



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Agrícola

LEONARDO VALENTINO SOARES BARBOSA

**ESTUDO DA ALTA CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA E SEU
IMPACTO EM DIFERENTES LINHAGENS DE FRANGO DE
CORTE ALOJADOS EM ALTA E BAIXA DENSIDADE**

**STUDY OF HIGH AMMONIA CONCENTRATION AND ITS
IMPACT ON DIFFERENT BROILER BREEDS STOCKED AT
HIGH AND LOW DENSITY**

CAMPINAS
2023

LEONARDO VALENTINO SOARES BARBOSA

**ESTUDO DA ALTA CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA E SEU
IMPACTO EM DIFERENTES LINHAGENS DE FRANGO DE
CORTE ALOJADOS EM ALTA E BAIXA DENSIDADE**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Agrícola, na Área de Construções Rurais e Ambiente.

Supervisora/Orientadora: Profa. Dra. Daniella Jorge de Moura

Coorientador: Prof. Salvador Calvet Sanz

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO LEONARDO VALENTINO SOARES BARBOSA, E ORIENTADA PELA PROF.^a DR.^a DANIELLA JORGE DE MOURA.

CAMPINAS

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

B234e Barbosa, Leonardo Valentino Soares, 1990-
Estudo da alta concentração de amônia e seu impacto em diferentes
linhagens de frango de corte alojados em alta e baixa densidade / Leonardo
Valentino Soares Barbosa. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Daniella Jorge de Moura.

Coorientador: Salvador Calvet Sanz.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia Agrícola.

1. Amônia. 2. Frango de corte. 3. Bem-estar animal. 4. Saúde animal. 5.
Aprendizado de máquina. I. Moura, Daniella Jorge de, 1970-. II. Sanz, Salvador
Calvet. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
Agrícola. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Study of high ammonia concentration and its impact on different
broiler breeds stocked at high and low density

Palavras-chave em inglês:

Ammonia

Broiler production

Animal welfare

Animal health

Machine learning

Área de concentração: Construções Rurais e Ambiência

Titulação: Doutor em Engenharia Agrícola

Banca examinadora:

Daniella Jorge de Moura [Orientador]

Juliana de Souza Granja Barros

Juliana Aparecida Fracarolli

Leda Gobbo de Freitas Bueno

Luciane Silva Martello

Data de defesa: 30-06-2023

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Agrícola

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-5336-2492>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5540894111479705>

Este exemplar corresponde à redação final da **Tese de Doutorado** defendida por **Leonardo Valentino Soares Barbosa**, aprovada pela Comissão Julgadora em 30 de junho de 2023, na Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

Prof^a. Dra. Daniella Jorge de Moura – Presidente e

Prof^a. Dra. Luciane Silva Martello – Membro Titular

Prof^a. Dra. Leda Gobbo de Freitas Bueno – Membro Titular

Prof^a. Dra. Juliana Aparecida Fracarolli – Membro Titular

Dra. Juliana de Souza Granja Barros – Membro Titular

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas e a Faculdade de Engenharia Agrícola pela oportunidade de realizar o doutorado. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e ao Grupo Santander pela oportunidade de mobilidade acadêmica no programa Ibero-americano ao qual realizei na Universitat Politècnica de València e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) pela concessão da minha bolsa de doutorado sanduiche também durante minha permanência na UPV.

À Universitat Politècnica de València e ao Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA) pela possibilidade de realizar toda a parte experimental da minha tese e aos pesquisadores de ambas as instituições, em especial ao Prof. Dr Salvador Calvet Sanz, a Dra Arantxa Villagrà García, ao Prof. Dr Fernando Estellés Barber e a Profa. Dra Clara Marín Orega. Aos meus queridos amigos Adrián e Paloma pela amizade e suporte emocional durante toda a minha trajetória de adaptação.

A minha orientadora, Profa. Dra. Daniella Jorge de Moura, pela orientação, confiança, cuidado, ensinamentos, paciência e acima de tudo por acreditar no meu trabalho, na minha capacidade e por me incentivar. Obrigado por tudo que me proporcionou, obrigado pela amizade, sou eternamente grato. A minha amiga e mentora acadêmica Nilsa por tantos conselhos, cafês, risadas e trocas de experiências.

