

A estimulação sonora na incubação artificial altera o tempo de nascimento de pintos de corte?

Ana Carolina Donofre¹, Iran José Oliveira da Silva², Iuri Emmanuel de Paula Ferreira³

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas Agrícolas da Escola Superior “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP. Bolsista FAPESP. E-mail: acdonofre@usp.br

²Professor Doutor do Departamento de Engenharia de Biossistemas da Escola Superior “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP. E-mail: iranoliveira@usp.br

³Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências da Natureza, Campus Lagoa do Sino. E-mail: ferreira.iep@gmail.com

Resumo: Os embriões de aves são capazes de perceber e processar o som externo, o que desempenha um papel importante em respostas pós-natais. Nesta pesquisa, avaliou-se especificamente o tempo dos nascimentos de pintos de corte que, durante a incubação, foram expostos aos estímulos sonoros determinados pela associação de níveis de ruídos acrescidos ou não de vocalizações naturais da espécie. Para tanto, cinco ciclos (repetições) de incubações foram realizados em quatro incubadoras experimentais, em um delineamento aleatorizado em blocos. Por ciclo, 360 ovos Cobb-500 foram divididos entre as incubadoras, cada qual recebendo um tratamento de um esquema fatorial 2x2: S1 [ruído de 70 dB (A) sem vocalizações], S2 [ruído de 90 dB (A) sem vocalizações], S3 [ruído de 70 dB (A) com vocalizações] e S4 [ruído de 90 dB (A) com vocalizações]. Com exceção de S1 (ruído de fundo da própria incubadora), os demais tratamentos foram aplicados por caixas acústicas na totalidade dos 21 dias de incubação. A partir do 20º dia, o início (IN; h), o término (TN; h) e a janela de nascimentos (JN; h) foram avaliados. De todas as respostas, o início dos nascimentos apresentou significância de efeitos (Tukey, $\alpha=0,05$). O tratamento S1, determinado apenas pelo nível de ruído de 70 dB (A), ocasionou um maior tempo de IN ($498,4 \pm 2,6$ h), enquanto que as médias dos demais foram próximas a 492 h e não diferiram entre si. Para esta mesma resposta, houve interação entre os fatores: o efeito do nível de ruído foi significativo apenas quando não estava associado às vocalizações, sendo que 90 dB (A) foi responsável por um menor tempo para o IN. Por outro lado, o efeito das vocalizações só foi significativo quando associado ao nível de 70 dB (A), resultando também em um tempo menor para essa mesma resposta ($490,4 \pm 2,1$ h). Conclui-se assim que quanto maior a estimulação (ou pelo ruído mais elevado ou pela adição das vocalizações) mais precoce foram os nascimentos. Apesar disso, não houve efeito na janela de nascimento, provavelmente em decorrência do tempo para o término dos nascimentos.

Palavras-chave: janela de nascimento, nível de pressão sonora, vocalizações da espécie

Os autores deste trabalho são os únicos responsáveis por seu conteúdo e são os detentores dos direitos autorais e de reprodução. Este trabalho não reflete necessariamente o posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Biometeorologia (SBBiomet).

The authors of this paper are solely responsible for its content and are the owners of its copyright. This paper does not necessarily reflect the official position of the Brazilian Society of Biometeorology (SBBiomet).

Introdução

Uma imensidade de parâmetros ambientais pode afetar o desenvolvimento embrionário e o nascimento dos pintos de corte. Desde sempre, a grande preocupação da indústria e dos centros de pesquisa esteve voltada para o controle da temperatura, umidade relativa, viragem dos ovos e troca de gases nas incubadoras. Ademais, alguns estudos tratam do ambiente acústico pré-natal também como uma variável importante para as aves em desenvolvimento (Brouček, 2014).

Relata-se que o sistema auditivo dos embriões se torne funcional a partir do 12º dia, de um total de 21, o que faz com que estes sejam capazes de receber e responder à estímulos sonoros antes mesmo de nascerem (Alladi et al., 2002; Jones et al., 2006; Rumpf; Tzschentke, 2010). Conseqüentemente, a aplicação de sons na incubação de ovos possui efeitos diretos na aprendizagem, comportamento e memória das aves, além de correlacionar-se diretamente com o desenvolvimento cerebral, definido pelo número e tamanho de neurônios e pelas expressões sinápticas (Alladi et al., 2002; Jain et al., 2004; Kauser et al., 2011; Sanyal et al., 2013; Roy et al., 2014).

