

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DIFERENTES HORÁRIOS DE ARRAÇOAMENTO
SOBRE O DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS
DE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Angélica Londero

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**DIFERENTES HORÁRIOS DE ARRAÇOAMENTO SOBRE O
DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE MATRIZES
DE FRANGOS DE CORTE**

Angélica Londero

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia.**

Orientador: Alexandre Pires Rosa

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Londero, Angélica
DIFERENTES HORÁRIOS DE ARRAÇOAMENTO SOBRE O
DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE MATRIZES DE FRANGOS DE
CORTE / Angélica Londero.-2015.
83 p.; 30cm

Orientador: Alexandre Pires Rosa
Coorientador: Paulo Santana Pacheco
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2015

1. Matriz de frango de corte 2. Qualidade de ovos 3.
Contaminação bacteriológica 4. Qualidade óssea I. Pires
Rosa, Alexandre II. Santana Pacheco, Paulo III. Título.

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Angélica Londero. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: vetelondero@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DIFERENTES HORÁRIOS DE ARRAÇOAMENTO SOBRE O
DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS DE MATRIZES DE
FRANGOS DE CORTE**

elaborada por
Angélica Londero

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

Alexandre Pires Rosa, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

José Roberto Sartori, Dr. (UNESP)

Irineo Zanella, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 24 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente por me dar a benção da vida, por me dar força e condições para seguir meu caminho, passar por obstáculos e seguir rumo aos meus ideais.

Aos meus pais, Meire e Nerci Londero, que por vezes foram meus ídolos, aos quais dedico esse mérito, por estarem sempre ao meu lado, incentivando e dando força nas maiores dificuldades. À toda minha família em geral, por torcerem e vibrarem juntos comigo em cada conquista, em especial ao meu irmão Fernando e sua esposa e aos primos Gabriela e Rossano.

Aos mestres da UFSM, responsáveis por minha formação, em especial ao professor Alexandre Pires Rosa, pela sua brilhante forma de ensinar, com quem aprendi a gostar do trabalho com aves, a quem admiro pela excepcional competência e agradeço imensamente por todos os momentos de orientação e amizade que me foram dados.

À toda equipe do LAVIC pelo apredizado, amizade, incentivo, apoio, confiança. Aos velhos amigos conquistados em tempo de estágio, a quem guardarei para sempre em meu coração. À todos estagiários, no geral, pela colaboração braçal e amiga: tenham certeza, “quem acredita, sempre alcança!”. Aos colegas da pós-graduação, em destaque ao Clube das Lulus, pela amizade, pela ajuda, apoio, compreensão e parceria incondicional. Aos demais funcionários do LAVIC, pelos ensinamentos e amizade.

Aos laboratórios: LABAC (Laboratório de Bacteriologia) e LACVET (Laboratório de Análises Clínicas) por dispor de suas instalações, equipamentos e conhecimentos para a realização desta pesquisa, muito obrigada!

À CAPES, pelo auxílio financeiro, o que ajuda muito ao aluno na realização de suas atividades.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

DIFERENTES HORÁRIOS DE ARRAÇOAMENTO SOBRE O DESEMPENHO E QUALIDADE DE OVOS MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE

AUTORA: ANGÉLICA LONDERO

ORIENTADOR: ALEXANDRE PIRES ROSA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de fevereiro de 2015.

Um estudo foi conduzido no Laboratório de Avicultura – LAVIC da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes horários de arraçamento sobre o desempenho e qualidade de ovos de matrizes de frangos de corte da linhagem Cobb 500. O período experimental foi dividido em duas fases, a primeira da 28^a a 40^a semanas (Fase I) e a segunda da 40^a a 60^a semanas (Fase II) de idade das aves. Avaliaram-se três horários de arraçamento: único - 8hs; duas vezes ao dia (50% às 8hs e 50% às 15hs) e único - 15hs. Na Fase I foram utilizadas 546 fêmeas e 63 machos distribuídos em um deliamento inteiramente casualizado (DIC) composto por 7 repetições de 26 fêmeas e 3 machos. Na Fase II utilizou-se 330 fêmeas e 45 machos distribuídos em um DIC composto por 5 repetições de 22 fêmeas e 3 machos. As dietas foram à base de milho e farelo de soja. Na Fase I, a taxa de postura de aves alimentadas às 15hs foi reduzida ($P=0.0002$). Estas aves apresentaram maior peso de ovo e gema em comparação às aves alimentadas às 8hs e, aves alimentadas às 15hs apresentaram melhor qualidade de casca (gravidade específica, peso e espessura) em relação às demais. A contaminação bacteriológica da casca não foi afetada pelos diferentes horários de arraçamento, bem como eclodibilidade, fertilidade, ovos contaminados e bicados. A mortalidade embrionária foi menor em ovos resultantes de matrizes arraçoadas às 8hs. Estas aves produziram ovos que apresentaram maior taxa de eclodibilidade de ovos férteis em relação às aves alimentadas duas vezes ao dia. Na Fase II, a taxa de postura não foi afetada pelos horários de arraçamento. Matrizes alimentadas à tarde apresentaram maior peso de ovo e casca em relação às demais. Estas aves apresentaram maior gravidade específica e espessura de casca em relação às aves alimentadas às 8hs. Cálcio (Ca) e fósforo (P) plasmáticos (21 horas após a postura) foram maiores em matrizes arraçoadas às 15hs em relação às aves alimentadas apenas às 8hs. Matrizes alimentadas às 8hs apresentaram maior peso de tíbia do que aquelas alimentadas duas vezes ao dia. O arraçamento único às 15hs demonstrou menor produção de ovos da 28^a a 40^a semanas de idade. Matrizes alimentadas a tarde apresentam melhor qualidade de ovos, sendo que não foram encontradas diferenças bacteriológicas nos ovos das aves alimentadas em diferentes horários.

Palavras-chave: Contaminação bacteriológica. Gravidade específica. Espessura de casca. Ca e P. Tibia.

ABSTRACT

Master Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

DIFFERENT FEEDING SCHEDULES ON THE PARAMETERS AND EGG QUALITY IN BROILERS BREEDERS

AUTHOR: ANGÉLICA LONDERO

ADVISER: Dr. ALEXANDRE PIRES ROSA

Presentation Place and Date: Santa Maria, February 24th, 2015.

A study was carried out at Poultry Science Laboratory – LAVIC at the Federal University of Santa Maria – UFSM. The aim was evaluated the effect of different feeding schedules on the performance and eggs quality of broilers breeders Cobb 500. The experimental period was separated into two phases, the first from 28th to 40th week (Phase I) and the second from 40th to 60th week (Phase II) of hen's age. The feeding schedules evaluated were: a single feeding at 08:00 am; twice daily feeding (50% at 08:00 am and 50% at 3:00 pm) and a single feeding at 3:00 pm. At the Phase I, was used 546 females and 63 males allocated in a completely randomized design (CRD) with 7 pens with 26 females and 3 males per repetition and, to the Phase II was used 330 females and 45 males assigned in a CRD with 5 pens with 22 females and 3 males by repetition. The diets were based on corn and soybean meal. At the Phase I, the egg production of hens fed at 3 pm was reduced ($P=0.0002$). These hens had higher egg and yolk weight than hens fed at 8 am. Hens fed at 3 pm showed better shell quality (egg specific gravity, weight and thickness). The bacterial contamination of the shell was not affected by the different feeding schedules, as well as hatchability, fertility, contaminated and pipped eggs. Embryonic mortality was the lowest in eggs came from hens fed at 8 am. The hatchability of fertile shown to be higher in hens fed once daily in the morning than broiler breeders fed twice daily. At the Phase II, the egg production was not affected by feeding schedules. The hens fed in the afternoon had higher egg and shell weight than others. The hens fed at 3 pm had higher egg specific gravity and eggshell thickness than eggs come from hens fed at 8 am. Calcium (Ca) and phosphorus (P) plasma levels (21 hours after laying) were higher in hens fed at 3 pm than hens fed at 8 am. The tibia weight was higher in hens fed 8 am than hens fed twice daily feeding. A single feeding at 3:00 pm showed lowest egg production of the 28th to 40th weeks of age. Broiler breeders fed in the afternoon had better egg quality and bacteriological differences were not found in the eggs of hens fed at different schedules.

Key words: Bacterial contamination. Egg specific gravity. Eggshell thickness. Ca and P. Tibia.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
CAPÍTULO 1	11
1 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO.....	11
1.1 Estrutura e qualidade de ovo.....	11
1.2 Qualidade da casca	12
1.3 Qualidade microbiológica do ovo.....	13
1.4 Manejo de ovos incubáveis.....	14
1.4.1 Contaminação de ovos incubáveis.....	15
1.5 Manejo alimentar	16
1.6 Horários de arraçoamento.....	18
1.7 Metabolismo de cálcio (Ca) e fósforo (P) na matriz de corte.....	20
2 HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	23
2.1 Hipóteses.....	24
2.2 Objetivos.....	24
2.2.1 Geral... ..	24
2.2.2 Específicos.....	24
CAPÍTULO 2.....	25
EFFECT OF DIFFERENT FEEDING SCHEDULES ON REPRODUCTIVE PARAMETERS AND EGG QUALITY FROM BROILER BREEDERS.....	25
ABSTRACT.	27
INTRODUCTION	28
MATERIAL AND METHODS.....	29
Treatments	30
Experimental responses measured.....	30
Bacteriological analysis on eggshells	31
Incubation parameters.....	32
Experimental design and statistical analysis	32
RESULTS	33
Parameters of eggs.....	33
Incubation parameters.....	33
DISCUSSION.....	34
Parameters of eggs.....	34
Incubation parameters.....	37
CONCLUSIONS	38
REFERENCES	39
CAPÍTULO 3.....	51
THE EFFECT OF DIFFERENT FEEDING SCHEDULES IN BROILER BREEDERS ON EGG QUALITY, BLOOD AND BONE PARAMETERS.....	51
ABSTRACT.	53
INTRODUCTION	54
MATERIAL AND METHODS.....	55
Treatments	56
Experimental responses measured.....	56

Analysis of calcium and phosphorus level in blood	57
Analysis of bone quality	57
Experimental design and statistical analysis	58
RESULTS	58
DISCUSSION.....	59
Parameters of eggs.....	59
Blood parameters	61
Bone parameters	63
CONCLUSIONS	64
REFERÊNCIAS	64
CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países que mais avançou em tecnologia avícola nas últimas décadas, sendo o primeiro em volume de exportações e terceiro em produção de carne de frango. Em 2013, segundo a UBABEF (2014), o Brasil produziu 12,308 milhões de toneladas de frango o que o torna cada vez mais competitivo no mercado mundial.

O grande avanço nas áreas de genética, nutrição, ambiência e sanidade proporcionaram melhorias na produção do principal produto da indústria avícola: o frango de corte. Mas para que este produto apresente bom desempenho zootécnico e rentabilidade econômica, necessariamente, as matrizes e seus ovos também devem possuir alta *performance* e qualidade, pois são as mesmas que irão produzir ovos embrionados e estes, quando incubados, darão origem aos pintos de corte destinados à produção de carne. Entretanto, mesmo com estes avanços, a indústria enfrenta um grande problema com a perda de ovos incubáveis, incluindo ovos com casca mais fina, deformados e trincados, gerando prejuízos significativos (REZENDE e ROCHA, 2013).

Baião e Lúcio (2005) afirmam que os ovos trincados e/ou quebrados, representam uma perda que varia de 1,2% a 2,4% do total de ovos produzidos em uma granja de matriz pesada. Porém, os prejuízos provocados pela má qualidade da casca não podem ser avaliados, simplesmente, pela porcentagem de ovos trincados e/ou quebrados. A qualidade da casca está relacionada, também, com a contaminação dos ovos, portanto, é um importante fator no rendimento de incubação e na qualidade dos pintos.

Ao longo dos anos a avicultura tenta minimizar a perda de ovos incubáveis devido à problemas relacionados com a qualidade da casca dos ovos. Vários fatores têm sido relacionados a estes defeitos, destacando-se a nutrição (cálcio, fósforo, magnésio, zinco, manganês, eletrólitos, proteínas e aminoácidos, vitamina D), idade da matriz pesada, genética, temperatura ambiente, enfermidades, medicamentos, tipos de ninhos, qualidade de cama, manejo dos ovos incubáveis e manejo de matriz pesada (REZENDE e ROCHA, 2013).

Dentre os principais pontos relacionados ao manejo de matriz, destaca-se o manejo alimentar, pois, quando a matriz consome ração, a prioridade de utilização dos nutrientes é a manutenção dos órgãos vitais, seguidos do metabolismo ósseo e crescimento muscular e, por último, a reprodução (ARAÚJO et al., 2009). Isso ressalta a importância do fornecimento de uma dieta equilibrada que irá garantir as necessidades de manutenção e produção (ROSA e SANTOS, 2014). Assim, para regular o ganho de peso, limitar os riscos à saúde, e também manter a alta fertilidade, a prática

de criação de matrizes abrange um alto grau de restrição alimentar (RENEMA e ROBINSON, 2004). Os métodos de restrição quantitativos ou volumétricos têm sido recomendados técnica e economicamente, pois propiciam melhor controle de peso das aves, lotes uniformes quanto à maturidade, curva de produção de ovos elevada e maior longevidade produtiva (BAIÃO, 1994).

O consumo de alimento de uma matriz em restrição alimentar é aproximadamente 50 a 60% em relação ao consumo *ad libitum* e, esta prática tem como objetivo reduzir distúrbios metabólicos e melhorar a produção de ovos (CHEN et al., 2006). Matrizes em postura são comumente alimentadas com uma dieta restrita uma única vez ao dia, sendo que esta alimentação é completamente consumida em cerca de 4 horas (CAVE, 1981) resultando em um grande período de jejum para as aves (SPRADLEY et al., 2008).

Cave (1981) e Bootwalla et al. (1983) colocaram em dúvida se o esquema de alimentação única pela manhã atende à demanda por nutrientes, especialmente no momento da formação da casca do ovo. Cave (1981), trabalhando com matrizes pesadas, constatou que a alimentação duas ou três vezes ao dia permitiu melhora no peso e na produção de ovos e maior eficiência na utilização do alimento. No entanto, decidir sobre o melhor horário para alimentar as matrizes não é simples, pois devem ser levados em consideração todos os aspectos relacionados no processo produtivo, tais como a taxa de produção, eficiência produtiva, comportamento, qualidade de casca, eclodibilidade, tempo de postura, bem-estar das aves e manejo realizado pelo produtor (BACKHOUSE e GOUS, 2006).

Roland e Farmer (1984) e Bootwalla et al. (1989) relataram que os diferentes horários de alimentação influenciaram o ciclo de formação do ovo e os níveis de cálcio (Ca) e fósforo (P) do sangue no momento da calcificação e, que o horário de maior necessidade de cálcio, para a formação da casca do ovo, ocorreu no período noturno. Roland e Farmer (1984), observando os níveis de cálcio nos diferentes segmentos do aparelho digestivo constataram que, reprodutoras alimentadas à tarde, tiveram mais cálcio disponível durante o estágio de calcificação do ovo que as reprodutoras alimentadas pela manhã.

Considerando as dúvidas ainda existentes sobre os efeitos dos horários de arraçoamento em matrizes de frangos de corte, foi conduzido este experimento com o objetivo de avaliar o desempenho e qualidade de ovos das mesmas.

CAPÍTULO 1

1 ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

1.1 Estrutura e qualidade de ovo

O ovo é uma estrutura complexa que possui três partes principais: a gema, o albúmen e a casca e outras partes em menor proporção, dentre elas, o blastodisco, a chalaza, a câmara de ar, a cutícula e as membranas da casca. Os ovos consistem de 8 a 11% de casca, 56 a 61% de albúmen e 27 a 32% de gema. A forma da casca e o peso de ovos de galinha dependem da hereditariedade, idade, estação do ano e dieta (ORDÓNEZ, 2005).