Ao Programa de Pós-Graduação, em especial à Valéria Altmann Ferreira, pela paciência, gentileza e todo auxílio durante os desesperos burocráticos da vida acadêmica. Aos docentes do Programa Pós-Graduação em Engenharia Agrícola pelas disciplinas ministradas. E ao Programa de Estágio de Docência (PED).

Pelas amizades construídas durante esses anos em Campinas, em especial ao Tiago que me acompanhou nos diversos dilemas da vida acadêmica, sempre me trazendo conselhos tão sábios e ouvindo meus desabafos. A minha família, em especial a minha irmã Vanessa que me ajudou tantas vezes a levantar, que soube trazer palavras fortes quando eu precisei, mas também palavras de carinho e acolhimento. Ao Renato por ser tudo aquilo que eu sonhei e não sabia que um dia eu poderia ter na minha vida, pelas risadas, pelo carinho e por me apoiar, fazendo essa caminhada ser mais leve. Aos amigos da RepFenda por me acolherem e me mostrar como é possível viver em harmonia em meio a tantas diferenças e diversidades.

A minha avó Maria Rita Valentino que tanto me incentivou e me ajudou a trilhar esse caminho. Obrigado por tanto vó, onde quer que você esteja eu sei que está olhando por nós, essa conquista também é sua. E a todos aqueles que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para esta realização.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A amônia é um importante poluente emitido pela cama de frango que pode se acumular no interior das granjas, prejudicando a saúde e o bem-estar dos animais e a produtividade. O primeiro estudo foi planejado para avaliar as práticas de criação de precisão, como o efeito da ventilação, densidade animal e taxa de crescimento, como opções de manejo para reduzir os efeitos adversos da exposição à amônia nos parâmetros produtivos dos aviários. Duas salas experimentais idênticas foram usadas neste estudo. Elas foram programadas para diferir na concentração de amônia a partir do dia 32 do período de crescimento (10 e 20 ppm na Sala 1 e na Sala 2, respectivamente). Três tratamentos foram testados em cada sala: crescimento lento em alta densidade (CLAD), crescimento rápido em baixa densidade (CRBD) e crescimento rápido em alta densidade (CRAD). O peso dos animais, o consumo de ração e a conversão alimentar foram determinados semanalmente. Além disso, o estado imunológico dos animais foi avaliado pesando os órgãos relacionados à resposta imune como indicadores de estresse. O aumento da ventilação foi eficaz para controlar as concentrações de amônia. A exposição à amônia não causou efeito significativo nos parâmetros produtivos. No entanto, a redução da densidade de alojamento melhorou a resposta a concentrações mais altas de amônia, diminuindo a taxa de conversão alimentar. Nenhum outro efeito relevante da exposição diferencial à amônia foi encontrado em animais de crescimento rápido, seja em alta ou baixa densidade de criação. O uso de linhagens de crescimento lento não afetou os parâmetros de produção. Apesar de terem uma taxa de crescimento mais lenta, sua taxa de conversão alimentar não era diferente daquela das linhagens de crescimento rápido. O desempenho produtivo de animais de crescimento lento não foi afetado pela exposição diferencial à amônia, mas o tamanho reduzido do baço sugere um comprometimento do sistema imunológico.

O objetivo do segundo estudo foi prever o risco de exposição à concentração de amônia na produção de frangos de linhagem de crescimento lento e rápido, com densidade de produção baixa e alta e correlacionar com a incidência de lesões à saúde dos frangos de corte usando abordagem de aprendizado de máquina. Foram utilizadas duas linhagens comerciais de frango de corte, uma de crescimento rápido (Ross®, idade de abate 42 dias) e outra de crescimento lento (Hubbard®, idade de abate 63 dias). Todas as aves de crescimento lento foram alojadas a densidade de 32 kg/m². Já as aves de crescimento rápido foram alojadas em duas densidades de alojamento diferentes: baixa densidade de alojamento com alojamento final de 16 kg/m² e alta densidade, com uma densidade de alojamento final de 32 kg/m². Foram utilizadas neste experimento um total de 1250 aves, sendo 450 de crescimento rápido e 800 da linhagem de

