvagens, uma vez que os registros das características externas dos ovos podem nos auxiliar no diagnóstico de diversos problemas apresentados pelo plantel (doenças, erros de manejo, idade dos reprodutores, deficiências nutricionais e hídricas, etc.). Somado a essa vantagem, a adoção dos registros por parte de criadouros e zoológicos, pode fornecer informações fundamentais no tocante ao planejamento e janela de trabalho.

Outra etapa concomitante aos registros é a higienização dos ovos. Quando matriseiros ou



avozeiros conseguem contornar problemas associados a contaminação da casca (realizando a coleta frequente dos ovos nos ninhos e desfazendo possíveis ninhos do piso), reduzem possíveis causas de estresse e problemas nutricionais, a higienização dos ovos pode se tornar dispensável. Caso contrário, sua realização é necessária sendo a desinfecção por fumigação com paraformaldeído o método de predileção entre os incubatórios. A fumigação quando ocorre de forma correta, pode oferecer excelentes taxas de eliminação de microrganismos nas superfícies da casca sem molhá-la, danificar a cutícula ou expandir os poros, evitando prejudicar o embrião dentro do ovo (35). Apesar dessas informações, poucos criadouros ou zoológicos utilizam a fumigação de ovos, técnica que também pode e deveria ser utilizada na desinfecção de incubadoras de ovos. É comum que essas instituições tentem higienizar as incubadoras com a lavagem seguida de aplicação de desinfetantes (alccól 70%, clorexidine, e afins), porém esses métodos não alcançam em certas partes desses equipamentos como ventoinhas e componentes eletrônicos (uma desvantagem frente a fumigação). Além da fumigação, outros métodos de desinfecção compreendem a lavagem e a imersão, porém são técnicas pouco recomendadas pois os produtos químicos utilizados nestes procedimentos podem danificar a camada de cutícula (40), alterar a microestrutura das cascas ou deixar resíduos químicos na superfície (41). Há também a irradiação ultravioleta e a utilização de ozônio (42,43), mas a literatura referente a essas metodologias ainda não é tão vasta quanto as descritas acima para se estabelecer comparativos, e muitos fatores relativos aos custos devem ser igualmente considerados.

Do mesmo modo que em aves domésticas, dois fatores principais podem afetar a viabilidade dos ovos de aves selvagens durante o transporte: alterações bruscas de temperatura e/ou umidade, e movimentação excessiva. Esse período caracteriza-se pela redução gradual da temperatura desde o galpão de produção à sala de ovos do incubatório, da mesma forma como deve também ser gradual o aquecimento dos ovos que passam da sala de ovos do incubatório para a máquina incubadora. É comum tanto para aves domésticas quanto para selvagens que ocorra um cuidado na manipulação dos ovos, evitando movimentos bruscos que prejudiquem a integridade do ovo, prevenindo a ocorrência de mortalidade inicial. Porém, pouco se fala em zoológicos e criadouros sobre os cuidados com as variações de temperatura e umidade durante o transporte e/ou estocagem pré-incubação.

Com relação as etapas que antecedem a incubação, a estocagem é uma prática muito comum em granjas comerciais e ela possui uma questão logística e de manejo importante pois possibilitam iniciar a incubação de milhares de ovos ao mesmo tempo promovendo um melhor controle das condições de incubação e, por conseguinte, otimizar resultados. Outro ponto interessante da estocagem de ovos para criadouros de aves selvagens é a possibilidade de concentrar os nascimentos de pintinhos em um período curto de tempo, gerando assim vantagens quanto a criação de filhotes (principalmente no caso de espécies altriciais) por permitir que vários filhotes com mesma idade e tamanho possam ser cuidados ao mesmo tempo, sem contar as vantagens relacionadas ao duplo *imprint* das aves criadas juntas. O ideal é que os ovos possam ser incubados durante os primeiros dias após a postura, uma vez que a armazenagem de mais de 7 dias pode resultar em reduções na taxa de eclosão devido à morte celular do embrião e à redução da qualidade interna do ovo, especialmente do albumen (44,45). Há uma ampla literatura sobre esse tópico na avicultura industrial, que é desconhecida por técnicos de zoológicos e criadouros, inclusive sobre metodologias eficientes para manutenção da eclodibilidade após períodos de estocagem superiores a 7 dias (ver SPIDES – Short Periods of Incubation during Egg Storage) (44,45).