A membrana da casca é constituída de duas camadas: uma mais espessa (externa), chamada “esponjosa”, próxima à casca; e a outra mais fina (interna), também chamada “mamilar”. Na extremidade mais larga do ovo, estas membranas estão separadas, dando lugar a um espaço denominado câmara de ar. Este espaço é preenchido por ar que entra através da casca, depois da oviposição (BEIG e GARCIA, 1987).

A proteção à atividade microbiana nos ovos provém da casca, membranas da casca e do albúmen. A casca é uma barreira física à contaminação, no entanto, contém numerosos poros que são grandes o suficiente para permitir a entrada de bactérias (HUTCHISON et al., 2003). Conforme Solomon (1991), a casca do ovo tem espessura de 0,28 a 0,42mm e contém de 7.000 a 17.000 poros por ovo, que possuem 0,5 a 12,8 micra de diâmetro, para permitir a respiração do embrião e perda de umidade sendo considerada a maior fonte de minerais para o desenvolvimento do embrião (MORENG e AVENS,1990). Estes poros estão cobertos por uma cutícula composta de cera que protege o ovo contra perda de água e dificulta a penetração de microorganismo (PRODLOVE, 1996). As membranas internas e externas, formadas por queratina, agem como camadas protetoras contra rompimentos e invasão microbiana. Sua espessura é de apenas 0,01 a 0,02 mm (MADRID et al., 1996).

A cutícula, logo após a oviposição, é mole e úmida, sendo que, posteriormente, endurece e a diferença de temperatura entre o oviduto e o ambiente causa contração do conteúdo do ovo, que está à 42°C quando posto. Este processo pode facilitar a translocação de

microorganismos pelos poros da casca. No entanto, com o endurecimento a cutícula torna-se uma barreira à penetração de bactérias e à perda de água (HUTCHISON et al., 2003).

De acordo com Coutts e Wilson (2007), qualidade do ovo é um termo geral que se refere aos vários padrões que definem tanto a qualidade interna como a externa. Subsidiando alguns destes padrões, se observa o peso do ovo, importante parâmetro na padronização e fiscalização do produto. Segundo Ahn et al. (1997), o peso do ovo incorpora três componentes: a gema, o albúmen e a casca. Tanto a porcentagem de gema como de albúmen são determinadas dividindo-se o peso da gema pelo peso do ovo inteiro, em seguida multiplica-se por 100.

1.2 Qualidade da casca

A qualidade da casca dos ovos tem sido a principal preocupação para a avicultura, seja na produção de ovos férteis ou comerciais. Uma casca sólida e de boa qualidade é fundamental para o desenvolvimento adequado do embrião. A casca o protege contra choques mecânicos, dificulta a contaminação por bactérias e outros patógenos, evita a perda excessiva de água, regula a troca de gases entre o interior dos ovos e o ambiente, e ainda é fonte de nutrientes, principalmente cálcio, para o desenvolvimento do embrião (HUNTON, 2005).

A casca é a embalagem natural do ovo, para isso, deve ser resistente para não sofrer nenhum dano físico, nem mesmo pequenas fissuras, devendo ser forte o suficiente para resistir a postura pela ave, colheita, classificação e transporte, até atingir a incubação. Segundo North (1972), existe fatores que causam a deterioração da qualidade da casca, como: calor ambiente, estresse das aves, doenças, deficiências nutricionais, idade da ave, genética e certas drogas.

Estima-se, que 10 a 15% dos ovos produzidos por poedeiras comerciais sejam perdidos por apresentarem má qualidade de casca (COUTTS et al., 2007). Prejuízos também são percebidos na produção de ovos incubáveis. A casca é um fator de grande influência sobre o desenvolvimento embrionário, sendo que problemas na qualidade externa dos ovos determinam maior perda de peso dos ovos durante a incubação e aumento da mortalidade embrionária, comprometendo assim os índices de eclodibilidade (MACDANIEL et al., 1979). Em ambos os seguimentos da avicultura, além do prejuízo econômico relacionado à má qualidade da casca, o aspecto sanitário é outro fator importante, uma vez que cascas com espessura e resistência adequadas, protegem o ovo de contaminações.

Os métodos mais utilizados para avaliar a qualidade da casca são: a gravidade específica, espessura da casca (deve ser no mínimo de 0,33 mm), peso da casca, a porcentagem da casca em relação ao peso do ovo, a resistência da casca e o peso específico do ovo (ROBERTS, 2004). A gravidade específica indica a qualidade da casca em relação aos demais componentes do ovo e está diretamente relacionada com a espessura da casca (MILES, 1993).

1.3 Qualidade microbiológica do ovo

A maioria dos ovos apresenta pouca ou nenhuma contaminação no momento da postura. Entre os meios prováveis de contaminação estão o contato com as excretas das aves no momento da postura e a contaminação, por penetração do microorganismo, através de rachaduras microscópicas e poros de cascas (CARDOSO et al., 2001). Devido a isso, é muito importante o nível sanitário relacionado tanto ao trato reprodutivo da ave quanto ao ninho (JONES, 1991).

Bactérias e fungos são os principais microorganismos responsáveis pelas alterações físicas ou químicas observadas no ovo após a postura (STRINGHINI et al., 2009). Entre os gêneros bacterianos mais comumente envolvidos na deterioração desse alimento estão *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Enterobacter* e *Flavobacterium* (ARAGON-ALEGRO et al., 2005).

O grupo dos coliformes totais inclui todas as bactérias na forma de bastonetes gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Esta definição é a mesma para o grupo de coliformes fecais, porém, restringindo-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5- 45,5°C (SILVA et al., 1997).

O índice de coliformes totais avalia as condições higiênicas e o de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal e avalia as condições higiênico-sanitárias deficientes, visto presumir-se que a população deste grupo é constituída de uma alta proporção de *E. coli* (SIQUEIRA, 1995). A *Escherichia coli* representa 95% das bactérias que compõem o grupo dos coliformes fecais, sendo a mais conhecida e a mais facilmente identificada. Sua presença é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento e, geralmente, em ovos não apresenta nenhuma característica visível, mas se

multiplica rapidamente por razão da alta concentração de nutrientes e das temperaturas adversas (SOARES e MESA, 2009). As bactérias aeróbias mesófilas são constituídas por espécies de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus* (SIQUEIRA, 1995).

Geralmente admite-se que o ovo de galinha é estéril até o momento da postura (HAYES, 1993), é suscetível a uma rápida contaminação (FRAZIER, 1976) e a penetração de microorganismos é facilitada pela umidade (HAYES, 1993). A gema do ovo é um excelente meio de cultivo para os microorganismos (FRONING et al., 1996) e é infectada, possivelmente, por bactérias que penetram através dos poros da casca, atravessam as membranas, multiplicam-se na clara e alcançam então a gema. Provavelmente essas bactérias são encontradas em matéria fecal (FRAZIER, 1976). A alteração dos ovos deve-se fundamentalmente pelas bactérias gram-negativas (HAYES, 1993) devido a uma enzima anti-grampositiva existente na clara (RIEDEL, 1987).

As enterobactérias têm atividade proteolítica, destruindo algumas estruturas da casca do ovo, o que poderia facilitar a penetração de outras bactérias as quais se multiplicariam no conteúdo interno do ovo, provocando sua deterioração (BEZERRA, 1995).

Assim como a *Salmonella sp*, outros agentes como o *Clostridium sp*, *Escherichia coli*, ou *Mycobacterium* implicam num impacto negativo sobre os produtos avícolas (SOUZA et al., 2002), uma vez que as aves podem representar, quando infectadas, fontes potenciais de toxinfecções alimentares ao homem, através do consumo de qualquer derivado avícola que esteja contaminado.

1.4 Manejo de ovos incubáveis

Na produção avícola tem-se aprimorado os cuidados relacionados ao manejo dos ovos incubáveis, visto que estes são a matéria prima que dá origem aos pintos de um dia, que, futuramente, se tornarão um alimento que chegará a mesa dos consumidores. Bermudez & Brown (2003) concluíram que a consideração mais importante relacionada à sanidade dos ovos é o manejo do lote. Podem-se considerar ovos aptos à incubação aqueles que possuem boa aparência, forma ovóide, boa textura de casca, tamanho e limpeza adequada. Ovos com estas características geralmente vão apresentar alta eclodibilidade (ELGUERA, 1999).

A biologia dos ovos férteis possibilita que todos os recursos nutricionais necessários para o desenvolvimento embrionário estejam presentes no ovo durante a incubação. O ambiente ideal para o desenvolvimento embrionário é o mesmo necessário para a manipulação de microorganismos. Sendo assim, os ovos contaminados disseminarão microorganismos nas incubadoras e nascedouros reduzindo a eclodibilidade e produzindo pintos de baixa qualidade (BRAMWELL, 2000). Segundo Scott e Swetnam (1993), a contaminação dos ovos incubáveis por microorganismos resultou no aumento do número de ovos podres na incubadora, aumento de infecções sistêmicas e, conseqüentemente, aves de pouca qualidade e redução do desempenho zootécnico e viabilidade das aves. Williams (1970) relatou que a flora bacteriana existente na superfície da casca pode infectar e matar os embriões em desenvolvimento antes do nascimento, como também aves recém-nascidas.

Os ovos sempre terão a presença de microorganismos na casca, podendo contaminar-se antes da ovulação ou durante a formação no trato reprodutivo (JONES, 1991; SESTI, 2005). Parte dos microorganismos é aderida à casca quando o ovo passa pela cloaca, por onde passam também as fezes (MAULDIN, 2002). Geralmente são encontrados na casca dos ovos entre 300 e 500 microorganismos no momento da postura, podendo estes penetrar cerca de 30 minutos após a mesma (MAULDIN, 2002; SESTI, 2005). Segundo North (1972), as bactérias existentes na superfície da casca desenvolvem-se rapidamente após a postura dos ovos, sendo encontrados em média de 100 a 300 microorganismos em ovos recém postos, entre 500 e 600, 15 minutos após a postura e entre 4000 e 5000 em uma hora.

1.4.1 Contaminação de ovos incubáveis

A qualidade dos ovos incubáveis é fundamental para obtenção de altos níveis de eclosão. As práticas destinadas à manutenção desta qualidade requerem coletas freqüentes, limpeza e desinfecção adequadas, uma vez que a microbiota bacteriana existente na superfície da casca pode infectar e causar mortalidade de embriões e pintos recém-nascidos. Durante o processo de resfriamento dos ovos, há um fluxo natural de ar da superfície para o interior dos mesmos que carrega contaminantes por meio dos poros da casca (SCOTT e SWETNAM, 1993).

É amplamente aceito que a contaminação bacteriana é um fator que contribui, consideravelmente, para redução de eclosão em incubatórios comerciais e, são muito válidos

os esforços despendidos na tentativa de minimizar tais infecções (BRUCE e DRYSDALE, 1991). A temperatura das aves é de 40,6 a 41,7° C, sendo esta a temperatura dos ovos no momento da ovoposição (NORTH, 1972). Segundo Mauldin (2002), durante o processo de resfriamento, o conteúdo interno dos ovos começa a encolher-se produzindo uma pressão negativa, sendo este o momento mais oportuno para as bactérias da superfície da casca penetrarem para o interior do ovo, citando ainda que a qualidade e a espessura da casca são diretamente relacionadas à possibilidade de penetração bacteriana.

Sauter e Petersen (1974) avaliaram o percentual de penetração por diversos sorovares de *Salmonella* em ovos de: má qualidade de casca (gravidade específica de 1070), qualidade média (1080) e excelente (1090), e concluíram que a penetrabilidade foi superior no grupo em que a casca era de má qualidade, intermediária no grupo que possuía qualidade média e menor no grupo onde a casca possuía excelente qualidade. Bennet (1992) avaliou os percentuais de eclodibilidade e mortalidade embrionária de ovos oriundos de lotes de reprodutoras de diferentes idades com cascas consideradas espessas, as quais possuíam gravidade específica superior a 1080, e finas, com gravidade específica abaixo de 1080. A eclodibilidade foi superior nos ovos com a casca considerada grossa e as mortalidades embrionárias seguiram o mesmo padrão apresentando geralmente valores menores nos ovos com casca mais grossa.

Ovos com mais porosidade tem maior tendência à contaminação do que ovos com menor porosidade; porém, algumas outras variáveis têm papel importante na penetração das bactérias através da casca, dentre elas, a cutícula que preenche os poros evitando a penetração (BRUCE e DRYSDALE, 1991), sendo a espessura da cutícula um fator determinante para que ela exerça a sua função, visto que podem existir pontos de diferentes espessuras na superfície da casca dos ovos que podem facilitar a penetração bacteriana (MAULDIN, 2002).

1.5 Manejo alimentar

Atualmente, a área de manejo de matrizes avícolas tipo corte tem despertado especial interesse quanto ao manejo da alimentação, principalmente àquele realizado na fase de recria. Para que o frango de corte tenha crescimento rápido, precocidade e boa conversão alimentar selecionam-se matrizes com tais características, a partir de intensa seleção genética para rápido crescimento e ganho de massa muscular (RIOS et al., 2006), e estas, se alimentadas à vontade, tendem a um excesso de peso corporal e acúmulo de gordura. Como consequência a

produção de ovos e a fertilidade são prejudicadas (McDANIEL e BRAKE, 1981). Desta forma, é imprescindível o controle do peso corporal das aves, principalmente na fase de recria, para que tenham bom desenvolvimento corporal. Com isto, atingirão a maturidade sexual com idade adequada, tendo boa uniformidade de peso corporal e, conseqüentemente, boa *performance* produtiva e reprodutiva (VIEIRA et al, 1995). A seleção para essas características economicamente importantes, no entanto, têm sido acompanhada por um aumento no consumo voluntário de alimento (RICHARDS et al., 2003). Na alimentação *ad libitum* esse aumento implica em aves mais pesadas e com maior quantidade de gordura abdominal, o que contribui para a maturidade sexual precoce (SAKOMURA et al., 2004). Em aves alimentadas *ad libitum* na fase de recria, foi observado aumento na produção de ovos inférteis e não incubáveis, além de menor permanência do pico de postura (RICHARDS et al., 2003).

No manejo de arraçamento durante o período de crescimento de matrizes avícolas tipo corte, são utilizados métodos de restrição alimentar, os quais classificam-se em qualitativos (restrição de nutrientes), limitantes do tempo de ingestão e quantitativos (limitação quantitativa da ração). Destes, os métodos de restrição qualitativos são pouco utilizados, pois podem resultar em problemas de empenamento e canibalismo, principalmente em dietas que possuam alto teor energético (ZANELLA et al., 2000). Desse modo, a ingestão de alimento não pode ser mais do que 65 a 80% da quantidade de ração que as aves seriam capazes de ingerir, se alimentadas à vontade (BRAKE, 1995).

O fornecimento restrito de ração é estudado por inúmeros autores, principalmente quando se observam as necessidades da ave, sendo que Cave (1981) e Bootwalla et al. (1983) colocam em dúvida se o esquema de alimentação única pela manhã atende à demanda por nutrientes, especialmente no momento da formação da casca do ovo, que normalmente começa a tarde ou a noite. Isso se deve ao fato de que matrizes são incapazes de manter taxas uniformes de cálcio proveniente da dieta no trato digestório (FARMER et al., 1983).

Considerando-se que o processo de formação da casca do ovo tem duração de aproximadamente 20 horas e que, dentro de um período de luminosidade diária normal, 80% das aves realizam a postura antes do meio-dia, conclui-se que a maior parte da deposição de cálcio na casca ocorre à noite (MACARI e MENDES, 2005). Backhouse e Gous (2005) relataram ser possível melhorar a qualidade da casca se os nutrientes forem fornecidos em tempos mais aproximados do período de deposição de casca do ovo, alterando o tempo de consumo alimentar. Cave (1981), trabalhando com matrizes pesadas, constatou que a

alimentação duas ou três vezes ao dia permitiu melhora no peso e na produção de ovos e maior eficiência na utilização do alimento.