crescimento lento. Em cada sala, 306 aves foram distribuídas aleatoriamente em 18 boxes (6 boxes para cada tratamento, e 17 aves por box), cada uma com 3 bebedouros tipo nipple e um comedouro manual. As dimensões dos boxes de alta densidade eram de 1 x 1,3 m², enquanto os boxes de baixa densidade tiveram o mesmo número de animais alojados em uma maior área, com dimensões de 2 x 1,3 m². As 319 aves restantes foram alojadas aleatoriamente por toda a sala e fora dos boxes para simular uma condição de sistema de produção comercial. Todas as aves foram alimentadas com ração comercial inicial do dia 1 ao dia 18 do experimento e do dia 18 até o final, cada linhagem foi alimentada com diferentes rações de acordo com suas demandas nutricionais. As seguintes etapas de análise de dados foram realizadas: seleção de dados, pré-processamento, transformação, mineração, análise e interpretação de resultados. Os algoritmos de classificação, decision tree (J48), SMO (Sequential Minimal Optimization), Naive Bayes e Multilayer Perceptron foram aplicados ao conjunto de dados de treino e teste para construção de um modelo de regras para a predição dos níveis de risco de amônia na criação dos frangos de corte. A técnica de validação cruzada (cross-validation) foi usada na parametrização da análise em todos os modelos. A partir do banco de dados da primeira fase de análise, com o classificador para prever a condição de risco de concentração de amônia, o coeficiente de correlação de Spearman (ρ , rho), considerando a presença pododermatite, visão/afetada e lesão de mucosa que incluem avaliações de traqueia, brônquios, pulmões, olhos, lesão de patas, outras lesões. uma medida de correlação não-paramétrica foi aplicada aos dados de incidência de lesões em função do nível de risco da amônia (1 e 10 ppm) com objetivo de correlacionar a incidência de lesões e o nível de amônia nas condições estudadas. O melhor modelo preditivo capaz de avaliar e obter melhor desempenho é o Multilayer Perceptron quando consideramos maior acerto por nível de risco de exposição à amônia no processo de produção de frangos de corte, incluindo crescimento rápido e lento. Aves expostas à maiores níveis de concentração de amônia apresentam coeficiente de correlação maior quando forte é a relação entre as variáveis. O coeficiente de correlação de Spearman mostra uma associação mais forte entre maiores riscos de exposição à amônia e a incidência de lesões nos frangos.

Palavras-chave: Amônia; produção de frango; bem-estar animal; saúde animal; sistema imunológico; taxa de ventilação; aprendizado de máquina.

ABSTRACT

Ammonia is an important pollutant emitted by broiler litter that can accumulate inside farms, impairing animal health and welfare productivity. The first study was designed to evaluate of precision husbandry practices such as the effect of ventilation, animal density and growth rate as management options to reduce the adverse effects of ammonia exposure on productive parameters in broiler houses. Two identical experimental rooms were used in this study. They were programmed to differ in ammonia concentration from day 32 of the growing period (10 and 20 ppm in Room 1 and Room 2, respectively). Three treatments were tested in each room: slow growth in high stocking density (SHD), fast growth in low density (FLD) and fast growth in high density (FHD). Animal weight, feed intake and feed conversion ratio were determined weekly. In addition, the immune status of animals was assessed by weighing the organs related to immune response as stress indicators. Increasing ventilation was effective to control ammonia concentrations. Exposure to ammonia caused no significant effect on productive parameters. However, lowering stocking density improved response to higher ammonia concentrations by lowering the feed conversion ratio. No other relevant effects of differential exposure to ammonia were found in fast-growing animals, either at high or low stocking density. The use of slow-growing breeds had no effect on production parameters. Despite having a slower growth rate, their feed conversion ratio was not different from that of fast-growing breeds. The productive performance of slow-growing animals was not affected by the differential exposure to ammonia, but the reduced spleen size would suggest an impairment of the immune system.

The objective of the second study was to predict the risk of exposure to ammonia concentration in the production of slow- and fast-growing breeds of chickens with low and high production density and to correlate it with the incidence of injuries to the health of broilers using a learning approach machine. Two commercial broiler chicken breeds were used, one fast-growing (Ross®, slaughter age 42 days) and the other slow growing (Hubbard®, slaughter age 63 days). All slow-growing birds were stocked at a density of 32 kg/m². Fast growing birds were stocked at two different stocking densities: low stocking density with a final stocking of 16 kg/m² and high stocking density with a final stocking density of 32 kg/m². A total of 1250 birds were used in this experiment, 450 of which were fast-growing and 800 were slow growing. In each room, 306 birds were randomly distributed in 18 boxes (6 boxes for each treatment and 17 birds per box), each with 3 nipple drinkers and a manual feeder. The dimensions of the high-density boxes were 1 x 1.3 m², while the low density boxes. had the same number of animals stocked