Equipamentos e sala de incubação

O sucesso do desenvolvimento embrionário em aves é dependente de seguintes fatores: temperatura, umidade, troca de gases e viragem dos ovos (39). Todos esses fatores estão intimamente relacionados e servem de base para a construção e funcionamento de incubadoras. As incubadoras comerciais modernas podem incubar de 60.000 até 200.000 ovos de uma vez, e são completamente automatizadas controlando todos esses fatores ao longo da incubação: viragem dos ovos com a inclinação das bandejas a exatos 45° para cada lado; temperatura definida segundo aferições em tempo real da temperatura da casca via termossensores; umidade relativa do ar e perda de água do ovo determinada pelo peso da bandeja de ovos medida por sensores de peso nas bandejas; e qualidade do ar por meio de sensores de O₂ e CO₂ espalhados por diferentes localidades da incubadora (46). No entanto, segundo Paniago (47), apesar dos avanços tecnológicos dessas máquinas, o sucesso da incubação ainda depende da qualidade do trabalho tanto dentro como fora dos incubatórios, o que requer treinamento especializado.



A sala de incubação por exemplo, deve ser um local com temperatura controlada pois este fator possui interferência direta sob o funcionamento das incubadoras. O ar fornece, relativamente, pouca umidade; por isso, para evitar a sobrecarga do sistema interno de controle de umidade das incubadoras, o ar que entra na máquina é pré-umidificado até um nível muito similar à umidade relativa interna. Devido a estes requisitos, a temperatura da sala de incubação deve ficar em torno de 24-27 °C (76-80 °F) e a umidade relativa interna da incubadora entre 55 e 65%. A umidade relativa e a temperatura de incubação afetam a difusão de vapor de água através da casca do ovo. Van der Pol *et al.* (48) obtiveram maior eclodibilidade em ovos de frango de corte incubados a 55-60% de umidade e a temperatura foi mantida a 37,8°C.

Com relação à temperatura, durante o período inicial de incubação a temperatura embrionária está próxima da de incubação. No entanto, a partir da metade da incubação, a produção de calor metabólico a partir do embrião aumenta, elevando a temperatura acima da encontrada na incubadora (49). A diferença entre a temperatura embrionária final e a temperatura do ar na incubadora depende da condutividade térmica, que, por sua vez, é majoritariamente influenciada pela velocidade do ar sobre os ovos (49,50).

Além disso, a operação das incubadoras depende do tipo do sistema utilizado (estágio único ou múltiplo). Nas incubadoras de estágio único todos os ovos são introduzidos ao mesmo tempo (carga única), ficando totalmente vazias no dia da transferência para os nascedouros e nas de estágio múltiplo os ovos são introduzidos segundo a idade, ocupando-se o espaço deixado pelos ovos transferidos aos nascedouros (carga escalonada). Em máquinas de estágio único, por exemplo, a temperatura pode ser alterada a fim de modificar o crescimento do embrião e estimular o aumento de produção de calor animal, começando com temperaturas mais altas e reduzindo em diferentes etapas até a transferência (39).

A temperatura ótima para incubação dos ovos deve estar em torno de 37 a 38°C (49). Uma diferença importante relacionada ao controle da temperatura é que em incubadoras de uso doméstico ou amadoras, os fabricantes já estabelecem temperaturas constantes durante todo o ciclo. Nos incubatórios industriais, são utilizados programas de controle de temperatura durante o ciclo de incubação, visando otimizar as taxas de eclosão e melhorar o vigor dos pintos. Entre outros ajustes possíveis, adota-se a ligeira redução da temperatura nos dias finais da incubação, baixando para 36,8°C, por exemplo. Em grande parte dos criadouros e zoológicos as incubadoras são muitas vezes carregadas com ovos de diferentes espécies e com diferentes tempos de incubação, situação que limita esse tipo de programação de temperatura e, possivelmente, reduz as taxas de eclosão.