Farmer et al. (1983) e Bootwalla et al. (1989) relataram que os diferentes horários de alimentação influenciaram o ciclo de formação do ovo e os níveis de cálcio e fósforo do sangue no momento da calcificação e, que o horário de maior necessidade de cálcio, para a formação da casca do ovo, ocorreu no período noturno. No entanto, Brake (1988) observou que tanto a produção quanto o peso do ovo, não foram influenciados pelo horário da alimentação.

Durante o período que não ocorre a formação da casca, o cálcio ingerido é depositado na região medular do osso, constituindo uma reserva lábil e, durante a noite, quando ocorre maior deposição de cálcio à casca, ele é utilizado. Portanto, o cálcio para a formação de casca chega ao útero por duas vias, uma direta do intestino e outra após passar pelo “armazém” da região medular do osso. Tem sido demonstrado com o uso de cálcio radioativo na dieta de galinhas que a via intestino - útero é mais eficiente do que a via intestino - osso - útero (FARMER et al., 1983). Esse mecanismo explicaria porque o arraçoamento à tarde, melhora a qualidade da casca (MACARI e MENDES, 2005).

1.6 Horários de arraçoamento

A prática de restrição alimentar de aves na indústria pode levar a uma diminuição da produção total de ovos, mesmo admitindo que a alimentação diária é um método de restrição com forte interesse para aves reprodutoras pesadas (SOLTANMORADI et al., 2013). Alguns autores dizem que, mesmo um jejum de curto prazo é responsável pela perda de produção de ovos em aves em jejum, uma vez que a capacidade de reprodução das aves pode ser comprometida (TANABE et al., 1981).

Em um programa de alimentação diário controlado a dieta é rapidamente consumida e a partir desse momento, as galinhas passam por um prolongado período de tempo antes de sua próxima refeição. Além disso, as fêmeas podem não suprir suas necessidades de alimento com a quantidade apropriada devido à alta competição entre elas (SOLTANMORADI et al., 2013). A divisão do total de dieta fornecida diariamente pode garantir que um volume suficiente de alimento seja oferecido às matrizes, diminuindo assim, a concorrência entre elas. No entanto, o efeito da alimentação mais de uma vez por dia, ainda é polêmica (SOLTANMORADI et al.,

2013). Farmer et al. (1983) e Ávila et al. (2003a, b) não encontraram qualquer diferença na produção total de ovos entre matrizes pesadas, alimentadas uma vez ou duas vezes por dia. No entanto, Spradley et al. (2008) constataram que matrizes com 42 semanas de idade, alimentadas duas vezes por dia, produziam mais ovos que aquelas alimentadas uma única vez. Moradi et al. (2013) também observaram que o total de ovos produzidos em matrizes alimentadas duas e três vezes por dia, foi maior do que em um programa de alimentação uma vez por dia. Da mesma forma, o peso do ovo foi maior ($P < 0,01$) nas aves alimentadas mais de uma vez por dia. Estes mesmos autores, não encontraram diferenças no peso de gema nos diferentes horários de alimentação avaliados. O horário de alimentação parece influenciar o desempenho dos lotes de matrizes de frangos de corte, sendo, portanto, de grande importância (BACKHOUSE e GOUS, 2006).

A alteração do período de fornecimento de alimentação (de manhã para a tarde) foi avaliada por vários pesquisadores, como alternativa para melhorar a qualidade da casca dos ovos de matrizes pesadas, mantidas sob condições ambientais ideais (BOOTWALLA et al., 1983; WILSON e KEELING, 1991), sendo que os resultados observados demonstraram efeitos significativos sobre a taxa de produção de ovos (SAMARA et al., 1996). Alguns pesquisadores demonstram que a alimentação a tarde resultou em uma maior taxa de produção de ovos (BOOTWALLA et al, 1983), ao passo que outros não encontraram esse mesmo efeito (WILSON e KEELING, 1991). Brake e Peebles (1986) e Harms (1991) observaram um declínio na produção de ovos, quando o tempo de alimentação foi alterado de manhã para tarde. Wilson e Keeling (1991) propõem que uma mudança no tempo de ovulação, ou um aumento no tempo de trânsito do ovo através da tuba uterina, pode ser responsável pelo atraso na oviposição, observada quando matrizes de frangos foram alimentadas durante a tarde.

Assim como a postura, a qualidade dos ovos pode ser influenciada pelos diferentes horários de alimentação em matrizes, o que é relatado por Ávila et al. (2005), Farmer et al, (1983), Bootwalla et al. (1983), Brake (1985), Brake (1988) e Harms (1991), os quais encontraram maior gravidade específica em ovos de aves alimentadas à tarde.

Considerando-se as médias de peso de ovo e gravidade específica em ovos das aves que receberam arraçoamento duas vezes ao dia, os dados obtidos por Ávila et al. (2005) são similares aos obtidos por Brake (1988), o qual observou que o arraçoamento mais tarde apresentou considerável aumento no peso de ovo com redução na gravidade específica, fato atribuído ao aumento do peso da gema e do albúmen. Spradley et al. (2008) não encontraram diferenças no peso total de ovos, quando avaliaram albúmem e gema.

Backhouse e Gous (2005), sugeriram que o horário de fornecimento de ração para matrizes pode influenciar na espessura da casca dos ovos, sendo que o atraso no arraçoamento predispõe a uma maior quantidade de cálcio disponível no trato das aves, no momento de calcificação da casca. Brake (1988) avaliou diferentes horários de arraçoamento e relatou que, aves alimentadas às 13 h apresentaram aumento na gravidade específica e peso de cascas de ovos em relação às aves alimentadas às 8 hs.

O aumento da mortalidade embrionária e, conseqüentemente, redução na taxa de eclosão, está associada com ovos que possuem gravidade específica menor do que $1,080 \text{ g/cm}^3$ (MCDANIEL et al., 1981; ROQUE e SOARES, 1994). Portanto, adotar um manejo de alimentação tardio tem sido visto como uma forma de melhorar a eclodibilidade, devido à influência positiva que o arraçoamento mais tarde tem sobre a qualidade da casca. No entanto, as melhorias na eclodibilidade nem sempre são obtidas pelo manejo alimentar tardio. Maior peso da casca e gravidade específica dos ovos pode ser associado com aumento do comprimento dos poros e, conseqüentemente, diminuição do número dos mesmos (TULLET, 1978). Este fato pode reduzir a condutância ao vapor de água da casca do ovo para níveis perigosamente baixos, resultando em morte embrionária (PEEBLES e BRAKE, 1985). Brake (1988) relatou que a alimentação de tarde diminuiu a eclodibilidade dos ovos em matrizes de corte quando comparado com alimentação matinal. Porém, a eclodibilidade e mortalidade embrionária inicial não foram afetadas pelo tempo de alimentação em estudos realizados por Bootwalla et al. (1983) e Farmer et al. (1983), respectivamente.

1.7 Metabolismo de cálcio (Ca) e fósforo (P) na matriz de corte

O cálcio e o fósforo têm importância fundamental na manutenção de um sistema esquelético saudável e na formação da casca do ovo. A casca do ovo é completamente impregnada com carbonato de cálcio (CaCO_3) e, a necessidade de cerca de 2 g de cálcio para cada ovo produzido domina o metabolismo de cálcio na ave (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Segundo Sesti (2003), o ovo pode permanecer na glândula da casca (útero) de 18 a 22 horas, onde recebe a cobertura de carbonato de cálcio, proteínas, pigmentos, cutícula e outros componentes da casca. Durante o período de 6 a 12 horas após o início do ciclo de postura, cerca de 400 mg de cálcio são depositadas na casca, enquanto o período mais ativo ocorre

durante as 12 a 18 horas, onde ocorre cerca de 800 mg de deposição de cálcio. No período seguinte aproximadamente 500 mg de cálcio são acumuladas, totalizando 1,7 g de cálcio na casca, dependendo é claro do tamanho do ovo. Dessa forma, a maior parte da calcificação da casca do ovo ocorre no período noturno, quando as aves não estão se alimentando. Conseqüentemente, uma porção do cálcio utilizada para a calcificação da casca é derivada dos ossos. Como os ossos são compostos de fosfato de cálcio, existe uma concomitante liberação de fósforo durante a mobilização de cálcio dos ossos (LEESON e SUMMER, 2001).

Na produção do ovo ocorre uma perda especialmente grande de cálcio. Aproximadamente 30% a 40% da casca do ovo é formada de Ca de origem óssea (BERTECHINI, 2006). A perda por essas vias é repostada pela dieta e reabsorção do mineral estocado no osso. As paratireóides monitoram a concentração do Ca sanguíneo na artéria carótida e secretam o hormônio paratireóideo PTH (paratormônio). Quando ocorre diminuição na concentração, o PTH imediatamente aumenta os mecanismos de reabsorção do Ca renal. Quando as perdas de Ca são maiores, o PTH estimula os processos, para aumentar a absorção intestinal e a reabsorção do estoque ósseo (MACARI e MENDES, 2005; REECE, 2006).

As aves possuem um par assimétrico de glândulas ultimobranquiais, localizadas posteriormente às paratireóides. Essas glândulas são ricas em calcitonina, sendo sua secreção regulada primariamente pelo aumento dos níveis de Ca no plasma (MACARI e MENDES, 2005).

O Ca é absorvido em dois pontos diferentes: pela membrana dos enterócitos com auxílio da vitamina D e uma proteína transportadora (calbindina) e pelo espaço intercelular do epitélio intestinal com auxílio do paratormônio (PTH). Os sais biliares, a vitamina D3, a lactose e as proteínas facilitam a absorção de Ca, enquanto os fosfatos e oxalatos dificultam esse processo (MACARI e MENDES, 2005).

A casca do ovo contém pequena quantidade de P, que não está homogeneamente distribuída, pois se encontra mais concentrada nas camadas externas, já que o P é depositado no período final de formação do ovo (MACARI e MENDES, 2005).

O fósforo desempenha significativo papel na formação da casca do ovo. A casca contém pouco fósforo (relação Ca:P na casca é aproximadamente 100:1), mas esse elemento interage com o cálcio durante a formação dos ossos. O cálcio é armazenado nos ossos como fosfato de cálcio e a síntese da medula óssea exige fósforo dietético (AHMAD e BALANDER, 2003). Assim, a exigência de fósforo das aves está associada com a exigência de cálcio, e a dinâmica da medula óssea. Um pico na concentração plasmática de fósforo ocorre à noite quando a atividade na medula óssea é alta. Como a maioria do fósforo liberado

é excretada na urina, as aves necessitam de fósforo extra para recompor os ossos no momento em que não está ocorrendo calcificação da casca (LEESON e SUMMER, 2001).

O fornecimento de cálcio necessário para a formação da casca é influenciado de duas formas pela estroindogênese ovariana na galinha. Inicialmente, estrogênios e androgênios estimulam osteoblastos a depositar Ca no osso medular e depois os níveis de Ca no plasma aumentam de 100 para 250 mg/ml devido ao aumento de estrogênio no início da maturidade sexual. Grande parte deste aumento nos níveis circulatórios de Ca, entretanto, está ligada a precursores na gema, uma vez que eles são transportados a partir do fígado. A exigência de Ca pela matriz é muito elevada, particularmente durante o período ativo de formação da casca. O cálcio utilizado para a formação da casca é oriundo diretamente do duodeno e jejuno e indiretamente do osso medular, através de um processo de reabsorção óssea. A proporção de Ca derivada destas duas fontes varia conforme o período do dia. Durante a noite, quando fontes dietéticas de Ca não estão disponíveis, a ave mobiliza Ca dos ossos, enquanto que durante o dia, a maior parte do Ca é oriundo da dieta. É importante registrar que quanto maior a contribuição do Ca do esqueleto para a formação da casca do ovo, pior é a qualidade da casca (FARMER et al., 1983).

A resistência óssea é dependente dos níveis de cálcio plasmáticos, pois, a homeostase de Ca é fundamental para a manutenção das funções vitais em que participa. Caso não se tenha níveis adequados de Ca, ocorrerá estímulo da secreção de PTH e síntese de vitamina D, que estimularão a reabsorção óssea (RATH et al., 2000). O P juntamente com o Ca forma a hidroxiapatita, que é o principal componente da matriz inorgânica do osso. Também participa das funções celulares como componentes de fosfolipídeos da membrana celular, dos ácidos nucléicos, do transporte de energia e da regulação da atividade de varias enzimas (HENRY, 1995). A absorção do P ocorre no intestino delgado, principalmente no duodeno. Seus níveis sanguíneos, assim como os do Ca, são controlados pelo PTH, vitamina D e calcitonina e a relação Ca e P da dieta parecem ter influência na absorção deste mineral (MACARI et al., 2002).

2 HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 Hipótese

O estudo de manejos de arraçoamento de matrizes de corte, sendo feito em dois horários (dual: 50% às 8h e 50% às 15h) ou em horário tardio (único arraçoamento às 15hs), possibilitará a elaboração de um protocolo diferenciado do utilizado pelas empresas avícolas (com arraçoamento único pela manhã), podendo ser encontrado maior índice produtivo, melhor qualidade de ovos e cascas, menor contaminação microbiana dos mesmos, assim como mudanças nos níveis de Ca e P plasmáticos e, conseqüentemente, melhores parâmetros ósseos.

2.2 Objetivos

2.2.1 Geral

O estudo teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes horários de arraçoamento sobre o desempenho e qualidade de ovos de Matrizes de Corte da Linhagem Cobb 500.

2.2.2 Específicos

- Avaliar o efeito dos diferentes horários de arraçoamento sobre o desempenho das aves;
- Avaliar a qualidade de ovos das aves alimentadas em horários diferenciados;
- Analisar os parâmetros de incubação das matrizes;

- Mensurar o grau de contaminação sobre as cascas dos ovos em diferentes semanas durante o período experimental;
- Avaliar parâmetros sanguíneos de cálcio e fósforo e parâmetros ósseos em matrizes alimentadas em diferentes horários;

CAPÍTULO II

EFFECT OF DIFFERENT FEEDING SCHEDULES ON REPRODUCTIVE PARAMETERS AND EGG QUALITY OF BROILER BREEDERS

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação no Periódico **Animal Feed Science and Technology**.

Effect of different feeding schedules on reproductive parameters and egg quality of broiler breeders

A. Londero^{a,*}, A. P. Rosa^a, C. B. Santos^a, C. E. B. Vivas^a, C. Orso^a, H. M. de Freitas^a, V.C. Vargas^b, L. T. Gressler^b,

^a *Poultry Science Laboratory, Department of Animal Sciences, Federal University of Santa Maria, Brazil;*

^b *Bacteriology Laboratory, Department of Preventive Medicine, Federal University of Santa Maria, Brazil*

Abbreviations: TAMC (total aerobic mesophilic count), PCA (Plate Count Agar), TC (total counts), TTC (indicator tetrazolina)

*Corresponding author. Tel.: 55 55 32208269; Fax: 55 32208269

E-mail address: vetelondero@hotmail.com

ABSTRACT. This experiment was carried out to evaluate the effects of three feeding schedules on egg production and egg quality of broiler breeders. The feeding schedules were: a single feeding at 08:00 am; twice daily feeding (50% at 08:00 am and 50% at 3:00 pm) and single feeding at 3:00 pm. The total, 546 females and 63 males Cobb 500 broiler breeders were used from 28 to 40 weeks of age. The experimental design was completely randomized, with 3 treatments of 7 repetitions with 26 females and 3 males. The nutritional requirements and management were according to the recommendations of the guideline. The following parameters were assessed weekly: total egg production, hatchable eggs, egg specific gravity, weight of egg shell, yolk, and albumen, as well as eggshell thickness. To measure the egg shell contamination was evaluated the aerobic mesophilic bacteria and total coliforms at 28, 32 and 36 week of age. Twenty three incubations were performed to evaluate fertility and incubation parameters. Laying rate was determined by 6 daily collections over the experimental period. Broiler breeders fed once in the afternoon had lower egg production than others feeding schedules. Hens fed once the afternoon had higher specific gravity ($P=0.0063$), shell weight ($P=0.0009$) and eggshell thickness ($P=0.0001$) than others. Similarly, hens fed once in the afternoon had more egg ($P=0.0022$) and yolk weight ($P=0.0314$) than hens fed in the morning. On the other hand, hens fed in the morning had the lowest embryonic mortality and increased hatchability of fertile egg. Broiler breeders fed at the late period of day had better parameters on eggs quality, no change on bacterial contamination than the others feeding schedules, however, it had the worst results in the embryonic mortality and hatchability of eggs.