Das pesquisas citadas no parágrafo anterior, têm-se basicamente duas vertentes: os sons considerados bons para o embrião e aqueles que seriam tóxicos. A adição de músicas rítmicas ou de vocalizações da própria espécie, com a justificativa que na incubação tal componente natural foi eliminado, são dados como estímulos positivos (King'ori, 2011; Tefera, 2012). Em contrapartida, o ruído, caracterizado por sons sem periodicidade e harmonia, pode comprometer o desenvolvimento embrionário das aves (Kesar, et al., 2013; Sanyal et al., 2013). Segundo Brouček (2014) os ruídos são inevitáveis à produção animal, como neste caso, em que o ruído de funcionamento das incubadoras pode atingir magnitudes de até 100 dB (A) (Carvalho et al., 2015).

Para Tong et al. (2013) o fato de que os embriões de aves são capazes de produzir, processar e reproduzir sons é essencial para a sincronização dos nascimentos. Os mesmos relatam que há influência externa da interação vocal-auditiva entre a galinha e o embrião e mesmo entre embriões. Todavia, partira-se do princípio de que a incubação em seu processo industrial ainda desconhece destes efeitos e, por mais, trocou os sons naturais que a galinha emite chocando seus ovos pelo “barulho” dos motores das incubadoras, responsáveis pelo controle de outras variáveis da incubação.

Levantam-se assim algumas questões: 1) A adição de vocalizações da espécie no processo de incubação artificial pode ser favorável em respostas relacionadas ao tempo de nascimento? 2) O ruído de fundo do funcionamento das incubadoras pode encobrir esses efeitos? 3) O ruído das incubadoras em uma maior intensidade por si só pode comprometer o nascimento das aves? Para tanto, este trabalho vem com o objetivo de determinar o tempo de eclosão de pintos de corte que durante a incubação artificial foram expostos a diferentes estímulos sonoros, incluindo as vocalizações naturais da espécie.

Material e métodos

Incubações de ovos comerciais (linhagem corte, Cobb-500), com a aplicação de diferentes estímulos sonoros, foram realizadas no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Ambiente (NUPEA) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba – São Paulo.

Neste ensaio, o delineamento experimental é o aleatorizado em blocos, com tratamentos em esquema fatorial 2x2, determinados por dois níveis de ruído de fundo [NPS: 70 e 90 dB (A)], acrescidos ou não de gravações de vocalizações da espécie *Gallus gallus domesticus*, desempenhado diferentes atividades. Com a associação destes fatores, os tratamentos qualificaram-se em: S1 com o ruído de 70 dB (A), sem a adição das vocalizações (controle); S2 com o ruído de 90 dB (A), também, sem a adição das vocalizações; S3 com o ruído de 70 dB (A) e a adição vocalizações da espécie; e, por fim, S4 com o ruído de fundo de 90 dB (A) e com a adição das vocalizações.

O ruído de fundo de 70 dB (A) condiz com o funcionamento das próprias incubadoras experimentais, enquanto que o nível de 90 dB (A) foi reproduzido por uma caixa acústica, representando o ruído das incubadoras industriais, obtido em uma etapa prévia desta pesquisa. Os dois níveis de ruído estiveram presentes no período total de incubação (21 dias; 24 horas/dia). As vocalizações da espécie foram reproduzidas por caixas acústicas e adicionadas no 12º dia de incubação (24 horas/dia com intervalos de cinco minutos para os picos de 85 decibéis), seguindo as metodologias de Alladi et al. (2002); Alladi et al. (2005) e Jain et al. (2004). Ambos os estímulos sonoros (ruído e vocalizações) foram fornecidos dentro das frequências audíveis das aves domésticas (100-5000 Hz).

Por serem tratamentos sonoros foram utilizadas quatro incubadoras separadas, modelo Luna 240 ovos da Chocmaster®. As variáveis temperatura (°C) e umidade relativa (%) foram controladas automaticamente pelas máquinas e monitoradas por dataloggers (modelo U12-013 da Onset's HOB0®). Além disso, os ovos eram virados automaticamente a cada duas horas.