Nas incubadoras industriais de estágio único é possível ainda um controle do nível de CO₂, através da redução ou do aumento da ventilação. Este aspecto é de grande importância no processo de incubação, e vem sendo estudado devido a sua relação com o processo de vascularização no embrião. Foi observado que a indução de hipercapnia pela elevação das concentrações de CO₂, durante os primeiros dez dias de incubação podem melhorar o desempenho do embrião e resultar em efeitos benéficos sobre o crescimento das aves (51,52). Essa indução deve ocorrer durante a formação da membrana corio-alantóide (5º a 11º dias de incubação), fase em que ocorre intensa angiogênese, o que pode influenciar o aumento da rede vascular da membrana corio-alantóide e permitir maior difusão de oxigênio ao embrião nas fases posteriores do desenvolvimento (53). Ainda sobre a ventilação, em incubadoras industriais o ar fornecido para as máquinas incubadoras deve ser no mínimo 8 pés cúbicos por minuto para cada 1000 ovos ou 13,5 m³/hora/1000 ovos (39). Infelizmente, esse detalhamento na programação de ventilação não é nem sonhada em criadouros e zoológicos dadas as limitações das incubadoras utilizadas e muitas vezes pela desinformação do corpo técnico.

Outra condição, essencial para o desenvolvimento do embrião, disponibilizada pelas incubadoras industriais e amadoras é a viragem dos ovos. A viragem previne a aderência do embrião à membrana da casca do ovo, principalmente durante a primeira semana de incubação (39). Além disso, a viragem é vital para o crescimento e expansão da área vascular e fluido subembrionário de 1 a 6 dias de incubação, e da membrana cório-alantóide de 5 a 10 dias de incubação, favorecendo assim as trocas gasosas entre embrião e ambiente externo. Outros benefícios da viragem também referem-se a promoção da perda de calor, prevenção da desidratação embrionária, redução do desenvolvimento embrionário incorreto e facilitação da absorção de nutrientes. Recomenda-se para aves domésticas, que seja realizada a cada duas horas (com certas variações), iniciando no 2º dia de incubação e com término ao 18º-19º dia com o objetivo de evitar comprometer o posicionamento do pintinho ao nascer. As incubadoras industriais possuem sistema de inclinação de bandejas ao passo que grande parte das incubadoras amadoras são equipadas com sistema de viragem por rolamento. O sistema de viragem por rolamento apresenta



algumas desvantagens principalmente no tocante às diferenças no alinhamento dos ovos provocada pelas particularidades dos ovos como a porosidade, tamanho e formato. Por esse motivo o método de viragem por inclinação de bandejas (ângulo de 45°) é considerado mais eficiência e padronizado.

Para que possam ser realizadas mudanças em manejos futuros na incubação artificial de aves selvagens é de fundamental importância a adoção dos registros, que pode ser uma ferramenta importante para a obtenção de resultados mais consistentes e replicáveis assim como a possibilidade de sair da zona do empirismo que ainda é comum na incubação e na criação artificial nesses locais.

Análises pós-incubação

Um método comumente utilizado na indústria avícola para investigar problemas vinculados ao manejo e a incubação de ovos não eclodidos no final do período incubatório é o embriodiagnóstico (54). Tal ferramenta permite não apenas o diagnóstico de infertilidade, como também a definição de falhas na manipulação dos ovos via observação do estágio de desenvolvimento em que embriões não nascidos se encontram (54). Desse modo, as informações obtidas por esse exame permitem a implementação de ações corretivas para reduzir as mortalidades embrionárias e, conseqüentemente, aumentar a eclodibilidade dos ovos (54). A análise embrionária é muito utilizada por empresas avícolas para diagnosticar as causas da baixa produtividade de pintinhos, geralmente ocasionada por erros de manejo nos matrizeiros e/ou incubatórios. Isso porque o número de filhotes é resultado do gerenciamento correto de toda cadeia produtiva, desde a sanidade dos lotes reprodutores e cuidados com ovos incubáveis, até a padronização das condições de transporte, estocagem e incubação nos incubatórios industriais.