Keywords: egg production, egg quality, bacterial contamination, eggshell

1. Introduction

An eggshell at the time of the oviposition should be essentially free from microbial contamination. However, this condition is quickly changed once the exterior of the egg comes in contact with the nesting material, where the egg is deposited. One of the first exposures of bacteria to eggs occurs throughout the cloaca. As a result, eggs are potentially contaminated by several surface which, they come into contact. Several factors can affect the extent of trans-shell contamination that occurs (Board and Tranter, 1995) as dust, soil and feces are some sources of contaminating microorganisms. The shell thickness has a significant effect on the bacteria ability to pass across the shell (Solomon, 1991) this ability has been demonstrated as positive correlation of bacterial penetration and poor shell quality (Haines and Moran, 1940). Particularly, the cracked eggshells are invaded more often by different numbers of bacteria, therefore including pathogenic microorganisms (Ricke et al., 2001).

It is widely accepted that bacterial contamination is a factor associated with infections that contributes significantly on the reduction outbreaks in commercial hatcheries, thus, exist valid efforts trying to minimize them (Bruce and Drysdale, 1991).

Broiler breeders usually have a limited food daily in the morning (Backhouse and Gous, 2005) this practice does not supply nutrients that the hens need, particularly to the shell formation (Bootwalla et al., 1983), which it normally begins in the afternoon or evening. Farmer et al. (1983a) reported that broiler breeder hens do not maintain an equal release of calcium from the crop to the lower digestive tract. It is possible to improve the eggshell quality if the nutrients are supplied at the close time that occur the shell deposition through the changes of the feed intake time. In the same way, splitting the single feed allocation in more frequents feeding periods throughout the day (split feeding), the feed maybe utilized more efficiently to enhance the performance of breeders (Taylor-Pickard and Noollet, 2006).

Bootwalla et al. (1983), Farmer et al. (1983b), Brake (1988) and Harms (1991) reported increases in egg specific gravity when the broiler breeders were fed in the end of day. The greatest effect of afternoon feeding on shell quality manifested as an increase in egg specific gravity, shell weight and shell thickness (Taylor-Pickard and Noollet, 2006).

Therefore, the objective of this study was evaluate the change in feeding schedules of hens in relation to the bacterial contamination of eggs, as well as the influence of different treatments on egg production, shell quality and incubation parameters of eggs.

2. Materials and methods

The present study was carried out in the Poultry Science Laboratory-LAVIC at the Federal University of Santa Maria (UFSM). This study was based on compliance with the Welfare Standards and was approved by the Ethics Committee of UFSM. 546 broiler breeder hens and 63 roosters (22 week-old) were acquired from a commercial poultry company to be used in the trial. They were placed in an open-sided house with a wood shaving floor. The broiler breeders were reared following the Cobb 500 broiler breeder guidelines. The selected hens were placed in 21 pens, each pen had 4.61 m² (3.24 x 1.42 m) and, each pen was equipped with an automatic drinker, one tube feeders to females, and a trough-type feeder to the roosters. Hens were fed corn-soybean-based mash diets (Table 1). The supply of the feed was strictly controlled, in accordance to the recommendations of the breeder company. Water was *ad libitum*, and a photoperiod of 13 hours light/day was used during the first week (22 wks), gradually it was increasing (15 minutes every 15 days) they received 16 hours and 45 minutes of light/day at 40 wks until at the end of experiment.

2.1 Treatments

At 25 week, the hens were distributed in 3 experimental groups with similar body weight (3,151 g) and uniformity (90%). Twenty-six hens and 3 males were allocated per pen. From 22 to 26 weeks of age, hens were fed at 8:00 am in order to standardize feeding. From 26th to 27th week of age, hens were fed in diferentes schedules (pre-experiment period). From 28th to 40th week of age, the three groups were fed at different schedules and the performance was evaluated. Three feeding schedules were tested: a single feeding at 8:00 am; twice daily feeding (50% at 8:00 am and 50% at 3:00 pm) and a single feeding at 3:00 pm. Each treatment had 7 repetitions allocated in a completely randomized design.

2.2. Experimental responses measured

Eggs were collected and recorded 6 times per day. The egg production by hen housed were calculated weekly. Egg weight, yolk weight, albumen weight, eggshell weight and eggshell thickness were determinates in a specify day of each experimental week using 21 eggs/treatment (7 replicates of 3 eggs each one). Egg weight, yolk weight and albumen weight were determinated through a precision scale (0.001 g). The egg specify gravity was determined throughout the immersion of the eggs in saline solutions with densities of 1070; 1075; 1080; 1085; 1090; 1095 and 1100 g/cm³ using Archimede's principle as described by Peebles and McDaniel (2004). The eggshell was weighed after being dried in ambient temperature by 3 days (Rodriguez-Navarro et al., 2002). Shell thickness was measured with the Electronic Outside Micrometer 0.001mm at three equatorial points on each egg (Lin et al., 2004).

2.3. Bacteriological analysis on eggshells

To evaluate the bacterial contamination of egg shells, the shells were analyzed from different schedules of the eggs collection in a specific day at the following weeks of bird age 28th, 32nd and 36th. In the bacteriological analysis weekly, the total shaves the wood litter of all experimental pen were changed to reduce contamination. On the day of the analysis, the wood shave of the nests were replaced by new shaves. To collect eggs it was used a disposable glove during the procedure. For determination of contamination was done a pool with gauze soaked in 0.1% peptone water on the shell of 8 eggs per replicate (total 56 eggs per treatment). The gauzes were placed in a sterile tube containing 10ml of 0.1% peptone water, and after homogenization withdrew, 1ml for dilutions in saline peptone 0.1%. For plating mesophile it was used the 10⁻³ dilution, and coliform count 10⁻². From these dilutions, 1ml was plated in dehydrated culture medium, kit Compact Dry (Verus Madasa®). For total aerobic mesophilic count (TAMC) it was used Compact Dry TC (total counts) containing a culture medium for counting similar to Plate Count Agar (PCA) or standard nutrient agar. The colonies growing in the Compact Dry TC are red due to the redox indicator tetrazolina (TTC). For mesophile counts were used plates containing the chromogenic enzyme substrate magenta-gal indicator of the production of beta-galactosidase (total coliforms - red colonies). The plates were incubated aerobically at 35°C. The colony count of mesophilic bacteria was performed after 24 hours of incubation and coliform count after 48 hours, as manufacturer guidelines. The mesophile tests count were performed in duplicate. The samples were processed and analyzed at the Bacteriology Laboratory (Labac) - UFSM. The complete process of analysis was performed as described in the microbiological methods of MAPA Normative Instruction 62 (2003) of Brazil.

2.4. Incubation parameters

Fertility, hatchability of fertile eggs, hatchability of total eggs set and healthy chicks were recorded in 13 weekly incubations throughout the experiment. Eggs were collected 6 times daily and classified by pen for hatching process. Only clean and without visible abnormalities eggs were considered suitable for incubation. Eggs were disinfected prior to incubation with a mixture of formaldehyde and permanganate. They were stored in a period of 7 days in a room with controlled temperature (18-20°C and 75-80% Relative Humidity). The incubation was carried out in a commercial multi-stage incubator (Casp, Amparo, SP, Brazil) at 37.5°C and 60% Relative Humidity. At 18 day, the eggs were transferred to the hatcher with 36.5°C and 65% Relative Humidity. At 21 day, chicks were taken out of hatcher, weighed and classified into first and second-quality. Chicks were considered of the second quality when they possessed bad umbilical scarring, beak abnormalities, leg weakness or excessively wet downy feathers, therefore, the chicks without these characteristics were considered as the first quality. The hatching rate was determined in relation to the total incubated eggs. To evaluate the hatching rate of fertile eggs, fertility and embryonic mortality, the nonhatched eggs were submitted to embryo diagnostics.

2.5. Experimental design and statistical analysis

The bacterial counts were log-transformed prior to statistical analysis (Jarvis, 1989). The experimental design was completely randomized, with three treatments (a single feeding at 8:00 am; twice daily feeding (50% at 8:00 am and 50% at 3:00 pm) and single feeding at 3:00 pm) and 7 repetitions each. All the data were subject to Analysis of Variance. When it was observed significant differences at 5% in the variance average it was applied Tukey test

for comparison among treatments. Statistical procedures were performed by using the SAS software (2013).

3. Results

3.1. Parameters of eggs

Broiler breeders fed at 3:00 pm showed lower egg production in total period than the others schedules ($P=0.0002$) (Table 2) and when it was evaluated weekly, hens fed only later demonstrated lower egg production in the most weeks evaluated than others (Figure 1). The egg specific gravity ($P=0.0016$), eggshell weight ($P=0.0009$) and eggshell thickness ($P=0.0001$) were significantly higher in hens fed with the diet at the time later than the broilers breeder fed in the morning once or twice a day (Table 3). Broiler breeder fed at 3:00 pm showed better egg weight ($P=0.0022$) and yolk weight ($P=0.0314$) than hens fed at 8:00 am (Table 3). Albumen weight ($P=0.3118$) was not affected by feeding schedules. The feeding schedules not affected the bacterial contamination by mesophilic aerobic and coliforms on eggshells (Table 4).

3.2. Incubation parameters

Hatchability ($P=0.0909$), fertility ($P=0.4902$), eggs contaminated ($P=0.1397$) and eggs pipped ($P=0.3716$) were not affected by feeding schedules. Hatchability of Fertile ($P=0.0267$) shown to be higher in hens fed once daily in the morning than broiler breeders fed twice daily. The Embryonic Mortality ($P=0.0148$) was significantly lower in eggs of hens fed only in the morning than others (Table 5).

4. Discussion

4.1. Parameters of eggs

The egg production is shown in Table 2. In the total period (28 to 40 wks of age), the egg production the hens fed at 8:00 am or fed 8 am and 3 pm had better egg production performance than hens fed at 3:00 pm ($P \leq 0.05$). Soltanmoradi et al. (2013) reported that hens fed two times a day (earlier in the morning and at 12 o'clock) had better egg production compared with those fed once. Those studies suggest that allocation of restricted feed 2 times a day improve reproductive performance in broiler breeder hens (Ávila et al., 2003; Spradley et al., 2008; Taherkhani et al., 2010; Moradi et al., 2013). The egg production results were reported by Harms (1991) which changed the time of feeding broiler breeder hens from 8 am to 4 pm verifying a significant reduction on the egg production. Moreover, the results of this study were different from the results reported by Cave (1981), Bootwalla et al. (1983) and Samara et al. (1996), who reported that different schedules feeding had no effect on the egg production. However, Backhouse and Gous (2005) evaluated different feeding schedules for broiler breeders: 07:30 am, 09:30 am, 11:30 am, 1:30 pm, 3:30 pm and also one treatment in which hens were given half the daily feed allocation at 07:30 am and half at 3:30 pm (half-feeding) and it was observed that feeding time had no significant effect on total egg production from 26 to 32 weeks of age.

The provision of a limited daily allowance of feed in the morning may not supply the nutrients to coincide with the broiler breeder hen's need (Cave, 1981). This is particularly important with calcium (Ca), because it is an essential component of eggshells formation. It normally begins in the afternoon or evening, and the utilization of Ca dietary in morning-fed broiler breeders is poor due to the inability of these hens to maintain Ca from the crop to the

lower digestive tract at uniform rate (Farmer et al., 1983a). Feeding broiler breeders later in the day supplies dietary Ca at times that correspond more closely to periods of shell deposition (Farmer et al., 1983a), resulting in better Ca utilization (Farmer et al., 1983b; Roland and Farmer, 1984), which is usually manifested as an increase in egg specific gravity, shell weight and shell thickness (Backhouse and Gous, 2006). In this study the highest specific gravity was observed in hens fed in the afternoon (Table 3), but to Farmer et al. (1983b) reported that hens fed at 4 pm had significantly better eggshell quality (egg specific gravity) than hens fed at 5:30 am. Nevertheless, Bootwalla et al. (1983) also found that broiler breeder hens fed at 4 pm had better eggshell quality than hens fed at 8 am. The experiments performed by Brake (1985), Wilson and Keeling (1991), Samara et al. (1996) and Spradley et al. (2008) showed no effect of feeding time on the eggshell quality. Backhouse and Gous (2005) showed that split feeding could improve the shell quality.

Broiler breeder fed at 3:00 pm showed better egg weight than hens fed at 8:00 am (Table 3). Moradi et al. (2013) reported that hens fed twice a day laid heavier eggs throughout the experimental period in comparison with hens fed once a day. Spradley et al. (2008) compared hens for the once-a-day feeding treatment received all their feed at 6:30 am, whereas the birds for the twice-a-day feeding treatment received 60% of their total daily feed allotment at 06:30 am and 40% at 3:00 pm, and they concluded that the average egg weight, for the entire production period, was better in hens fed twice a day than once-a-day. Thus, Cave (1981) described that egg weight was better for hens fed two or three times per day than hens fed once a day. Moreover, Samara et al. (1996) and Harms (1991) report that egg weight was not affected by feeding time. In this study, the albumen weight was not affected by different feeding schedules. Nevertheless, yolk weight was higher in hens fed in the later period than those fed once time in the morning (Table 3). Spradley et al. (2008) showed not

differ in their percentage of total egg weight for albumen and yolk. Moradi et al. (2013) observed that yolk weight were not different among feeding regimens.

This study demonstrated that the thickness and weight of eggshells were significantly higher in hens fed with the diet at the time later than the broilers breeder fed in the morning once or twice a day. Backhouse and Gous (2005) suggested that the time of feeding in broiler breeders might influence on the shell thickness, because it changes the amount of readily available calcium in the digestive tract during the shell calcification. Delaying feeding improves the shell quality (Backhouse and Gous, 2005). The results found in this study are in agreement with Brake (1988) observed that feeding at 1:00 pm in comparison to hens fed at 8:00 am, a significantly increase in the egg specific gravity and egg shell weight.

The avian egg is sterile generally at the moment of posture (Hayes, 1993), which it is susceptible to fast contamination (Frazier, 1976) and microorganisms penetration, facilitated by humidity (Hayes, 1993). The egg yolk is an excellent culture medium for microorganisms (Froning et al., 1996) possibly the infection by bacteria, which it penetrate pass across the shell pores, after in the membranes, multiply in the albumen and reach the egg yolk. Probably, these bacterias are found in fecal matter (Frazier, 1976). The change of eggs is mainly by gram-negative bacteria (Hayes, 1993) and by anti-gram-positive enzyme in the albumen (Riedel, 1987). Bacteria and fungi are the major organisms responsible by physical or chemical changes observed in the egg after oviposition (Stringhini et al., 2009), being that Miyamoto et al. (1998) reported a predominated of Bacteroidaceae, *Lactobacillus* and *Escherichia coli* in the microbiota of the cloaca and oviduct in hens.