in a larger area, with dimensions of 2 x 1.3 m². The remaining 319 birds were randomly stocked throughout the room and outside the pens to simulate a commercial production system condition. All birds were fed initial commercial feed from day 1 to day 18 of the experiment, and from day 18 to the end, each breed was fed different feeds according to their nutritional demands. The following steps of data analysis were performed: data selection, pre-processing, transformation, mining, analysis, and interpretation of results. The classification algorithms, decision tree (J48), SMO (Sequential minimal Optimization), Naive Bayes and Multilayer Perceptron were applied to the training and test datasets to build a model of rules for predicting risk levels of ammonia in broiler rearing. The cross - validation technique was used to parameterize the analysis in all models. From the database of the first phase of analysis, with the classifier to predict the condition of risk of ammonia concentration, the Spearman correlation coefficient (ρ , rho), considering the presence of pododermatitis, vision/affected, and mucosal lesion, which include assessments of the trachea, bronchi, lungs, eyes, paw injuries, and other injuries, a non-parametric correlation measure was applied to the injury incidence data as a function of the risk level of ammonia (1 and 10 ppm) with the aim of correlating the incidence of injuries and the level of ammonia in the studied conditions. The results showed that there is a significant correlation between ammonia concentration and injury incidence, with an increase in ammonia concentration leading to an increase in injury incidence. The best predictive model capable of evaluating and obtaining better performance is the Multilayer Perceptron when we consider greater accuracy by risk level of exposure to ammonia in the broiler production process, including fast and slow growth. Birds exposed to higher levels of ammonia concentration have a higher correlation coefficient when the relationship between the variables is strong. Spearman's correlation coefficient shows a stronger association between higher risks of exposure to ammonia and the incidence of lesions in chickens.

Keywords: Ammonia; broiler production; animal welfare; animal health; immune system; machine learning.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

Figura 1. Vista superior do aviário. A localização dos ventiladores (Vent), registradores de temperatura e umidade relativa (HOBO) e sensores de amônia é indicada.	21
Figura 2. Sala de experimentação com detalhamento da disposição dos compartimentos experimentais.....	23

Capítulo II

Figura 1. Fluxograma de treinamento e teste dos modelos para identificar melhor algoritmo	45
Figura 2. Árvore de decisão J48	49

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Valores médios semanais de temperatura (°C), umidade relativa (%) taxa de ventilação ($m^3 h^{-1} animal^{-1}$) e concentração de amônia (ppm) nos aviários (sala 1 e sala 2).	25
Tabela 2. Evolução do peso dos animais (g por ave) durante a recria (n = 30 animais por tratamento).....	25
Tabela 3. Evolução do consumo de ração (g por animal e semana) durante a recria (n = 30 animais por tratamento).	27
Tabela 4. Evolução da conversão alimentar por semana durante o período de recria (n = 30 animais por tratamento).	28
Tabela 5. Evolução do peso relativo do baço, timo, fígado e bursa Fabricius (g por 1000 g de peso do animal) durante o período de recria.....	32

Capítulo II

Tabela 1. Descrição do critério do atributo risco de concentração de amônia	46
Tabela 2. Desempenho geral dos modelos de classificação	49
Tabela 3. Desempenho dos modelos de classificação por níveis de risco de concentração de amônia	50
Tabela 4. Matriz de confusão dos modelos de predição.....	51
Tabela 5. Correlações de Spearman pareadas	52
Tabela 6. Relação de trabalhos publicados relacionados a concentração de amônia em aviários de frango de corte e de galinhas poedeiras, sistema construtivo e período de vida.	53

SUMÁRIO

Introdução	13
Hipótese	15
Objetivos.....	15
 I – Avaliação de práticas de manejo que podem reduzir os efeitos negativos da exposição a baixas concentrações de amônia em galpões de frangos de corte	17
Resumo	18
1. Introdução	19
2. Material e Métodos	20
2.1 Descrição da instalação.....	20
2.2 Animais e desenho experimental	22
2.3 Desempenho e saúde animal.....	23
2.4 Análise de dados.	24
3. Resultados e Discussão	24
3.1 Controle de parâmetros ambientais.....	24
3.2 Desempenho animal.....	25
3.3 Peso dos órgãos imunes	30
4. Conclusão	32
Referências.....	34
 II. Predição de risco de exposição a concentração de amônia em frangos de corte correlacionados a incidência de doenças	38
Resumo.....	39
1. Introdução.....	41
2. Material e Métodos.....	42
2.1 Experimento.	42
2.2 Abordagem de mineração de dados.....	44
2.3 Medidas de desempenho dos modelos de classificação.	46
2.4 Análise de correlação de Spearman.....	48
3. Resultados	48
4. Discussão.....	52
5. Conclusão	56
Referências	58
 Considerações Finais	64
Referências	65
ANEXOS.....	74