Durante o embriodiagnóstico o ovo pode ser classificado quanto a sua fertilidade (infértil ou fértil) e sua fase de desenvolvimento (fases I, II e III correspondendo à mortalidade inicial, média e final, respectivamente) (54). No ovo infértil observa-se o blastodisco, ao passo que no ovo fértil ocorre a formação do blastoderma (54). A capacidade de diferenciar um embrião com morte inicial de um ovo não fertilizado é um pré-requisito para que se possa determinar se o problema é de fertilidade ou da incubação. É comum classificar um ovo como infértil quando na verdade houve a morte do embrião em seus estágios iniciais de desenvolvimento, visto que modificações sutis no pólo animal do ovo não podem ser visualizadas na ovoscopia (55). No caso de aves domésticas, a fase I é considerada mortalidade embrionária precoce e ocorre do primeiro ao quarto dia de incubação. A fase II é considerada mortalidade embrionária intermediária e engloba embriões mortos do quinto ao décimo sétimo dia de incubação. Por fim, a fase III agrega os casos de mortalidade embrionária tardia, entre o décimo oitavo dia até a preparação para o nascimento (54). Por essa razão, a determinação dos estágios de desenvolvimento embrionário atrelada ao embriodiagnóstico pode ser de grande contribuição na determinação de parâmetros de incubação em espécies desconhecidas (56).

Entretanto a aplicação eficiente do embriodiagnóstico em criadouros e zoológicos depende diretamente da existência de pranchas de desenvolvimento embrionário para diferentes grupos de aves, material infelizmente indisponível para muitos grupos de aves. Desse modo, trabalhos com descrição embrionária são cruciais para serem usados como referência durante a necropsia de ovos que vierem a óbito durante a incubação, além de serem muito úteis para pesquisadores *in situ* na determinação da idade embrionária de ovos abandonados. A partir desta informação, o problema pode ser identificado e melhorias no processo de incubação podem ser feitas para aumentar a taxa de sucesso de nascimento. Ainda são poucos os estudos que compararam o desenvolvimento de espécies altriciais e precociais, sendo a maioria apenas no desenvolvimento precoce (57). Browne (58), que estudou o desenvolvimento embrionário de *Himantopus novaehollandiae*, espécie criticamente ameaçada, a partir de embriões fixados em formol, relatou a dificuldade em adquirir ovos que sejam utilizados para a eutanásia a fim de descrever sem lacunas o desenvolvimento. Além disso, é necessária uma maior quantidade de embriões no mesmo estágio de desenvolvimento, já que certo grau de variação no desenvolvimento pode ocorrer.

Existe também técnicas de contagem de furos feitos pelos espermatozoides na membrana perivitelínica interna ou a própria investigação de espermatozoides presos na membrana perivitelínica (59). Estes procedimentos são utilizados para prever a duração da fertilidade em matrizes comerciais e o número de espermatozoides estocados nas glândulas hospedeiras de espermatozoides, ao determinar o número de espermatozoides por área de membrana perivitelínica externa ou o número de furos realizados pelos espermatozoides por área de membrana perivitelínica interna de ovos ovipostos. Para aves selvagens, essa metodologia pode auxiliar os técnicos a descobrir se mesmo tendo ovos inférteis, pares de aves tiveram ou não cópulas com a deposição de sêmen no oviduto. Esse tipo de artifício pode ajudar o



criadouro ou zoológico a decidir se mantem ou não o casal formado.

Em suma, essas e outras técnicas rotineiramente empregadas na avicultura industrial podem auxiliar e muito na criação de aves selvagens. Obviamente, adequações devem ser efetuadas para muitas delas para que melhor se encaixem a realidade de criadouros e zoológicos. Todavia, os ganhos dessa abordagem mais zootécnica seja em criações com cunho conservacionista ou comercial são tremendos pois propiciam meios de levantamento e monitoramento do plantel e dos manejos empregados por cada instituição.

Agradecimentos

Agradecemos à FAPESP e a CAPES pelo apoio financeiro a nossos projetos de pesquisa.