As incubadoras foram mantidas em uma sala condicionada a menos de 26 °C (especificação do produto), conseqüentemente, a aplicação dos tratamentos sonoros implicou na necessidade do isolamento

acústico lateral das mesmas. Ainda, para garantir que um tratamento não estivesse influenciando em outro, calibrações prévias com um decibêlmetro digital (modelo DEC - 490 da Instrutherm®) foram realizadas em diferentes circunstâncias. Alguns detalhes experimentais são ilustrados abaixo (Figura 1).

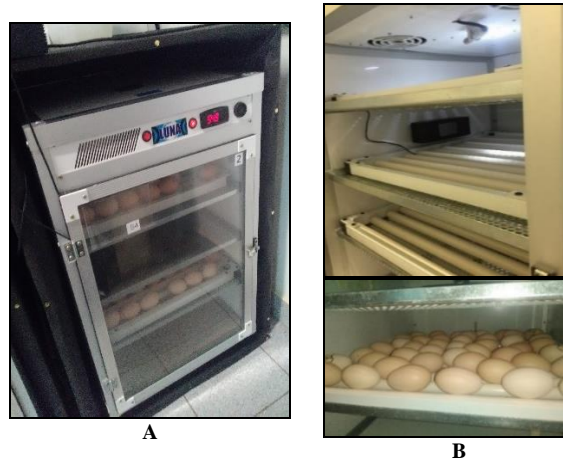


Figura 1. (A) incubadora experimental em uma caixa de isolamento acústico; (B) detalhes internos para a caixa acústica colocada na bandeja do meio e dos ovos incubados

Ao todo, foram realizadas cinco réplicas do experimento em períodos de incubação diferentes (blocos). As unidades experimentais foram os conjuntos de bandejas com 90 ovos (360/repetição), submetidos simultaneamente a um dos tratamentos sonoros. Em cada bloco, os tratamentos foram sorteados e rotacionados entre as máquinas. Informações adicionais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Informações referentes às repetições realizadas neste experimento

Repetição	Dia de incubação	Dia de eclosão	Idade das matrizes (semanas)	Alocação dos tratamentos nas incubadoras			
				S1	S2	S3	S4
1*	03/09/2016	28/09/2016	58	4	3	1	2
2*	05/11/2016	28/11/2016	66	3	1	2	4
3**	28/12/2016	17/01/2017	45	1	2	4	3
4**	25/02/2017	20/03/2017	53	2	4	3	1
5**	11/04/2017	01/05/2017	59	4	3	1	2

* Primeiro lote de matrizes; ** Segundo lote de matrizes

As respostas avaliadas baseiam-se no tempo dos nascimentos em função do tratamento sonoro recebido na incubação. Desta forma, a partir do 20º dia de incubação, foram realizadas observações a cada duas horas e entre 07:30 e 17:30 para a identificação do início (IN; h) e do término dos nascimentos (TN; h), bem como, para a estimativa da janela de nascimento (JN; h), determinada pela diferença em horas entre o último e o primeiro pinto nascido de cada tratamento. O tempo limite de incubação foi fixado em 552 h (23 dias), quando as incubadoras foram desligadas e a aves destinadas para outro fim.

Os efeitos principais dos fatores e interações foram avaliados por meio do teste F da análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância. O diagnóstico da análise foi realizado a partir de gráficos dos resíduos e testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett) de variâncias, a 5% de significância. As comparações múltiplas das médias dos tratamentos foram realizadas por meio do teste de Tukey, também a 5% de significância.

Resultados e Discussão

O tempo para o desenvolvimento embrionário das aves domésticas é 21 dias (504 horas) e em tese a estimulação sonora é capaz de sincronizar os nascimentos (Rumpf; Tzschentke, 2010; Tong et al., 2013). Na Tabela 2 são apresentados os fatores experimentais e as suas interações. O término dos nascimentos (TN; h) não pôde ser explicado pelo modelo estatístico empregado, dependendo da realização de mais repetições (em andamento). Para a resposta início dos nascimentos (IN; h) observou-se significância de efeitos do fator vocalização (ausência/presença) e da interação deste com os níveis de ruído. Entretanto, os fatores avaliados não foram significativos para a janela de nascimento (JN; h), sendo que esta resposta apresentou médias discrepantes ($F, \alpha=0,05$).