Avila (2005) reported that the hens fed at 6:30 am or in part at 6:30 am (dual) had the highest percentage of egg production collected at 9:00 am and those fed at 3:30 pm had the highest percentage of egg production collected at 01:30 pm, showing that percentage of egg production of the other treatments were displaced to the collected later influenced by the

schedules feeding. In conclusion the authors reported that the feeding schedule influenced in the egg production of hens. Gauthier (2002) reports that the average staying time of the feed in the intestinal tract of hens is 4 hours, due to the amount of excreta it coincides with the greatest moment of egg laying of hens fed in the morning. When this study was proposed, there was the expectation that bacterial contamination in the eggshell in hens fed later would be decreased due to the excretion of feces differ of the time of highest egg production, but this effect was not observed (Table 4).

4.2. Incubation parameters

Evaluating the total period of this experiment, hatchability and fertility did not differ among feeding schedules evaluated (Table 5). The hatchability of fertile eggs was higher in hens fed once in the morning than hens fed only once in the afternoon. Spradley et al. (2008) also concluded that the fertility, hatchability and hatchability of fertile of eggs produced by hens fed either once a day or twice a day were not significantly different in these parameters and also found no differences in embryo mortality and the number of pipped eggs. The results obtained to Soltanmoradi et al. (2013) for fertility and hatchability of broiler breeders at the age of 38th week showed that more than once feeding per day had a significant effect in fertility and hatchability ($p < 0.05$). Twice feeding per day had higher percentage of fertility and hatchability in comparison with hens fed once.

In this study, the egg contaminated and the egg pipped did not differ among the feeding schedules evaluated. On the other hand, embryonic mortality in the total period of the experiment was significantly higher in hens fed twice a day or birds fed in the afternoon than hens fed in the morning once. Brake (1988) concluded that the results showed in the afternoon feeding provides calcium intake near the time of egg shell calcification, furthermore

decreased egg shell porosity associated with embryonic mortality in broilers (Peebles and Brake, 1985).

McDaniel et al. (1981) and Roque and Soares (1994), reported that eggs with specific gravities less than 1.080 g/m³ had poor hatch and increased embryo mortality. Therefore, employing a later feeding schedule is often observed as an opportunity to improve the hatchability, due to the positive influence in the shell quality. However, the increases of shell weight and egg specific gravity is associated with increased pore length and decreased pore number (Tullet, 1978), which it may reduce water vapour conductance of the eggshell to critically low levels, it resulting in embryonic death (Peebles and Brake, 1985). Brake (1988) reported that afternoon feeding decreased hatchability in eggs from two slow-feathering broiler breeder strains when compared to morning feeding. Hatchability and early embryonic mortality were no affected by feeding time in studies performed by Bootwalla et al. (1983) and Farmer et al. (1983b), respectively.

5. Conclusions

In conclusion in the present study, the feeding schedule at 3:00 pm reduced egg production. Hens fed at 8:00 am presented better hatchability of fertile eggs and less embryonic mortality. Hens fed at 3:00 pm had better egg specific gravity, egg weigh, yolk, eggshell and eggshell thickness. The different feeding schedules did not contribute in reducing bacterial contamination.

References

- Avila, V. S., Penz, A. M.; Brum, P. A. R., Guidoni, A. L.; Rosa, P. S., Coldebella, A. 2005. Produção e qualidade de ovos em reprodutoras de frangos de corte com horário de arraçoamento diferenciado. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34 (4), 1202-1209.
- Avila, V. S., Penz Jr., A. M., De Brum, P. A. R., Rosa, P. S., Guidoni, A. L. and De Figueiredo, É. A. P. 2003. Performance of female broiler breeders submitted to different feeding schedules. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 5, 197-201
- Backhouse, D., Gous R. M. 2005. The effect of feeding time on shell quality and oviposition time in broiler breeders. *British Poultry Science*. 46 (2), 255–259
- Backhouse, D. and Gous, R. M. 2006. Responses of adult broiler breeders to feeding time. *World's Poultry Science Journal*. 62, 269-281
- Bootwalla, S. M., Wilson, H. R. and Harms, R. H. 1983. Performance of broiler breeders on different feeding systems. *Poultry Science*. 62, 2321-2325
- Board, R. G. and H. S. Tranter. 1995. The Microbiology of Eggs. Pages 81-103 in *Egg Science and Technology*, 4th ed., W. J. Stadelman and O. J. Cotterill (eds.), Food Products Press, NY.
- Brake, J. 1988. Relationship of time of feeding and strain to egg shell quality and hatchability in broiler breeders. *Poultry Science*. 67, 538-543.

- Brake, J. 1985. Relationship of egg weight, specific gravity, and shell weight to time of oviposition and feeding in broiler breeders. *Poultry Science*. 64, 2037-2040.
- Bruce, J. and Drysdale, E. M. 1991. Egg hygiene: route of infection. In: *Avian incubation* (Tullett SG, ed). Northampton: Butterworth Heinemann; 257-276
- Cave, N. A. 1981. Effect of diurnal programs of nutrient intake on the performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 60, 1287-1292
- Farmer, M., Roland, D.A., SR, Brake, J. & Eckman, M.K. 1983a. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 1. Calcium status of the digestive tract of broiler breeders throughout a 24 hour period. *Poultry Science*. 62, 459-464
- Farmer, M., Roland, D. A., Sr. and Eckman, M. K. 1983b. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 2. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and egg shell quality in broiler breeders. *Poultry Science*. 62, 465-471
- Frazier, N. C. *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1976. 512p
- Froning, G., Izat, A., Riley, G., Magwire, H. 1996. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods: Eggs and egg products*. 3.ed. Washington: American Public Health Association, p.857-873.
- Gauthier, R. *La Salud Intestinal: Clave de la productividad (El caso de los Ácidos Orgánicos)*. In: *Precongreso Científico Avícola IASA, XXVII Convención ANECAWPDC*. Puerto

Vallarta, Jal. México, 2002. Anais eletrônicos... [online] Accessed in: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/salud-intestinal-clave-productividad-t518/p0.htm>. Accessed: August 8, 2013.

Haines, R. B. and T. Moran. 1940. Porosity of, and bacterial invasion through, the shell of the hen's egg. *J. Hygiene*. 40 (4), 453-561.

Harms, R. H. 1991. The influence of changing time of feeding on performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 70, 1695-1698.

Hayes, P. R. 1993. Microbiología e higiene de los alimentos: El huevo de gallina y su alteración. Zaragoza: Acribia, p.102-103.

Jarvis, B. 1989. Statistical aspects of the microbiological analysis of foods. In: B. Jarvis (Ed.), *Progress in industrial microbiology*, v.21. Elsevier, Amsterdam.

Lin, H., Mertens, K. B., Govaerts T., De Ketelaere, B., De Baerdemaeker, J., Decuypere, E., Buyse, J. 2004. New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality: mechanical and material properties of eggshell and membrane. *British Poultry Science*. 45 (4), 476-482.

MAPA Normative Instruction No. 62 of August 26, 2003. Official Analytical Methods for Microbiological Analysis for Control of Animal Products and Water, Ministry of Agriculture, Livestock and Supply

- McDaniel, G. R., Brake, J. Factors affecting broiler breeder performance, 1981.1. Relationship of daily feed intake level to reproductive performance of pullets. *Poultry Science*. 60, 307-312.
- Moradi, S., Zaghari, M., Shivazad, M., Osfoori, R., Mardi, M. 2013. The effect of increasing feeding frequency on performance, plasma hormones and metabolites, and hepatic lipid metabolism of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 92 (5), 1227-1237.
- Myiamoto, T., Horie, T., Fukata, T., Sasai, K., Baba, E. 1998. Changes in microflora of the cloaca and oviduct of hens after intracloacal or intravaginal inoculation with salmonella enteritidis. *Avian Diseases*. 42 (3), 536-544
- Peebles, E. D. and C. D. McDaniel. 2004. A practical manual for understanding the shell structure of broiler hatching eggs and measurements of their quality. *Mississippi Agric. Forest. Exp. Stn. Bull.* 1139. Mississippi State Univ., Mississippi State.
- Peebles, E. D. and Brake, J. 1985. Relationship of eggshell porosity to stage of embryonic development in broiler breeders. *Poultry Science*. 64, 2388-2391.
- Riedel, G. *Controle sanitário dos alimentos*. São Paulo: Loyola, 1987. p. 445
- Ricke, S. C., Birkhold, S. G. and Gast, R. K. 2001. Eggs and egg products, p. 473-479. In F. P. Downes and K. Ito (ed.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4th ed. American Public Health Assoc. Washington, D.C.

- Rodriguez-Navarro, A., Kalin, O., Nys, Y., Garcia-Ruiz, J. M. 2002. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. *British Poultry Science*.43(3), 395-403.
- Roland, D. A. and Farmer, M. 1984. Egg shell quality II: Importance of time of calcium intake with emphasis on broiler breeders. *World's Poultry Science Journal*.40, 255 - 260.
- Roque, L. e Soares, M. C. 1994. Effects of eggshell quality and broiler breeder age on hatchability.*Poultry Science*.73,1838-1845.
- Samara, M. H., Robbins, K. R. and Smith, M. O. 1996. Interaction of feeding time and temperature and their relationship to performance of the broiler breeder hen. *Poultry Science*.75, 34-41.
- SAS - Institute. 2013. *SAS User's Guide: Statistics. Version 9.2 Review Edition*. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Solomon, S. E. 1991. *Egg and Eggshell Quality*, Wolfe Publishing Ltd., London, England.
- Soltanmoradi, M. G., Seidavi, A., Dadashbeiki, M., Delgado, F., Gamboa, S. 2013. Effect of time, amount and frequency of feeding on total egg production, fertility and hatchability in broiler breeders. *Archiv Tierzucht: Archives Animal Breeding*. 56, 102.

- Spradley, J. M., Freeman, M. E., Wilson, J. L. and Davis, A. J. 2008. The Influence of a Twice-a-Day Feeding Regimen After Photostimulation on the Reproductive Performance of Broiler Breeder Hens. *Poultry Science* .87, 561–568.
- Stringhini, M. L. F., Andrade, M. A., Mesquita, A. J., Rocha, T. M., Rezende, P. M., Leandro, N. S. M. 2009. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. *Ciência Animal Brasileira, Goiânia*. 10 (4), p.1317-1327.
- Taherkhani, R., Zaghari, M., Shivazad, M., Zare Shahneh, A. 2010. A twice-a-day feeding regimen optimizes performance in broiler breeder hens. *Poultry Science*. 89 (8), 1692-1702.
- Taylor-Pickard, J. A., Noollet, L. (Ed). *Nutricional approaches to arresting the decline in fertility of pigs and poultry: proceedings*. Wageningen: Wageningen Academic Publish, 2006. 196 p. (Alltech's technical seminar series).
- Tullet, S. G. (1978) Pore size versus pore number in avian eggshells. In: Piiper, J. (ed.) *Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic*, pp. 219-226. Berlin, Springer-Verlag, 1978.
- Wilson, H. R. and Keeling, L .J. 1991. Effect of time of feeding on oviposition time and production parameters in broiler breeders. *Poultry Science*. 70(2), 254-259.

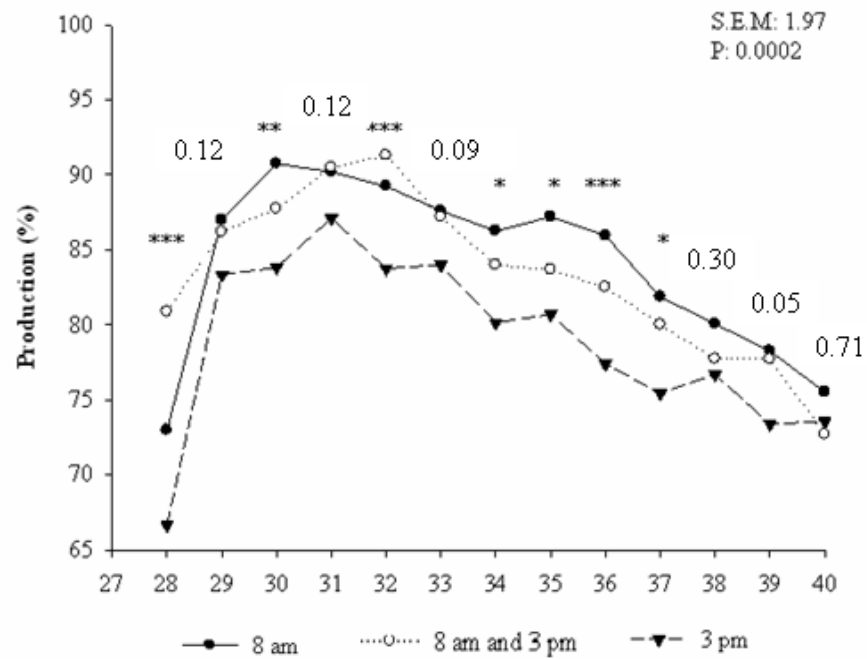


Figure 1 - Egg production of broiler breeders submitted to different feeding schedules from 28 to 40 weeks of age.
 $*P \leq 0.05$; $**P \leq 0.01$; $***P \leq 0.001$. The y-axis value does not start in the origin.

Table 1. Composition of the diet and nutritional levels used

Ingredients	(%)
Corn	69.05
Soybean meal 46%	21.22
Soybean oil	0.21
Dicalcium Phosphate	1.60
Limestone 38% Ca	6.98
Salt	0.40
Premix ¹	0.50
DL-Methionine 99%	0.08
Calculated Nutritional Composition	
Crude Protein (%)	16.00
Metabolizable Energy (kcal/kg)	2860
Calcium (%)	3.00
Available Phosphorus (%)	0.45

1 - Mineral and Vitamin Premix: Levels per kg of diet: Vit. A 10450 IU, Vit. E 7600 mg, Vit. D₃ 1662.5 IU, Vit. K₃ 4.75 mg; Nicotinic Acid 42.5 mg, Vit. B₁ 2.37 mg, Vit. B₁₂ 19 µg, Vit B₂ 9.5 mg, 4.75 mg Vit B₆, Folic Acid 1.18 mg, Biotin 0.19 mg, Choline 360 mg; 19 mg Pantothenic Acid, Copper 62 mg; 60 mg Iron, Iodine 0.8 mg, Manganese 70 mg, Selenium 0.54 mg and Zinc 70 mg.

Table 2. Laying rate of broiler breeders submitted to the different treatments¹

Breeders' Age (wk)	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
	Egg production (%)				
28	72.97 b	80.84 a	66.63 b	5.72	0.0008
29	86.98	86.20	83.32	3.33	0.1260
30	90.74 a	87.74 ab	83.82 b	3.59	0.0074
31	90.18	90.48	87.10	3.27	0.1294
32	89.24 a	91.28 a	83.75 b	2.85	0.0003
33	87.59	87.20	83.98	3.23	0.0997
34	86.26 a	83.99 ab	80.14 b	3.59	0.0166
35	87.20 a	83.67 ab	80.69 b	3.62	0.0123
36	85.95 a	82.49 a	77.39 b	3.36	0.0006
37	81.87 a	80.00 ab	75.43 b	3.98	0.0209
38	80.06	77.72	76.68	4.04	0.3022
39	78.25	77.70	73.39	3.77	0.0523
40	75.51	72.69	73.54	6.52	0.7130
Average (28-40 wk)	84.06 a	83.23 a	78.91 b	1.97	0.0002

^{a-b} Means within a row, not sharing a common superscript, are significantly different ($P \leq 0.05$)

¹ Data represent means from 7 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 21

Table 3. Specific gravity (SG), egg weight (EW), yolk weight (YW), albumen weight (AW), eggshell weight (SW) and eggshell thickness (ET) evaluated in broiler breeder hens from 28 to 40 weeks of age¹

Variables	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
SG (g/cm ³)	1084.86 ^b	1085.17 ^b	1086.38 ^a	0.81	0.0063
EW (g)	64.31 ^b	64.99 ^{ab}	65.51 ^a	0.54	0.0022
YW (g)	17.57 ^b	17.93 ^{ab}	17.99 ^a	0.29	0.0314
AW (g)	40.77	41.01	41.30	0.63	0.3118
SW (g)	5.96 ^b	6.04 ^b	6.20 ^a	0.10	0.0009
ET (mm)	0.420 ^b	0.427 ^b	0.435 ^a	5.00	0.0001

^{a-b} Means within a row, not sharing a common superscript, are significantly different ($P \leq 0.05$)

¹ Data represent means from 7 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 21

Table 4. Contamination by mesophilic aerobic bacteria and coliforms on eggshells for of broiler breeders at 28, 32 and 36 weeks of age.