INTRODUÇÃO

Manter um ambiente de criação adequado é essencial na produção de frangos de corte. A concentração de amônia no ar é um dos principais fatores que prejudicam a saúde, o bem-estar e a produtividade dos frangos de corte. A exposição de animais a altos níveis de amônia causa irritação das membranas mucosas e do trato respiratório, conjuntivite e dermatite (KEARNEY et al., 2014; KRISTENSEN; WATHES, 2000; NEMER et al., 2015; TASISTRO; RITZ; KISSEL, 2007).

Os animais expostos à amônia reduzem o consumo de ração e, consequentemente, a produtividade é prejudicada, resultando em menor taxa de crescimento, maior mortalidade e piores taxas de conversão alimentar (BEKER et al., 2004; MILES et al., 2006; MILES; BRANTON; LOTT, 2004; PURSWELL et al., 2013). Também foi demonstrado que altas concentrações de amônia influenciam indiretamente a expressão gênica, afetando a resposta imune e a produtividade em termos de desempenho de abate e rendimento de peito (WEI et al., 2015; YI et al., 2016).

Por essas razões, os regulamentos de bem-estar estabelecem um limite de concentração para amônia de 20 ppm de acordo com a Diretiva Europeia 2007/43/CE.

No entanto, as implicações de níveis abaixo de 20 ppm ao longo do ciclo de produção de frangos de corte não são bem conhecidas. A maioria dos estudos não relata efeitos relevantes em concentrações inferiores a 20 ppm. No entanto, há evidências de que a resposta dos animais começa em concentrações mais baixas. Foi descrito que concentrações de 15 ppm não afetaram o desempenho em termos de crescimento, mas induziram uma resposta anti-inflamatória no íleo e alteraram a microbiota traqueal, causando lesões no trato respiratório (ZHOU et al., 2020, 2021). Portanto, é necessário compreender os efeitos de concentrações inferiores a 20 ppm.

Práticas de manejo de precisão são ferramentas úteis para reduzir os impactos negativos da exposição à amônia. O uso de animais mais resistentes, a redução da densidade de alojamento ou o aumento das taxas de ventilação são práticas eficazes nas granjas. A taxa de crescimento e a densidade animal estão relacionadas com a resiliência animal. Frangos de crescimento lento são mais saudáveis e expressam mais indicadores comportamentais de bem-estar positivo (RAYNER et al., 2020).

Além disso, foi relatado que animais de crescimento lento apresentam maior magnitude da resposta imune inata a infecções (MANSWR et al., 2021).

Portanto, pode-se esperar que frangos com menor taxa de crescimento sejam mais resistentes contra a exposição à amônia e menos afetados em termos de bem-estar, saúde e produtividade. No entanto, os autores desconhecem a existência de informações sobre como a exposição à amônia afeta os frangos de corte de crescimento lento de maneira diferente das linhagens de frangos de corte convencionais. O efeito da densidade de alojamento no desempenho de frangos de corte foi descrito na literatura, mas o efeito interativo da densidade de alojamento com a exposição à amônia não está claro (ABOUELENIEN et al., 2016).

Soluções de engenharia também estão disponíveis para controlar as concentrações de amônia em granjas de frangos de corte. A concentração de amônia no ar interno é, portanto, influenciada pela taxa de ventilação e renovação do ar. A amônia provém da quebra do ácido úrico excretado pelos frangos de corte (FERGUSON et al., 1998). A taxa de emissão depende da umidade da cama, e o conteúdo de N da cama tende a aumentar à medida que a excreta é acumulada no material da cama (MILES; ROWE; CATHCART, 2011). Uma vez emitida, a amônia se acumula no interior dos aviários até ser liberada para a atmosfera através do sistema de ventilação. O ajuste da ventilação é um mecanismo estratégico para manter uma adequada qualidade do ar interior. É possível ajustar a ventilação para obter a qualidade do ar interno adequada, mas isso normalmente envolve maior consumo de energia (COSTANTINO et al., 2020). Portanto, os produtores precisam ter evidências claras dos benefícios do bem-estar e produtividade ao se manter as concentrações de amônia abaixo de determinados limites.