Referências

- Associação Brasileira de Proteína Animal A. Relatório Anual. Assoc Bras Proteína Anim [Internet]. 2020;160. Available from: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf
- FAO. Poultry genetics and breeding in developing countries by Robert Pym. *Poult Dev Rev* [Internet]. 2013;80–3. Available from: [fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf](https://www.fao.org/3/i3531e/i3531e.pdf)
- Ismail I, Rizk Y, Awadien N, Tawfeek F, El-Wardany I.** Effects Of Short-Term Thermal Manipulation During Late Embryogenesis On Hatching Traits And Post Hatched Subsequent Performance Of Mamoura Strain Chicks. *J Anim Poult Prod*. 2016;7(4):145–51.
- Tallentire CW, Leinonen I, Kyriazakis I.** Artificial selection for improved energy efficiency is reaching its limits in broiler chickens. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–10.
- Bergoug H, Burel C, Guinebretière M, Tong Q, Roulston N, Romanini CEB, et al.** Effect of pre-incubation and incubation conditions on hatchability, hatch time and hatch window, and effect of post-hatch handling on chick quality at placement. *Worlds Poult Sci J*. 2013;69(2):313–34.
- van der Zwan H, Visser C, van der Sluis R.** Plumage colour variations in the *Agapornis* genus: a review. *Ostrich*. 2019;90(1):1–10.
- Crawford WC.** The theory of imprinting - Its implications and ramifications in raptors and all birds. *AFA Watchb*. 1991;18:34–5.
- Garamszegi LZ, Eens M, Török J.** Birds reveal their personality when singing. *PLoS One*. 2008;3(7).
- Blank MH, de Oliveira MJ, Cubas ZS, de Moraes W, Moreira N, Pereira RJG.** Fecal sex steroids and reproductive behaviors in harpy eagles (*Harpia harpyja*). *Zoo Biol*. 2020;39(5):315–24.
- J. Ferguson-Lees DAC.** *Raptors of the world*. Houghton Mifflin Harcourt; 2001. 992 p.
- Mourão JL, Barbosa AC, Outor-Monteiro D, Pinheiro VM.** Age affects the laying performance and egg hatchability of red-legged partridges (*alectoris rufa*) in captivity. Vol. 89, *Poultry Science*. 2010. p. 2494–8.
- Shanmugam M, Rajkumar U, Reddy MR, Rao SVR.** Effect of age on semen quality in naked neck and dwarf chicken under tropical climatic conditions. *Anim Prod Sci*. 2012;52(10):964–8.
- Shanmugam M, Vinoth A, Rajaravindra KS, Rajkumar U.** Evaluation of semen quality in roosters of different age during hot climatic condition. Vol. 145, *Animal Reproduction Science*. 2014. p. 81–5.
- Machado JP, Mesquita MA, Café MB, Assis SD, Veríssimo S, Santos RR, et al.** Effects of breeder age on embryonic development, hatching results, chick quality, and growing performance of the slow-growing genotype. Vol. 99, *Poultry Science*. 2020. p. 6697–704.
- Nasri H, van den Brand H, Najjar T, Bouzouaia M.** Egg storage and breeder age impact on egg quality and embryo development. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2020;104(1):257–68.
- Fischer D, Neumann D, Purchase C, Bouts T, Meinecke-Tillmann S, Wehrend A, et al.** The use of semen evaluation and assisted reproduction in Spix's macaws in terms of species conservation. *Zoo Biol*. 2014;33(3):234–44.
- Frediani MH, Guida FJV, Salgado PAB, Gonçalves DR, Blank MH, Novaes GA, et al.** Semen collection by electro-stimulation in a variety of bird orders. *Theriogenology*. 2019;125:140–51.
- Pereira RJG, Christofolletti MD, Blank MH, Duarte JMB.** Urofecal steroid profiles of captive Blue-fronted parrots (*Amazona aestiva*) with different reproductive outcomes. *Gen Comp Endocrinol*. 2018;260:1–8.
- Norris DO, Lopez KH.** *Hormones and Reproduction of Vertebrates - Volume 4*. Vol. 1, Hormones and



Reproduction of Vertebrates - Volume 4. 2011.