Breeders' Age (wk)	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am e 3 pm	3 pm		
Total Mesophile (log10 UFC/mL)					
28	5.17	5.27	5.13	0.59	0.3389
32	4.47	4.62	4.68	1.07	0.2280
36	5.07	5.03	5.21	0.24	0.3790
Total Coliforms (log10 UFC/mL)					
28	1.47	1.40	1.44	0.24	0.8101
32	1.71	0.80	1.56	1.36	0.4278
36	1.71	1.93	1.22	1.35	0.6135

¹Data represent means from 7 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 21

Table 5. Incubation parameters evaluated during the experimental period by broiler breeder hens fed different time from 28 to 40 weeks of age¹

Variables	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
Hatchability (%)	83.06	78.90	78.23	4.18	0.0909
Hatchability of Fertile (%)	87.74 ^a	84.08 ^b	84.91 ^{ab}	2.40	0.0267
Fertility (%)	94.54	93.76	91.83	4.29	0.4902
Embryonic Mortality (%)	9.32 ^b	12.06 ^a	11.77 ^a	1.72	0.0148
Contaminated (%)	0.18	0.26	0.05	0.19	0.1397
Pipped (%)	2.69	3.61	3.21	1.19	0.3716

^{a - b} Means within a row, not sharing a common superscript, are significantly different ($P \leq 0.05$)

¹Data represent means from 7 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 21

CAPÍTULO III

THE EFFECT OF DIFFERENT FEEDING SCHEDULES IN BROILER BREEDERS ON EGG QUALITY, BLOOD AND BONE PARAMETERS

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação no Periódico **Animal Feed Science and Technology**.

The effect of different feeding schedules in broiler breeders on egg quality, blood and bone parameters

A. P. Rosa^{a,*}, A. Londero^a, C. B. Santos^a, C. E. B. Vivas Bonilla^a, C. Orso^a, H. M. de Freitas^a,
S. M. A. Mazzanti^b, H. E. Palma^b

^a *Poultry Science Laboratory, Department of Animal Science, Federal University of Santa Maria, Brazil;*

^b *Clinic Veterinary Laboratory, Department of Small Animal Clinic, Federal University of Santa Maria, Brazil*

Abbreviations: Ca (calcium), P (phosphorus)

*Corresponding author. Tel.: ; Fax:

E-mail address:

ABSTRACT. The aim of this study was to evaluate different schedules feeding and its relationship to calcium (Ca) and phosphorus (P) plasma levels and eggshells quality of broiler breeders. The feeding schedules were: a single feeding at 08:00 am; twice daily feeding (50% at 08:00 am and 50% at 3:00 pm) and single feeding at 3:00 pm. 330 females and 45 males Cobb 500 broiler breeders were used from 40 to 60 weeks of age. The experimental design was completely randomized, to three treatments of five repetitions with 22 females and 3 males. The nutritional requirements were according to the recommendations of the guideline. The following parameters were assessed weekly: total egg production, egg specific gravity, egg and eggshell weight, eggshell thickness. Ca and P plasma levels, tibia weight and its length and Seedor index were evaluated at the end of the study. Laying rate was determined by 6 daily collections over the experimental period. To determinate the effect of three feeding schedules it was evaluated the total calcium and inorganic phosphorus plasma at oviposition time and 21 hours after oviposition. At 60 week of age, tibias from right leg were taken, dried, measured and weighted. There were no significant differences among treatments in egg production, tibia length and Seedor index. Hens fed at 8 am showed higher tibia weight than hens fed twice daily at 8 am and at 3 pm. Broiler breeders fed once in the afternoon had higher egg ($P=0.0105$) and shell ($P=0.0066$) weight than others. Also, the hens fed once in the afternoon had more specific gravity ($P=0.0219$) and eggshell thickness ($P=0.0419$) than those which were fed in the morning. Ca ($P=0.758$) and P ($P=0.811$) plasma levels were higher in hens fed at 8 am than hens fed at 3 pm after 21 hours of oviposition Broiler breeders with a single feeding at 3:00 pm had better egg quality without any change in production, as well as, this hens showed higher Ca and P plasma levels available.

Keywords: egg production, egg specific gravity, eggshell, Ca and P, tibia

1. Introduction

Broiler breeders are continuously selected for weight gaining. To regulate this gain, limit health risks, and also maintain high fertility, husbandry practices for the parent stock of broiler chickens encompass a high degree of feed restriction (Renema and Robinson, 2004). Quantitative feed restriction is a common management technique used for increasing the reproductive efficiency of broiler breeder hens (Moradi et al., 2013).

Restriction of feed intake to approximately 50 to 60% of *ad libitum* intake is a practical approach to reduce metabolic disorders and improve egg production in broiler breeder hens (Chen et al., 2006). Feed restriction is typically performed as once a day feeding during the laying period. This feed is rapidly consumed (about 4 h); therefore, the hens fast for a long time before their next feeding (Spradley et al., 2008). The practice of feeding only once a day cannot supply the nutritional needs of hens, particularly to eggshell formation (Bootwalla et al., 1983), which normally start in the afternoon or evening. This is because broiler breeders are unable to retain calcium from the crop to the lower digestive tract at a uniform rate (Farmer et al., 1983a). It may be possible to improve eggshell quality if nutrients are supplied at times that correspond more closely to periods of eggshell deposition by changing the time of feed intake (Backhouse and Gous, 2005).

Calcium is one of the major elements required for maintenance and egg production in hens. The hen will obtain the required calcium from the diet via the intestine and also from medullary bone reserves (Halls, 2005). The probable course to Ca ingested by hens in the morning would be the small intestine-blood-gland of eggshell and finally the eggshell. Therefore, hens with scheduled feeding in the afternoon until the early calcifications of eggshell can deposit the Ca directly into the egg (Calderon, 1994).

On the other hand, medullary bone is found in sexually mature and egg producing hens. It is the primary bone calcium reserve for eggshell formation. Medullary bone calcium can be deposited and released in response to changes in calcium supply and demand during eggshell formation. Intestinal calcium absorption reaches over 70% when the shell gland is actively forming the shell. An average of 4g of calcium is required in the diet to maintain good shell quality since only 50 - 60% of dietary calcium is actually used in the shell formation (Halls, 2005). Phosphorus is also other main component in the eggshell formation. Eggshells contain very little phosphorus, but this mineral interacts with calcium during bone formation. The calcium bone reserves are replenished during the time when the shell gland is in the inactive state (Halls, 2005). According to McCormack et al. (2001), feed restriction in broiler breeders results in changes in the relative growth of different body components, but there is little information on the impact of this on bone structure and composition.

The metabolic and structural function of these minerals in bone and eggshell formation are essential to poultry production. Thus, feed at the later time or twice a day can retain them within the gut of the hen and provide a longer acting source of calcium, which can reduce the need for calcium resorption from the medullary bones. Therefore, the objective of this study is to evaluate the effect of different feeding schedules in broiler breeders on egg quality, Ca and P plasma levels and bone parameters.

2. Materials and methods

This experiment was carried out at Poultry Science Laboratory - LAVIC of the Federal University of Santa Maria (UFSM). 330 broiler breeder hens and 45 roosters in their second production phase were used in order to compose the experimental groups. They were place in an open-sided house with a wood shaving floor. Hens were reared following the Cobb 500

broiler breeder according to need nutritional (Rostango et al., 2011). The trial started from 40 until 60 wks old. The total experimental period had of 20 wks. The selected hens were placed in 15 pens, each pen had 4.615 m² (3.24 x 1.42 m) and, was equipped with an automatic drinker, one tube feeders to the breeder hens, and a trough-type feeder for the roosters. Hens were fed with corn-soybean-based mash diets (Table 1). The supply of the feed was strictly controlled, in accordance to the recommendations of the breeder company. Water was *ad libitum* and 16:30 hours light/day photoperiod was applied, with artificial lighting complementing natural lighting.

2.1. *Treatments*

The hens were distributed in three experimental groups with similar body weight and uniformity (average of 3.62 kg and uniformity of 90%). The hens were acquired from a commercial poultry company to be used in the trial (22 wks old) and they were submitted to different treatments from 28 week of age. The hens were fed with the same basal diet (corn and soybean) from 22 until 60 wks old. Each one of experimental treatments was randomly assigned in 5 replicates, each one with 22 hens and 3 roosters by pen. Three feeding schedules were tested: a single feeding at 8:00 am; twice daily feeding (50% at 8:00 am and 50% at 3:00 pm) and a single feeding at 3:00 pm. From 40th to 60th week of age, the hen's performance was evaluated.

2.2. *Experimental responses measured*

The egg production by hen housed was calculated weekly. The egg production was determined by the mathematical relationship of egg laid number, hens and production days

multiplied by 100. Eggs were collected and recorded 6 times per day. 15 eggs/treatment (5 replicates of 3 eggs each one) were used to determine egg weight, eggshell weight and eggshell thickness. The egg specific gravity was determined throughout the immersion of the eggs in saline solutions with densities of 1070; 1075; 1080; 1085; 1090; 1095 and 1100 g/cm³ using Archimede's principle as described by Peebles and McDaniel (2004). Egg weight and eggshell weight were determined through a precision scale (0.001 g). The eggshell was weighted after being dried in ambient temperature by three days (Rodriguez-Navarro et al., 2002). Shell thickness was measured with the Electronic Outside Micrometer 0.001 mm at three equatorial points on each egg (Lin et al., 2004).

2.2.1. Analysis of calcium and phosphorus level in blood

At 55th week of age, blood samples were collected from three hens per replicate immediately after oviposition time (0 hour). The hens were marked with dye and 21 hours after oviposition, blood samples were collected once again (Junqueira et al., 2002; Miles et al., 1984). Blood samples from each treatment were placed in tubes and packed in ice. Subsequently, they were centrifuged at 3000rpm for a period of time up to 15 minutes to separate the plasma. The calcium and phosphorus measurements of the samples were analyzed by the Clinical Laboratory Veterinary (LACVET – UFSM), in Santa Maria (RS), Brazil.

2.2.2 Analysis of bone quality

At 60th week of age, three hens per pen were killed by CO₂ asphyxiation and the right tibia was removed, cooked, removed the fibula and adherent tissues, dried and after of this,

their length, weight, Seedor index was measured. Tibia weight was determined through a precision scale (0.001 g). Bone density was measured by the Seedor index (mg/mm) and obtained by the value of weight (mg) and the length (mm) of the bone assessed (Seedor, 1993).

2.3. Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized, with three treatments (a single feeding at 8:00 am; twice daily feeding (50% at 8:00 am and 50% at 3:00 pm) and single feeding at 3:00 pm) and 5 repetitions each one. All the data were subject to Analysis of Variance. When it was observed, significant differences at 10% in the variance average were applied Tukey test for comparison among treatments. Statistical procedures were performed by using the SAS software (2013). The complete process of analysis was performed as described in the microbiological methods of MAPA Normative Instruction 62 (2003) of Brazil.

3. Results

In the egg production only in the 44 wks of age the hens had their production different significantly ($P=0.0319$) where hens fed only 3 pm produced lower egg quantities than hens fed 8 am (Table 2). The egg specific gravity ($P=0.0219$), eggshell thickness ($P=0.0419$) were significantly higher in hens fed at 3 pm than the broilers breeder fed in the morning once and hens fed at 3:00 pm showed better egg weight ($P=0.0105$) and eggshell weight ($P=0.0066$) than others (Table 3). To calcium and phosphorus plasma levels were not affected by feeding schedules used at the time of oviposition (0 hours), but 21hours after of it, the hens fed at 3

pm showed higher levels than hens fed at 8 am (Table 4). Hens fed at 8 am were higher tibia weight than hens fed at 8 am and 3 pm. The feeding schedules used in broiler breeders did not affect the tibia length and Seedor index (Table 4).

4. Discussion

4.1. Parameters of eggs

The total egg production and the weekly egg production are shown in Table 2. The egg production in total experimental period was not affected. At 44 weeks of age, the hens fed once at 8:00 am had better egg production than hens fed once at 3:00 pm ($P=0.0319$). However, the other weeks evaluated, the different schedule feeding did not have influence on the egg production. In the same way, Avila et al. (2003a) did not observe difference in the total egg production through 66 wks of age, between broiler breeders fed once or twice a day. Moreover, the egg production results were reported by Harms (1991) which changed the time of feeding in broiler breeder hens from 8:00 am to 4:00 pm verifying a significant reduction on their egg production. Broiler breeder hens fed once a day in the afternoon had more egg production than those fed once a day in the morning (Wilson and Keeling, 1991; Brake and Peebles, 1986; Farmer et al., 1983a).

Spradley et al. (2008) reported that broiler breeders fed twice a day laid more and heavier eggs through 42 wks of age than those fed once a day. They believed that increased egg weight was related to providing feed later in the day (3 pm). Moradi et al. (2013) evaluated hens fed once a day at 6:15 am and a twice a day feeding (at 6:15 am and 12:15 pm) and Taherkhani et al. (2010) evaluated hens fed once a day at 7:30 am and a twice a day feeding (at 7:30 am and 11:30 am), both authors reported that broiler breeders fed twice a day

laid more and heavier eggs than those fed once a day. Influence of increasing feeding frequency may be related to reduction of the fasting period during the day-light cycle (Moradi, et al., 2013). The results of this study were according to the results reported by Cave (1981), Bootwalla et al. (1983) and Samara et al. (1996), who reported that different schedules feeding had no effect on the egg production. Backhouse and Gous (2005) evaluated different feeding schedules for broiler breeders (57 week old); 07:30 am, 10:00 am, 1:00 pm and 3:30 pm. There was also one treatment, in which hens were daily half fed at 07:30 am and at 3:30 pm (half-feeding) and it was observed that feeding time had no significant effect on total egg production from 26 to 32 weeks of age.

The provision of a limited daily allowance of feed in the morning may not supply the nutrients to coincide with the broiler breeder hen's need (Cave, 1981). This is particularly important with calcium (Ca), because it is an essential component of eggshells formation. It normally begins in the afternoon or evening, and the utilization of Ca dietary in morning-fed broiler breeders is poor due to the inability of these hens to maintain Ca from the crop to the lower digestive tract at uniform rate (Farmer et al., 1983a). Feeding broiler breeders later in the day supplies dietary Ca at times that correspond more closely to periods of shell deposition (Farmer et al., 1983a), resulting in a better Ca utilization (Farmer et al. 1983b; Roland and Farmer, 1984), which is usually manifested as an increasing in egg specific gravity, eggshell weight and shell thickness (Backhouse and Gous, 2006). In this study, the highest egg specific gravity was observed in hens fed at 3:00 pm (Table 3). Backhouse and Gous (2005) showed that split feeding could improve the eggshell quality. Harms (1991) also observed that egg specific gravity is increased when the broiler breeder hens were fed daily at 4:00 pm, the improvement was very small compared with the result at 8:00 am.