As emissões atmosféricas são um dos maiores desafios enfrentados pelos sistemas agrícolas. Os sistemas agrícolas são as principais fontes de emissão de NH_3 para a atmosfera (TI et al., 2019). O monitoramento das emissões de amônia requer estimativas precisas de tipos de sistemas de ventilação, detecção de amônia durante o processo de produção e estratégias de mitigação. Existem grandes variações nas emissões de amônia entre galpões ou tipos de sistemas, idades das aves, lotes e linhagens (NICHOLSON et al., 2004; PESCATORE et al., 2005).

A amônia é o principal gás poluente emitido pelas instalações avícolas como resultado da degradação microbiana do ácido úrico presente no esterco das aves (NICHOLSON et al., 2004; ZHAO et al., 2016). Os fatores principais que afetam as emissões de NH_3 durante o processo de produção incluem temperatura, teor de umidade, pH, taxas de ventilação, gerenciamento de cama e o tipo de processo de compostagem. Além disso, danos ambientais podem ser causados após a deposição de amônia por toxicidade direta. No entanto, estratégias de mitigação são eficazes na redução da emissão de NH_3 (TI et al., 2019).

Um parâmetro importante, mas ainda desafiador, na determinação das emissões de amônia em função da concentração de gás e taxa de ventilação é a determinação precisa da taxa de ventilação da instalação, especialmente em instalações com ventilação natural (OLIVEIRA et al., 2021).

É muito importante para a produção avícola quantificar, verificar e estudar as estimativas de concentração de amônia no processo de produção. Além disso, estimativas precisas de emissões e concentrações a partir de diferentes linhagens para avaliar o impacto no desempenho e na saúde das aves.

Outra ferramenta que vem sendo empregada na avicultura industrial é a mineração de dados. Através da interpretação dos dados é possível prever com um alto nível de confiabilidade os riscos de lesões provocadas pela exposição a diferentes concentrações de amônia. Desse modo as árvores de decisão, que também são conhecidas como árvores de regressão e classificação, podem ser utilizadas como excelentes ferramentas na obtenção de resultados com precisão conhecida de forma rápida e compreensível (SUTTON, 2005).

Hipótese

A concentração de amônia abaixo das práticas recomendadas de manejo (20ppm) afeta de forma diferente os parâmetros produtivos das linhagens de crescimento lento e rápido, alojadas em diferentes densidades.

Objetivos

- **Objetivo geral:**

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de práticas de manejo como a ventilação, densidade e taxa de crescimento sobre a produtividade, desempenho e parâmetros fisiológicos durante um ciclo de criação de frango de corte e a partir desses dados obtidos, avaliar a aplicação do aprendizado de máquinas e sua capacidade de predizer condições de risco a exposição a diferentes concentrações de amônia.

- **Objetivos específicos:**

I - O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de duas concentrações de amônia (10 e 20 ppm), duas linhagens de frangos de corte (crescimento rápido vs. lento) e densidade de alojamento (13 vs. 6,5 frangos/m²) na produtividade, desempenho e parâmetros fisiológicos durante um ciclo de criação.

II - Desenvolver um modelo de aprendizado de máquina capaz de prever a condição de risco da concentração de amônia na produção de frangos de linhagem de crescimento lento e rápido, com densidade de produção baixa e alta.

CAPÍTULO I

ARTIGO 1- AVALIAÇÃO DE PRÁTICAS DE MANEJO QUE PODEM REDUZIR OS EFEITOS NEGATIVOS DA EXPOSIÇÃO A BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIA EM GALPÕES DE FRANGOS DE CORTE

Este capítulo está escrito em forma de artigo e nas normas da revista *Animals*, na qual o artigo se encontra publicado.