Tabela 2. Análise de variância, estatística F e valor p para as respostas início dos nascimentos (IN; h) e janela de nascimento (JN; h)

Causa de Variação	Graus de Liberdade	IN		JN	
		F	p	F	p
Blocos	4	49,77	0,00*	3,91	0,03*
Ruído	1	03,14	0,10	0,09	0,77
Vocalização	1	06,73	0,02*	0,29	0,59
Interação	1	08,21	0,01*	0,03	0,86
Resíduo	12	----	----	----	----

* Efeitos estatisticamente significativos ao nível de 5% pelo teste F

Dentre os tratamentos avaliados sugestiona-se que S1, determinado somente pelo ruído de fundo de 70 dB (A), tenha resultado em um atraso médio de seis horas para os nascimentos (Tukey, $\alpha=0,05$). Enquanto que os demais tratamentos, expostos ao nível de pressão sonora de 90 dB (A) ou à adição das vocalizações com picos de 85 dB (A), apresentaram médias de IN iguais e próximas a 492 h (Tabela 3).

Tabela 3. Médias e erros-padrão das respostas medidas para os tratamentos S1 (ruído baixo, sem vocalização), S2 (ruído alto, sem vocalização), S3 (ruído baixo, com vocalização) e S4 (ruído alto, com vocalização)

Tratamentos	Início (h)	Janela (h)
S1	498,4 \pm 2,6 a	41,2 \pm 1,6 a
S2	491,6 \pm 2,5 b	41,8 \pm 2,2 a
S3	490,4 \pm 2,1 b	43,6 \pm 2,0 a
S4	492,0 \pm 2,3 b	42,0 \pm 1,9 a

*Letras diferentes dentro das colunas indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de significância

De acordo Rumpf e Tzschentke (2010) há evidências de que os sons emitidos pelas aves durante o nascimento possam em contraste com outros sinais acústicos alterar o mecanismo de sincronização. Por isso, a ideia de associar os níveis mais baixos e altos de ruído aos estímulos naturais. Com o desdobramento da interação ruído x vocalização (Tabela 4) pode-se dizer que o efeito do nível de ruído foi significativo apenas quando o mesmo não estava associado à adição das vocalizações, sendo que o nível de 90 dB (A) foi responsável por um menor tempo para o início dos nascimentos. Por outro lado, o efeito das vocalizações só foi significativo quando associado ao nível de 70 dB (A), resultando também em um tempo menor para o IN das aves (490,4 \pm 2,1 h) (Tukey, $\alpha=0,05$).

Tabela 4. Médias do desdobramento dos fatores nível de ruído e adição de vocalizações para o início dos nascimentos (IN; h)

Ruído	Vocalização Materna	
	Sem	Com
70 dB (A)	498,4 Aa	490,4 Ba
90 dB (A)	491,6 Ab	492,0 Aa

*Letras maiúsculas e minúsculas distintas nas linhas e colunas, respectivamente, indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tong et al. (2015) avaliaram dois estímulos sonoros na incubação: a adição de vocalizações da espécie e um tratamento controle. Diferente dos resultados aqui obtidos, o início das bicagens no tratamento com as vocalizações ocorreu aproximadamente quatro horas mais tarde do que no controle. Entretanto, Veterány et al. (1999) que aplicaram dois níveis de ruído como estimulantes [10 dB (A) e 20 dB (A)], verificaram que com a intensidade menor de 10 dB (A), os nascimentos começaram mais tarde (493,90 \pm 6,71 horas) em relação ao tratamento de 20 dB (A) (489,50 \pm 4,64 horas). O último trabalho vai de encontro aos resultados aqui obtidos, em que a maior estimulação sonora, promovida tanto pelo ruído mais intenso como pela adição das vocalizações, adiantou sobremaneira o início dos nascimentos.