The egg weight risen observed in this study is in agreement with other study (Cave, 1981) (Table 3). Spradley et al. (2008) compared hens that received once-a-day feeding

treatment at 6:30 am, whereas the hens under the twice-a-day feeding treatment received 60% of their total daily feed allotment at 06:30 am and 40% at 3:00 pm, and they concluded that the average egg weight for the entire egg production period was better in hens fed twice a day than once-a-day. Moreover, Samara et al. (1996) and Harms (1991) reported that egg weight was not affected by feeding time. In addition, Backhouse and Gous (2005) report that egg weight was not significantly affected by the feeding time, suggesting that differences in shell thickness and oviposition times were not due to increased oviducal transit times.

The weight of eggshells was significantly higher in hens fed at 3:00 pm than broiler breeders fed once in the morning or twice a day. Lewis and Perry (1988) reported an increasing in eggshell thickness and eggshell weight when broiler breeders were given half the daily feed allocation twice daily compared to a single allocation of feed provided in the morning. In this study, the eggshell thickness was significantly higher in hens fed once in the afternoon than broiler breeders fed once in the morning. Thus, the delayed feeding improved shell thickness by allowing more calcium to bypass the bone and depositing Ca directly on the egg via blood (Roland and Farmer, 1984).

4.2. Blood parameters

Feinberg et al. (1937) was a pioneer in registering a slight fluctuation in calcium and marked fluctuation of serum phosphorus during the egg formation. Likewise, Miller et al. (1977) also observed a cyclical variation blood phosphorus in the laying hen, with the most low phosphorus level about two hours before oviposition, remaining constant up to 4 hours after oviposition. The average values were 5.29 mg/dL and then kept on increasing, reaching a peak 21-22 hours after oviposition, corresponding with the active period of eggshell formation and demineralization bones. Taylor and Stringer (1965) have suggested that the

period where the phosphorus plasma level is minimum represents the process pause of the eggshell formation, the return of the P to the bone and the kidney filtration of the element.

Mongin and Sauveur (1979) confirmed that the cyclical nature of the phosphorus plasma, reporting that the phosphorus declining of hens, 10 hours after the oviposition, is due solely to eggshell formation and it is independent of the light program that they are imposed or of the feed ingestion amount. The blood phosphorus values found by the authors were minimal during oviposition, continuing until 10 hours after the oviposition. Then, an increase was observed reaching a peak of 18 to 20 hours following oviposition and returning to normal levels before the next oviposition (Junqueira et al. 2002).

In this study, different feeding schedules; 8:00 am; 8:00 am and 3:00 pm and 3:00 pm, did not affect statistically phosphorus levels at the time of oviposition (0 hour) (6.3, 7.12, 6.73 mg/dL). But, after 21 hours of oviposition, there was difference among the feeding schedules on phosphorus levels (4.93, 6.17, 6.79 mg/dL) ($P=0.0811$). Miles et al. (1984), after performing experiments, reported that the average of phosphorus content in plasma at the time of oviposition for hens fed in the morning or afternoon was 3.95 and 4.10 mg/dL, respectively. On the other hand, higher values from 4.91 to 5.90 mg/dL were obtained from the plasma of hens which the blood was collected 21 hours after oviposition. In relation to the plasmatic calcium it was observed that there was no fluctuation at the time of oviposition (0 hour) (23.24, 27.1, 28.32 mg/dL), along the process of egg formation, when the hens were fed at different times. But, after 21 hours of oviposition, there was difference among the feeding schedules on calcium levels (23.35, 27.04, 28.12 mg/dL) ($P=0.0758$). Junqueira et al. (2002) evaluating hen feed restriction, reports a small increase in plasmatic calcium levels 21 hours after oviposition and this increase can be related to the fact that there is less calcium elimination through the renal tract, or also, because there is an increase in the mobilization of the bones, as an attempt to maintain normal levels to hen.

4.2. Bone parameters

Calcium metabolism in laying hens is dominated by the uterus for shell formation. As a result, inadequate calcium in diet leads to disruption of ovulation and cessation of lay until their meager calcium reserves are replenished. Under normal conditions, when a high calcium diet is being applied, the medullary bone is resorbed when supplies of calcium from the gut are not sufficient to provide it for the shell gland demands. This occurs in the early morning hours, when most of the previous day feeding has been absorbed (Taylor and Dacke, 1984). It is suggested that reabsorption of medullary bone is induced by an increase in the circulating concentration of parathyroid hormone (PTH), secretion of which is stimulated by the decline in Ca_2+ concentration that occurs during the shell formation (Taylor and Dacke, 1984).

No effect of treatment was observed on the tibia length, but the tibia weight was higher in hens fed at 8 am than hens fed 8 am and 3 pm ($P=0.0697$). Though, Ávila et al. (2003b) evaluated different feeding schedules for broiler breeders; 06:30 am, 50% feeding at 06:30 am and 50% feeding at 3:30 pm, 11:30 am or 3:30 pm and reported that there was effect by treatment for tibia weight of hens fed at 11:00 am compared to those with other feeding schedules and related this result to the low mobilization of Ca and P to the plasma required for eggshell synthesis. Bootwalla et al. (1989) fed female broiler breeders in different periods of the day and found that the plasma levels of Ca and P were influenced by feeding, stage of egg formation, and the moment of oviposition. In this study, bone quality measured by Seedor index was not affected (Table 5).

5. Conclusions

In conclusion, the present study suggests that the breeding of broilers submitted to different feeding times, starting on the 28th week of age, specifically evaluated from the 40th to 60th weeks of age showed no difference in the egg production. Broiler breeders fed once in the afternoon had better egg specific gravity and eggshell thickness than hens fed once in the morning. Hens fed later showed better egg weight and egg shell than others. Calcium and phosphorus levels were higher in hens fed 8 am than hens fed 3 pm after 21 hours of oviposition. The tibia weight was higher in hens fed 8 am than hens fed 8 am and 3 pm.

References

- Avila, V. S., Penz, Jr., A. M., De Brum, P. A. R., Rosa, P. S., Guidoni, A. L. and De Figueiredo, É. A. P. (2003a). Performance of female broiler breeders submitted to different feeding schedules. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 5(3), 197-201.
- Avila, V. S., Penz, J. A. M., Rosa, P. S., Brum, P. A. R., Guidoni, A. L., Ledur, M. C. (2003b). Influence of Feeding Time on Sexual Maturity and Carcass Composition in Female Broiler Breeders. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 5(3), 189-196.
- Backhouse, D., Gous, R. M. 2005. The effect of feeding time on shell quality and oviposition time in broiler breeders. *British Poultry Science*. 46(2), 255–259.
- Backhouse, D. and Gous, R. M. 2006. Responses of adult broiler breeders to feeding time. *World's Poultry Science Journal*. 62, 269-281.

- Bootwalla, S. M., Wilson, H. R., Harms, R. H. 1989. Plasma calcium and phosphorus levels of broiler breeders with different feeding schedules. *Poultry Science*. 39(2), 391-398.
- Bootwalla, S. M., Wilson, H. R. and Harms, R.H. 1983. Performance of broiler breeders on different feeding systems. *Poultry Science*. 62, 2321-2325.
- Brake, J. and Peebles, E. D. 1986. Effect of strain and time of day of feeding on reproductive performance and shell quality of broiler breeders. *Poultry Science*. 65, 156.
- Calderon, C. 1994. .Efectos nutricionales sobre la calidad de la cáscara. FACTA, Conferência APINCO 1994 de Ciência e Tecnologia Avícolas. p.35-66.
- Cave, N. A. 1981. Effect of diurnal programs of nutrient intake on the performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 60, 287-1292.
- Chen, S. E., McMurtry, J. P. and Walzem, R. L. 2006. Overfeeding-induced ovarian dysfunction in broiler breeder hens is associated with lipotoxicity. *Poultry Science*. 85, 70–81.
- Farmer, M., Roland, D. A., Brake, J. and Eckman, M. K. 1983a. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 1. Calcium status of the digestive tract of broiler breeders throughout a 24 hour period. *Poultry Science*. 62, 459-464.

- Farmer, M., Roland, D. A., and Eckman, M. K. 1983b. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 2. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and egg shell quality in broiler breeders. *Poultry Science*. 62, 465-471.
- Feinberg, J. C. J. G., Hughes, J. S. and Scot, H. M. 1937. Fluctuations of calcium and inorganic phosphorus in the blood of the laying hen during the cycle of on egg. *Poultry Science*, Champaign. 16,132 - 134.
- Halls, A, Egg formation and eggshell quality in layers. Nutrifax, Nutrition News and Information Update. Available: <http://www.nutrecocanada.com/docs/shur-gain---poultry/egg-formation-and-eggshell-quality-in-layers.pdf> in 20/01/2015.
- Harms, R. H. 1991. The influence of changing time of feeding on performance of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 70, 1695-1698.
- Junqueira, O. M., Andreotti¹, M. O., Rodrigues¹, E. A., Faria, D. E., Casartelli, E.M. 2002. Influência da restrição alimentar sobre alguns constituintes plasmáticos e qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. *Acta Scientiarum*, Maringá. 24(4), 1021-1025.
- Lewis, P. D. and Perry, G. C. 1988. Effect of a single or double daily allocation of food on shell weight and oviposition time of broiler breeder hens, in: *Proceedings of the Fourth International Poultry Breeders Conference*, The West of Scotland College, Ayr, pp. 72-78.
- Lin, H., Mertens, K. B, Govaerts, T., De Ketelaere, B., De Baerdemaeker, J., Decuypere, E., Buyse, J. 2004. New approach of testing the effect of heat stress on eggshell quality:

mechanical and material properties of eggshell and membrane. *British Poultry Science*. 45(4), 476-482.

MAPA Normative Instruction No. 62 of August 26, 2003. Official Analytical Methods for Microbiological Analysis for Control of Animal Products and Water, Ministry of Agriculture, Livestock and Supply

McCormack, H. A., Fleming, R., McTeir, L. and Whitehead, C. C., 2001. Bone development up to 6 weeks of age in feed-restricted broiler breeders fed on diets supplemented with different concentrations of ascorbic acid. *Br. Poultry Science*, (Suppl.). 42, 91-92.

Miller, E. R. Harms, R. H, Wilson, H. R. 1977. Cyclic changes in serum phosphorus of laying hens. *Poultry Science*, Champaign. 56, 586 - 589.

Miles, R. D. et al. 1984. Plasma phosphorus at 0, 6, and 21 hours postoviposition in hens laying in the morning or afternoon, *Poultry Science*, Champaign. 63, 354 – 359.

Mongin, P., Sauveur, B. 1979. Plasma inorganic phosphorus concentration during egg-shell formation. Effect of the physical form of the dietary calcium. *Brit. Poult. Sci.*, Champaign. 20, 401 - 412.

Moradi, S., Zaghari, M., Shivazad, M., Osfoori, R., Mardi, M. 2013. The effect of increasing feeding frequency on performance, plasma hormones and metabolites, and hepatic lipid metabolism of broiler breeder hens. *Poultry Science*. 92 (5), 1227-1237.

- Peebles, E. D. and C. D. McDaniel. 2004. A practical manual for understanding the shell structure of broiler hatching eggs and measurements of their quality. Mississippi Agric. Forest. Exp. Stn. Bull. 1139. Mississippi State University, Mississippi State.
- Renema, R. A. and F. E. Robinson. 2004. Defining normal: Comparison of feed restriction and full feeding of female broiler breeders. *World's Poultry Science. Journal.* 60, 08–522.
- Rodriguez-Navarro, A., Kalin, O., Nys, Y., Garcia-Ruiz, J. M. 2002. Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. *British Poultry Science.* 43 (3), 395-403.
- Roland, D. A. and Farmer, M. 1984. Egg shell quality II: Importance of time of calcium intake with emphasis on broiler breeders. *World's Poultry Science Journal.* 40, 255 - 260.
- Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Donzele, J. L. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 252p.
- Samara, M. H., Robbins, K. R. and Smith, M. O. 1996. Interaction of feeding time and temperature and their relationship to performance of the broiler breeder hen. *Poultry Science.* v.75, p. 34-41.

- SAS - Institute. 2013. SAS User's Guide: Statistics. Version 9.2 Review Edition. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Seedor, J. G. 1993. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.*, 4, 265-270.
- Spradley, J. M., Freeman, M. E., Wilson, J. L. and Davis, A. J. 2008. The Influence of a Twice-a-Day Feeding Regimen After Photostimulation on the Reproductive Performance of Broiler Breeder Hens. *Poultry Science*, 87, 561–568.
- Taherkhani, R., Zaghari, M., Shivazad, M. and Zare Shahneh, A. 2010 A twice-a-day feeding regimen optimizes performance in broiler breeder hens. *Poultry Science*, 89, 1692–1702.
- Taylor, T. G., Dacke, C. G. 1984. Calcium metabolism and its regulation. In, B.M., Freeman (Ed.) *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*, Volume 5. Academic Press, London, UK. 127-164.
- Taylor, T.G., Stringer, D.A. 1965. Eggshell formation and skeletal metabolism. In: STURKE, P.D. (Ed.). *Avian physiology*. New York: Cornell University Press.
- Wilson, H. R. and Keeling, L. J. 1991. Effect of time of feeding on oviposition time and production parameters in broiler breeders. *Poultry Science* 70 (2): 254-259.

Table 1. Composition of the diet and nutritional levels used

Ingredients	(%)
Corn	69.06
Soybean meal 46%	21.15
Soybean oil	-
Dicalcium Phosphate	1.60
Limestone 38% Ca	6.99
Salt	0.40
Premix ¹	0.50
DL-Methionine 99%	0.08
Calculated Nutritional Composition	
Crude Protein (%)	15.50
Metabolizable Energy (kcal/kg)	2800
Calcium (%)	3.20
Available Phosphorus (%)	0.39

1 - Mineral and Vitamin Premix: Levels per kg of diet: Vit. A 10450 IU, Vit. E 7600 mg, Vit. D₃ 1662.5 IU, Vit. K₃ 4.75 mg; Nicotinic Acid 42.5 mg, Vit. B₁ 2.37 mg, Vit. B₁₂ 19 µg, Vit B₂ 9.5 mg, 4.75 mg Vit B₆, Folic Acid 1.18 mg, Biotin 0.19mg, Choline 360 mg; 19 mg Pantothenic Acid, Copper 62 mg; 60mg Iron, Iodine 0.8 mg, Manganese 70 mg, Selenium 0.54 mg and Zinc 70 mg.