AVALIAÇÃO DE PRÁTICAS DE MANEJO QUE PODEM REDUZIR OS EFEITOS NEGATIVOS DA EXPOSIÇÃO A BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIA EM GALPÕES DE FRANGOS DE CORTE

Resumo

A amônia é um importante poluente emitido pela cama de frango que pode se acumular no interior das granjas, prejudicando a saúde e o bem-estar dos animais e a produtividade. Um experimento foi planejado para avaliar as práticas de criação de precisão, como o efeito da ventilação, densidade animal e taxa de crescimento, como opções de manejo para reduzir os efeitos adversos da exposição à amônia nos parâmetros produtivos dos aviários. Duas salas experimentais idênticas foram usadas neste estudo. Elas foram programadas para diferir na concentração de amônia a partir do dia 32 do período de crescimento (10 e 20 ppm na Sala 1 e na Sala 2, respectivamente). Três tratamentos foram testados em cada sala: crescimento lento em alta densidade (CLAD), crescimento rápido em baixa densidade (CRBD) e crescimento rápido em alta densidade (CRAD). O peso dos animais, o consumo de ração e a conversão alimentar foram determinados semanalmente. Além disso, o estado imunológico dos animais foi avaliado pesando os órgãos relacionados à resposta imune como indicadores de estresse. O aumento da ventilação foi eficaz para controlar as concentrações de amônia. A exposição à amônia não causou efeito significativo nos parâmetros produtivos. No entanto, a redução da densidade de alojamento melhorou a resposta a concentrações mais altas de amônia, diminuindo a taxa de conversão alimentar. Nenhum outro efeito relevante da exposição diferencial à amônia foi encontrado em animais de crescimento rápido, seja em alta ou baixa densidade de criação. O uso de linhagens de crescimento lento não afetou os parâmetros de produção. Apesar de terem uma taxa de crescimento mais lenta, sua taxa de conversão alimentar não era diferente daquela das linhagens de crescimento rápido. O desempenho produtivo de animais de crescimento lento não foi afetado pela exposição diferencial à amônia, mas o tamanho reduzido do baço sugere um comprometimento do sistema imunológico.

Palavras-chave: bem-estar animal; saúde animal; sistema imunológico; parâmetros produtivos; gerenciamento

1. Introdução

Manter um ambiente de criação adequado é essencial na produção de frangos de corte. A concentração de amônia no ar é um dos principais fatores que prejudicam a saúde, o bem-estar e a produtividade dos frangos de corte. A exposição de animais a altos níveis de amônia causa irritação das membranas mucosas e do trato respiratório, conjuntivite e dermatite [1–4]. Os animais expostos à amônia reduzem o consumo de ração e, conseqüentemente, a produtividade é prejudicada por menor taxa de crescimento, maior mortalidade e piores taxas de conversão alimentar [5-8]. Também foi demonstrado que altas concentrações de amônia influenciam indiretamente a expressão gênica, afetando a resposta imune [9] e a produtividade em termos de desempenho de abate e rendimento de peito [10]. Por essas razões, os regulamentos de bem-estar estabelecem um limite de concentração para amônia de 20 ppm de acordo com a Diretiva Europeia 2007/43/CE.

No entanto, as implicações de níveis abaixo de 20 ppm ao longo do ciclo de produção de frangos de corte não são bem conhecidas. A maioria dos estudos não relata efeitos relevantes em concentrações inferiores a 20 ppm. No entanto, há evidências de que a resposta dos animais começa em concentrações mais baixas. Foi descrito que concentrações de 15 ppm não afetaram o desempenho do crescimento, mas induziram uma resposta anti-inflamatória no íleo e alteraram a microbiota traqueal, causando lesões no trato respiratório [11,12]. Portanto, é necessário compreender os efeitos de concentrações inferiores a 20 ppm.

Práticas de manejo de precisão são ferramentas úteis para reduzir os impactos negativos da exposição à amônia. Animais mais resistentes, redução da densidade de animal de alojamento ou aumentando as taxas de ventilação são práticas eficazes nas granjas. A taxa de crescimento e a densidade animal estão relacionadas com a resiliência animal. Frangos de crescimento lento são mais saudáveis e expressam mais indicadores comportamentais de bem-estar positivo [13]. Além disso, foi relatado que animais de crescimento lento apresentam maior magnitude da resposta imune inata a infecções [14]. Portanto, pode-se esperar que frangos com menor taxa de crescimento sejam mais resistentes contra a exposição à amônia e menos afetados em termos de bem-estar, saúde e produtividade. No entanto, os autores desconhecem a existência de informações sobre como a exposição à amônia afeta os frangos de corte de crescimento lento de maneira diferente das linhagens de frangos de corte convencionais. O efeito da densidade de alojamento no desempenho de frangos de corte foi descrito na literatura [15], mas o efeito interativo da densidade de alojamento com a exposição à amônia não está claro.