Leeson S, Summers JD. Significance of growing photoperiod and light stimulation at various ages for Leghorn pullets subjected to regular or ahemeral photoperiods. *Poult Sci.* 1988;67(3):391–8.

Lewis PD, Gous RM. Effect of final photoperiod and twenty-week body weight on sexual maturity and early egg production in broiler breeders. *Poult Sci.* 2006;85(3):377–83.

Lewis PD, Danisman R, Gous RM. Photoperiods for broiler breeder females during the laying period. Vol. 89, *Poultry Science.* 2010. p. 108–14.

Meijer T, Deerenberg C, Daan S, Dijkstra C. Egg-laying and photorefractoriness in the European kestrel *Falco tinnunculus*. *Ornis Scand.* 1992;23(3):405–10.

Dixit AS, Singh NS. Photoperiod as a proximate factor in control of seasonality in the subtropical male Tree Sparrow, *Passer montanus*. *Front Zool.* 2011;8:1–12.

Dixit AS, Sougrakpam R. Photoperiodic regulation of seasonal reproduction, molt and body weight in the migratory male yellow-breasted bunting (*Emberiza aureola*). Vol. 141, *Animal Reproduction Science.* 2013. p. 98–108.

Ribeiro JD. Estudo Endócrino Comportamental da Reprodução de Pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) Mantidos em Cativeiro. Universidade de São Paulo; 2017.

Berry WD. The physiology of induced molting. *Poult Sci.* 2003;82(6):971–80.

Dawson A. Control of molt in birds: Association with prolactin and gonadal regression in starlings. Vol. 147, *General and Comparative Endocrinology.* 2006. p. 314–22.

Myers SA, Millam JR, El Halawani ME. Plasma LH and prolactin levels during the reproductive cycle of the cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). Vol. 73, *General and Comparative Endocrinology.* 1989. p. 85–91.

Vleck CM, Vleck D. Physiological condition and reproductive consequences in Adélie penguins. *Integr Comp Biol.* 2002;42(1):76–83.

Pereira RJG. Reprodução das aves. In: *Tratado de animais selvagens: medicina veterinária.* Roca; 2014.

Francisco LR, Valduga MO, Moreira N. Resposta reprodutiva de psitacídeos neotropicais em cativeiro à retirada de ovos e filhotes. *Rev Bras Reprodução Anim.* 2014;38(1):25–31.

Kuehler CM, Witman PN. Artificial incubation of California condor *Gymnogyps californianus* eggs removed from the wild. *Zoo Biol.* 1988;7(2):123–32.

Kuehler CM. Artificial incubation of exotic or “Non-domestic” bird eggs. *AFA Watchb.* 1993;20(2):37–46.

Aviagen. Manual de manejo 2018. ROSS An Aviagen Brand [Internet]. 2018; Available from: https://eu.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/Ross-BroilerHandbook2018-ES.pdf

Cook MI, Beissinger SR, Toranzos GA, Rodriguez RA, Arendt WJ. Microbial infection affects egg viability and incubation behavior in a tropical passerine. *Behav Ecol.* 2005;16(1):30–6.

Godard RD, Morgan Wilson C, Frick JW, Siegel PB, Bowers BB. The effects of exposure and microbes on hatchability of eggs in open-cup and cavity nests. *J Avian Biol.* 2007;38(6):709–16.

Bonisolí-Alquati A, Rubolini D, Romano M, Cucco M, Fasola M, Caprioli M, et al. Egg antimicrobials, embryo sex and chick phenotype in the yellow-legged gull. *Behav Ecol Sociobiol.* 2010;64(5):845–55.

Cobb. Guia De Manejo De Incubação. 2020; Available from: <https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/c21a98c17d/Incubatrio-Cobb-Guia-de-Manejo-2020-07.pdf>

Kim JW, Slavik MF. Changes in eggshell surface microstructure after washing with cetylpyridinium chloride or trisodium phosphate. *J Food Prot.* 1996;59(8):859–63.

Favier GI, Escudero ME, De Guzmán AMS. Effect of chlorine, sodium chloride, trisodium phosphate, and ultraviolet radiation on the reduction of *Yersinia enterocolitica* and mesophilic aerobic bacteria from eggshell surface. *J Food Prot.* 2001;64(10):1621–3.