Table 2. Laying rate of broiler breeders submitted to the different treatments¹

Breeders' Age (wk)	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
	Egg production (%)				
40	77.14	73.85	73.73	5.13	0.5119
41	77.08	74.21	73.36	5.00	0.4893
42	79.09	72.08	73.24	6.21	0.2027
43	77.46	76.49	71.81	4.42	0.1396
44	76.23 a	75.71 ab	71.54 b	2.66	0.0319
45	74.15	69.74	69.74	3.82	0.1518
46	72.08	70.77	68.70	3.94	0.4198
47	74.28	72.07	71.81	4.72	0.6719
48	69.97	73.24	68.05	4.20	0.1853
49	70.13	70.26	64.82	5.69	0.2659
50	70.00	70.78	66.75	2.89	0.1053
51	66.10	69.74	66.10	4.33	0.3428
52	67.40	69.35	65.19	3.41	0.1992
53	67.27	69.35	64.80	4.35	0.2916
54	65.32	67.53	63.77	3.26	0.2282
55	63.11	64.80	60.52	3.98	0.2693
56	62.34	65.71	63.24	4.50	0.4928
57	62.73	63.22	61.17	3.95	0.6995
58	60.00	61.67	60.65	5.04	0.8716
59	58.96	64.12	58.31	4.48	0.1215
60	58.05	57.84	57.18	4.29	0.9463
Average (40-60 wk)	68.99	68.95	66.25	2.63	0.2112

^{a - b} Means within a row, not sharing a common superscript, are significantly different ($P \leq 0.05$)

¹ Data represent means from 5 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 15

Table 3. Specific gravity (SG), egg weight (EW), eggshell weight (SW) and eggshell thickness (ET) evaluated in broiler breeder hens from 40 to 60 weeks of age¹

	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
SG (g/cm ³)	1084.36 ^b	1084.89 ^{ab}	1085.93 ^a	0.77	0.0219
EW (g)	72.17 ^b	71.98 ^b	73.63 ^a	0.77	0.0105
SW (g)	6.70 ^b	6.72 ^b	7.00 ^a	0.13	0.0066
ET (mm)	0.435 ^b	0.437 ^{ab}	0.445 ^a	0.00	0.0419

^{a-b} Means within a row, not sharing a common superscript, are significantly different ($P \leq 0.05$)

¹ Data represent means from 5 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 15

Table 4. Calcium and phosphorus in plasma at the time of egg laying (0 hours) and 21hours after laying¹

Treatments	8 am	8 am and 3 pm	3 pm	SEM*	P
0 hours					
Calcium (mg/dL)	23.24	27.1	28,32	4.60	0.2307
Phosphorus (mg/dL)	6.3	7.12	6.73	1.09	0.5097
21 hours					
Calcium (mg/dL)	23.35 ^b	27.04 ^{ab}	28,12 ^a	3.11	0.0758
Phosphorus (mg/dL)	4.93 ^b	6.17 ^{ab}	6.79 ^a	1.19	0.0811

¹Data represent means from 5 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 15

Table 5. Effect of time of feeding on bone quality in broiler breeder hens from 40 to 60 weeks of age¹

	Feeding time (h)			SEM*	P Values
	8 am	8 am and 3 pm	3 pm		
Weight (mg)	15999 ^a	15061 ^b	15210 ^{ab}	615.56	0.0697
Length (mm)	121.10	120.30	118.50	1.86	0.1260
Seedor index (mg/mm)	132.23	125.15	128.40	5.17	0.1378

¹ Data represent means from 5 replicates (i.e., pens) per treatment.

*Pooled SEM, n = 15

CONCLUSÕES

Matrizes de frangos de corte arraçadas apenas a tarde apresentaram menor produção de ovos no período de 28 a 40 semanas de idade, sendo que posteriormente (40 a 60 semanas de idade) a produção de ovos das aves alimentadas em diferentes horários demonstrou ser igual. A eclodibilidade de ovos férteis de aves alimentadas às 8 horas foi maior estatisticamente até as 40 semanas de idade, as quais apresentaram menor mortalidade embrionária neste período. A qualidade de ovos demonstrou ser maior em aves alimentadas às 15 horas em todo período de experimentação. A contaminação bacteriológica das cascas dos ovos não foi influenciada pelos diferentes horários de arraçoamento. Os níveis de cálcio e fósforo no sangue (após 21 horas da postura) demonstraram serem maiores em aves alimentadas às 15 horas em relação às matrizes alimentadas às 8 horas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, H. A.; BALANDER, R. J. Alternative feeding regimen of calcium source and phosphorus level for better eggshell quality in commercial layers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, p. 509-514, 2003.

AHN, D. U.; KIM, S. K.; SHU, H. Effect of egg size and strain and age of hen on the solids content of chicken eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, p. 914-919, 1997.

ARAGON-ALEGRO, L. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 25(3), p. 618-622, 2005.

ARAUJO, L. F., et al. Impact of broiler breeder nutrition on progeny development. **European Symposium of Poultry Nutrition**, Edinburgh, p. 73, 2009.

AVILA, V. S. et al. Produção e qualidade de ovos em reprodutoras de frangos de corte com horário de arraçamento diferenciado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1202-1209, 2005.

AVILA, V. S. et al. Performance of female broiler breeders submitted to different feeding schedules. **Brazilian Journal of Poultry Science**. 5: 197-201. 2003a

AVILA, V. S. et al. Influence of Feeding Time on Sexual Maturity and Carcass Composition in Female Broiler Breeders. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 3, p. 189-196, 2003b.

BACKHOUSE, D. and GOUS, R. M. Responses of adult broiler breeders to feeding time. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 269-281, 2006.

BACKHOUSE, D.; GOUS, R. M. The effect of feeding time on shell quality and oviposition time in broiler breeders. **British Poultry Science**, v. 46, n. 2, p. 255–259, 2005.

BAIÃO, N. C.; LÚCIO, C. G. Nutrição de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. **Manejo de matrizes de corte**. 1. ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 197-212. 2005.

BAIÃO, N. C. Alimentação e controle de peso. **Manejo de Matrizes**. São Paulo: FACTA, 1994. p. 73-80.

BEIG, D.; GARCIA, F. C. M. **O embrião de galinha**. Campo Grande, Proed. 1987.

BENNET, C. D. The influence of shell thickness on hatchability in commercial broiler breeder flocks. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v. 1, n. 1, p. 61-65, 1992.

BERMUDEZ, A. J.; BROWN, B. S. Principles of disease prevention: Diagnosis and control. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11. ed. Iowa: Iowa State Press, p. 17-53. 2003.

BERTECHINI, A. G. Nutrição de monogástricos. **Editora UFLA**, Lavras, 2006. p. 301.

BEZERRA, R. **Recuperação e pesquisa de *Salmonella spp.* e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha *Gallu gallus* (Linnaeus, 1758)**. São Paulo, 1995. 59p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

BOOTWALLA S. M.; WILSON, H. R.; HARMS, R. H. Plasma calcium and phosphorus levels of broiler breeders with different feeding schedules. **Poultry Science** 39(2):391-398, 1989.

BOOTWALLA, S. M., WILSON, H. R. and HARMS, R. H. Performance of broiler breeders on different feeding systems. **Poultry Science**. 62: 2321-2325, 1983.

BRAKE, J. Avanços recentes no manejo de matrizes de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: FACTA, 1995. p. 17-32.

BRAKE, J. Relationship of time of feeding and strain to egg shell quality and hatchability in broiler breeders. **Poultry Science**. 67: 538-543, 1988.

BRAKE, J. and PEEBLES, E. D. Effect of strain and time of day of feeding on reproductive performance and shell quality of broiler breeders. **Poultry Science**. 65:156. 1986.

BRAKE, J. Relationship of egg weight, specific gravity, and shell weight to time of oviposition and feeding in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 64, n. 11, p. 2037-2040, 1985.

BRAMWELL, R. K. Importancia de las prácticas de manejo de las casetas de reproductoras. **Indústria Avícola**, Mount Morris, IL, v. 47, n. 12, p. 8-18, dic. 2000.

BRUCE, J.; DRYSDALE, E. M. **Egg hygiene: Routes of infection**. In: TULLET, S. G. Avian Incubation. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 257-267. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.

CARDOSO, A. L. et al. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descavado. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 19-22, 2001.

CAVE, N. A. Effect of diurnal programs of nutrient intake on the performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, 60:1287–1292, 1981.

CHEN, S. E., MCMURTRY, J. P. and WALZEM, R. L. Overfeeding-induced ovarian dysfunction in broiler breeder hens is associated with lipotoxicity. **Poultry Science**. 85:70–81, 2006.

COUTTS, J. A.; WILSON, G. C.; FERNANDEZ, S. **Optimum egg quality – A practical approach**. Sheffield: 5M Enterprises, 66p. 2007.

COUTTS, J. A.; WILSON, G. C. **Ovos de ótima qualidade - Uma abordagem rápida**. Reino Unido: 5M Publishing. 2007.65p

ELGUERA, M. A. Relação entre o manejo de reproductoras de carne a qualidade de ovos incubáveis. In: SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE, 2., Chapecó, 1999. **Anais...** Chapecó: Acav/Embrapa, 1999. p. 17-27.

FARMER, M., ROLAND, D. A. and ECKMAN, M. K. Calcium metabolism in broiler breeder hens. 2. The influence of the time of feeding on calcium status of the digestive system and egg shell quality in broiler breeders. **Poultry Science**. 62: 465-471, 1983.

FRAZIER, N. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza:Acribia, 1976. 512p

FRONING, G.; IZAT, A.; RILEY, G.; MAGWIRE, H. Compendium of methods for the microbiological axamination of foods: Eggs and egg products. 3. ed. Washington: **American Public Health Association**, 1996. p. 857-873.

HAYES, P. R. **Microbiologia e higiene de los alimentos**: El huevo de gallina y su alteración. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 102-103.

HARMS, R. H. The influence of changing time of feeding on performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 70, n. 8, p. 1695-1698, 1991.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18. ed. Brasil: Manole, 1678 p. 1995.

HUNTON, P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 67-71, 2005.

HUTCHISON, M. L. et al. Washing table eggs: a review of the scientific and engineering issues. **World's Poultry Science Journal**, v. 59, p. 233-248, 2003.

JONES, C. B. Egg hygiene: microbial contamination, significance and control. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 269-276. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.

LEESON, S.; SUMMER, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4rd ed. Ontario: University Books, 2001. p.331-428.

MACARI, M. e MENDES, A. A. **Manejo de Matrizes de Corte**. Facta, Campinas, 2005. p. 421.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 375, 2002.

MCDANIEL, G. R., BRAKE, J. Factors affecting broiler breeder performance, 1. Relationship of daily feed intake level to reproductive performance of pullets. **Poultry Science**, v. 60, p. 307-312, 1981.

MACDANIEL, G. R. et al. The effect of egg shell quality on hatchability and embryonic mortality. **Poultry Science**, Champaign, v. 58, p. 10-13, 1979.

MADRID, A. V.; CENZANO, J., VICENTE, J. M. **Manuel de indústria dos alimentos**. São Paulo: Varela, 1996, p. 489-495. 1996.

MAULDIN, J. M. Maintaining hatching egg quality. In: BELL, D. D.; WEAVER, W. D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5th ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 2002. p.707-725.

MILES, R. D. Gravedad específica del huevo-establecimiento de un programa de verificación. Generalidades sobre la calidad del cascarón de huevo. México: **Asociación Americana de Soya**, p. 1-8. 1993.

MORADI S, et al. The effect of increasing feeding frequency on performance, plasma hormones and metabolites, and hepatic lipid metabolism of broiler breeder hens. **Poultry Science**, 92(5), 1227-1237, 2013.

MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e produção de aves**. Tradução Nair Massako Katayma Ito. São Paulo: Roca, 1990. 380 p.

NORTH, M. O. **Commercial Chicken Production Manual**. Westport: The Avi Publishing, 1972. p. 21-30.

ORDÓNEZ, J. A. Ovos e produtos derivados. In: **Tecnologia de alimentos**. Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 269-279. 2005.

PEEBLES, E.D. e BRAKE, J. Relationship of eggshell porosity to stage of embryonic development in broiler breeders. **Poultry Science**. 64: 2388-2391, 1985.

PROUDLOVE, K. **Os alimentos em debate: uma visão equilibrada**. São Paulo: Varela, 1996. p. 251.

RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, E. W. BALOG, J. M. Factors regulating bone maturing and strenght in poultry. **Poultry Science**. 79:1024-1032, 2000.

RENEMA, R. A. and ROBINSON. F. E. Defining normal: Comparison of Feed Restriction and full feeding of female broiler breeders. **World's Poultry Science. J.** 60:511-525. 2004.

REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara Koogan, 12. ed., Rio de Janeiro, 2006. p. 926.

REZENDE, A. C. F. D.; ROCHA, A. O. **Fatores que influenciam a qualidade da casca dos ovos de matrizes pesadas e principais defeitos macroscópicos descritos: revisão de**

literatura. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Medicina Veterinária) Betim: Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, 2013.

RICHARDS, M. P. et al. Feed restriction significantly alters lipogenic gene expression in broiler breeder chickens. **Journal Nutrition**, v. 133, p. 707-715, 2003.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Loyola, 1987. 445p.

RIOS, J. N. F. et al. Programas de restrição alimentar para matrizes tipo corte em fase de recria. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 22, n. 2, p. 092-097, 2006.

ROBERTS, J. R. Factors affecting egg internal quality and eggshell quality in laying hens. **Journal of Poultry Science**, Tokyo, v. 41, p. 161-177, 2004.

ROLAND, D. A., FARMER, M. Egg shell quality II: Importance of time of calcium intake with emphasis on broiler breeders. **World's Poultry Science Journal**, 40: 255-260, 1984.

ROQUE, L. e SOARES, M. C. Effects of eggshell quality and broiler breeder age on hatchability. **Poultry Science**. 73: 1838-1845, 1994.

ROSA, A. P.; SANTOS, C. B. Nutrição de matrizes pesadas e seus impactos na reprodução e progênie. In: VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal. 2014. Estância de São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal – CBNA. 2014.

SAKOMURA, N. K. et al. Programas de alimentação para matrizes pesadas após o pico de postura, com base em modelos para prever a exigência energética. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1197-1208, 2004.

SAMARA, M. H.; ROBBINS, K. R.; SMITH, M. O. Interaction of feeding time and temperature and their relationship to performance of the broiler breeder hen. **Poultry Science**, v. 75, n. 1, p. 34-41, 1996.

SAUTER, E. A.; PETERSEN, C. F. The effect of egg shell quality on penetration by various Salmonellae. **Poultry Science**, Savoy, IL, v. 53, p. 2159-2162, 1974

SCOTT, T. A.; SWETNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. II. Effectiveness against microorganisms on the egg shell. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v. 2, p. 7-11, 1993.

SESTI, L. A. C. Biosseguridade em granjas de reprodutoras. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de Matrizes de Corte**. Campinas: Facta, 2005. p. 244-317.

SESTI, L. A. C. Órgãos reprodutivos e reprodução das aves domésticas. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Jaboticabal: FACTA, 2003. 5-25p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 159p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varala, 1997. 295p.

SOARES, N. M.; MESA, D. A. **Manejo da água na produção de ovos**. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/ovos/index.htm>. Acesso em: 14/1/2015

SOLOMON, S. E. **Egg and Eggshell Quality**, Wolfe Publishing Ltd., London, England. 1991.

SOLTANMORADI, M. G. et al. Effect of time, amount and frequency of feeding on total egg production, fertility and hatchability in broiler breeders. *Archiv Tierzucht: Archives Animal Breeding*. 56: 102. 2013.

SOUZA, E. R. N.; CARVALHO, E. P.; DIONÍZIO, F. Estudo da presença de *salmonella sp* em poedeiras submetidas à muda forçada. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 140-147, 2002.

SPRADLEY, J. M. et al. The influence of twice-a-day feeding on regimens after photostimulation on the reproductive performance of broiler breeder hens. **Poultry Science**, 87:561-568. 2008.

STRINGHINI, M. L. F. et al. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 4, p. 1317-1327, 2009.

TANABE, Y.; OGAWA, T.; NAKAMURA, T. The effect of short term starvation on pituitary and plasma LH, plasma estradiol and progesterone, and on pituitary response to LH-RH in the laying hen (*Gallus domesticus*). **Gen Comp Endocrinol**, 43, 392-398. 1981.

TULLET, S. G. Pore size versus pore number in avian eggshells. In: PIIPER, J. (ed.) **Respiratory Function in Birds**, Adult and Embryonic, pp. 219-226. Berlin, Springer-Verlag, 1978.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3rd ed. Wallingford: Cabi Publishing, 1999. 67-148p.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. 2014. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/>>. Acesso em: 05 jan. 2015

VIEIRA, N. S. et al. Avaliação de diferentes programas de restrição alimentar na recria de matrizes avícolas tipo corte. **Ciência Rural**, Santa Maria: vol. 25, n. 3, 1995.

ZANELLA, I. et al. Diferentes intervalos de arraçamento de matrizes avícolas tipo corte na fase de recria e seus efeitos na fase produtiva. **Ciência Rural**, v. 30, p. 159-162, 2000.

WILLIAMS, J. E. Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs. **Avian Diseases**, Kennett Square, Pa., v. 14, n. 2, p. 386-391, 1970.

WILSON, H. R.; KEELING, L. J.. Effect of time of feeding on oviposition time and production parameters in broiler breeders. **Poultry Science**, 70:254-259. 1991.