Vale mencionar que o reflexo do início e término dos nascimentos é visto diretamente na janela de nascimento (JN; h) que pode durar de 24 a até 48 horas (Van de Vem et al., 2011; Løtvedt; Jensen, 2014). Uma maior JN prejudica a logística dos incubatórios comerciais, enquanto os pintos recém-eclodidos apresentarão uma maior heterogeneidade de massa, maior tempo de exposição a condições não adequadas de temperatura e umidade, além do acesso retardado à alimentação e à água o que pode comprometer o crescimento pós-natal e o bem-estar das aves (Bergoug et al., 2013). Nesta pesquisa, apesar de S1 ter ocasionado em um atraso para as eclosões, não foi verificado nenhum efeito significativo na JN, provavelmente, em decorrência da resposta término dos nascimentos, não modelada nesta análise. Mais repetições serão executadas o que futuramente poderá alterar estes resultados.

Conclusões

A estimulação sonora na incubação artificial influencia no tempo para o início dos nascimentos das aves, de modo que, o ruído mais elevado ou a adição das vocalizações estão associados aos

nascimentos mais precoces. Apesar disto, não há efeitos evidentes do som para o término dos nascimentos e, conseqüentemente, para a janela de nascimento.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento deste projeto.

Referências

- Alladi PA; Wadhwa S; Singh N (2002) Effect of prenatal auditory enrichment on developmental expression of synaptophysin and syntaxin 1 in chick brainstem auditory nuclei. *Neuroscience*, v. 114, p. 577 – 590
- Bergoug H et al. (2013) 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. *World's Poultry Science Journal*, v. 69, p. 312 - 334.
- Brouček J (2014) Effect of noise on performance, stress, and behaviour of animals. *Slovak Journal Animal Science*, v. 47, p. 111-123.
- Jain S; Sharma R; Wadhwa (2004) Effect of prenatal species-specific and music stimulation on the postnatal auditory preference of domestic chick. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, v.48, p. 174 – 183.
- Jones TA; Jones SM; Paggett KC (2006) Emergence of Hearing in the Chicken Embryo. *Journal of Neurophysiology*, v. 96, p. 128 -141.
- Kausar H et al. (2011) Prenatal complex rhythmic music sound stimulation facilitates postnatal spatial learning but transiently impairs memory in the domestic chick. *Develop Neuroscience*, v.33, p. 48 -56.
- Kesar AG (2013) Effect of prenatal chronic excessive sound exposure on auditory filial imprinting area of chick forebrain. *Journal of the Anatomical Society of India*, v. 62, p. 125 - 132.
- King'ori AM (2011) Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *International Journal of Poultry Science*, v.10, p. 483 - 492.
- Løtvedt P; Jensen P (2014) Effects of Hatching Time on Behavior and Weight Development of Chickens. *PLoS ONE*, v, 9, n.7, p. 10.
- Roy S; Nag TC; Upadhyay AD; Mathur R; Jain S (2014) Prenatal music stimulation facilitates the postnatal functional development of the auditory as well as visual system in chicks (*Gallus domesticus*). *Journal of Biosciences*, v. 39, p. 107 - 117.
- Rumpf M; Tzschentke MRB (2010) Perinatal acoustic communication in birds: Why do birds vocalize in the egg? *The Open Ornithology Journal*. v. 3, p. 141-149.
- Sanyal T; Kumar V; Nag TC; Jain S; Sreenivas V (2013) Prenatal loud music and noise: differential impact on physiological arousal, hippocampal synaptogenesis and spatial behavior in one day-old chicks. *PLoS ONE*, v. 8, p. 16.
- Tefera M (2012) Acoustic Signals in Domestic Chicken (*Gallus gallus*): a tool for teaching veterinary ethology and implication for language learning. *Ethiopian Veterinary Journal*, v.16, p. 77 - 84.
- Tong Q et al. (2013) Embryonic development and the physiological factors that coordinate hatching in domestic chickens. *Poultry Science*, v. 92, p. 620 - 628.
- Tong Q et al. (2015). Effect of species-specific sound stimulation on the development and hatching of broiler chicks. *British Poultry Science*, v. 56, p. 143 - 148.
- Veterány S; Hluchý J; Červeňanová (2005) Effect of the use of synthetic sound during incubation in chicken L. *Journal of Agricultural Sciences*, v. 50, p.131 - 138.