Kuo FL, Carey JB, Ricke SC. UV irradiation of shell eggs: Effect on populations of aerobes, molds, and inoculated *Salmonella typhimurium*. *J Food Prot.* 1997;60(6):639–43.

De Reu K, Grijspeerdt K, Herman L, Heyndrickx M, Uyttendaele M, Debevere J, et al. The effect of a commercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs. *Lett Appl Microbiol.* 2006;42(2):144–8.

Dymond J, Vinyard B, Nicholson AD, French NA, Bakst MR. Short periods of incubation during egg storage increase hatchability and chick quality in long-stored broiler eggs. *Poult Sci.* 2013;92(11):2977–87.



- Nicholson D, French N, Tullett S, Lierde E Van, Jun G.** Short Periods of Incubation During Egg Storage – SPIDES Embryo Cell Number after Egg Storage. *Lohmann Inf.* 2013;48(2):51–61.
- Boleli IC, Morita VS, Matos JB, Thimotheo M, Almeida VR.** Poultry egg incubation: Integrating and optimizing production efficiency. *Rev Bras Cienc Avic.* 2016;18(Special Issue 2):1–16.
- Paniago M.** Artificial incubation of poultry eggs - 3,000 years of history. *CEVA Anim Heal Asia Pacific.* 2005;2:1–2.
- van der Pol CW, van Roovert-Reijrink IAM, Maatjens CM, van den Brand H, Molenaar R.** Effect of relative humidity during incubation at a set eggshell temperature and brooding temperature posthatch on embryonic mortality and chick quality. Vol. 92, *Poultry Science.* 2013. p. 2145–55.
- Hulet R, Gladys G, Hill D, Meijerhof R, El-Shiekh T.** Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. *Poult Sci.* 2007;86(2):408–12.
- Leksrisonpong N, Romero-Sanchez H, Plumstead PW, Brannan KE, Brake J.** Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. *Poult Sci.* 2007;86(12):2685–91.
- De Smit L, Bruggeman V, Debonne M, Tona JK, Kamers B, Everaert N, et al.** The effect of nonventilation during early incubation on the embryonic development of chicks of two commercial broiler strains differing in ascites susceptibility. Vol. 87, *Poultry Science.* 2008. p. 551–60.
- Mueller C, Tazawa H, Burggren W.** Dynamics of acid-base metabolic compensation and hematological regulation interactions in response to CO₂ challenges in embryos of the chicken (*Gallus gallus*). *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol.* 2014;184(5):641–9.
- Everaert N, Kamers B, Witters A, De Smit L, Debonne M, Decuyper E, et al.** Effect of four percent carbon dioxide during the second half of incubation on embryonic development, hatching parameters, and posthatch growth. Vol. 86, *Poultry Science.* 2007. p. 1372–9.
- Plano CM, Matte MA Di.** Embriodiagnóstico e patologia perinatal. In: Macari M, Gonzales E, Patrício IS, Nääs IA, Martins PC, editors. *Manejo da Incubação.* FACTA; 2013. p. 245–72.
- Sellier N, Brillard JP, Dupuy V, Bakst MR.** Comparative staging of embryo development in chicken, turkey, duck, goose, guinea fowl, and Japanese quail assessed from five hours after fertilization through seventy-two hours of incubation. *J Appl Poult Res.* 2006;15(2):219–28.
- Saint Jalme M.** Endangered avian species captive propagation: An overview of functions and techniques. *Avian Poult Biol Rev.* 2002;13(3):187–202.
- Blom J, Lilja C.** A comparative study of embryonic development of some bird species with different patterns of postnatal growth. *Zoology.* 2005;108(2):81–95.
- Browne TJ.** Staging Kaki (*Himantopus novaehollandiae*) Embryos Using Embryonic Morphological Features. University of Otago; 2006.
- Bakst, M.R., Cecil, H.C.** Techniques for semen evaluation, semen storage, and fertility determination. *Poult Sci Assoc.* 1997;29–34.
-