Soluções de engenharia também estão disponíveis para controlar as concentrações de amônia em granjas de frangos de corte. A concentração de amônia no ar interno é, portanto, influenciada pela taxa de ventilação e renovação do ar. A amônia provém da quebra do ácido úrico excretado pelos frangos de corte [16]. A taxa de emissão depende da umidade da cama, e o conteúdo de N da cama tende a aumentar à medida que a excreta é acumulada no material da cama [17]. Uma vez emitida, a amônia se acumula no interior dos aviários até ser liberada para a atmosfera através do sistema de ventilação. O ajuste da ventilação é um mecanismo estratégico para manter uma adequada qualidade do ar interior. É possível ajustar a ventilação para obter a qualidade do ar interno adequada, mas isso normalmente envolve maior consumo de energia [18]. Portanto, os produtores precisam ter evidências claras dos benefícios do bem-estar e produtividade de manter as concentrações de amônia abaixo de determinados limites.

A hipótese que motiva este estudo é de que pode haver benefícios adicionais na redução de fatores estressantes (exposição à amônia, densidade animal ou taxa de crescimento) abaixo da prática comum na granja. No entanto, são escassas as informações que quantificam esses efeitos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de duas concentrações de amônia (10 e 20 ppm), duas linhagens de frangos de corte (crescimento rápido vs. lento) e densidade de alojamento (13 vs. 6,5 frangos/m²) na produtividade, desempenho e parâmetros fisiológicos durante um ciclo de criação.

2. Material e Métodos

2.1. Descrição da instalação

O experimento foi conduzido de acordo com os regulamentos de pesquisa animal da UE, com o protocolo número 2018/VSC/PEA/0067. O estudo foi realizado no Centro de Tecnologia e Pesquisa Animal (CITA-IVIA), localizado em Segorbe, (Castellón, Espanha). Duas salas idênticas (Sala 1 e Sala 2) foram usadas neste ensaio. Cada cômodo tinha dimensão de 13,2 m × 5,95 m e ventilação mecânica independente através de ventiladores de teto (Figura 1).

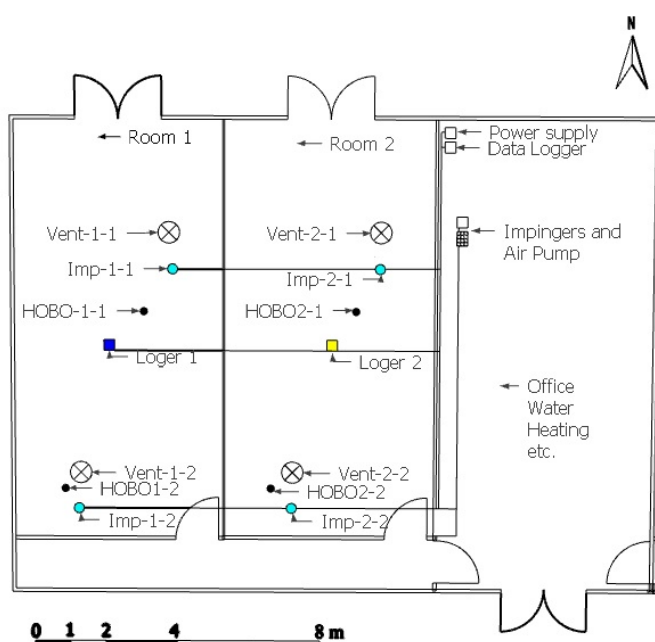
Um sistema automatizado de controle climático (DNP Climate Controller, Exafan, Espanha) regulou as taxas de ventilação de acordo com as recomendações de temperatura da linhagem comercial. A temperatura ambiente diminuiu gradativamente de 32 °C (dia 1) para 19 °C (dia 42). A temperatura foi controlada usando o sensor do controlador climático e foi registrada junto com a umidade relativa a cada 10 minutos usando um registrador de dados (HOBO U12, Onsetcomp, Bourne, MA, EUA). Além disso, cada sala foi equipada com um

sensor eletroquímico de amônia (DOL 53, Dräger, Alemanha). A localização desses sensores é apresentada na Figura 1.

A amônia foi estabelecida como critério para operar a ventilação. Na Sala 1, a ventilação foi programada para manter no máximo 10 ppm de amônia, enquanto na Sala 2 foi programada para atingir no máximo 20 ppm. Essas condições de concentração foram programadas para serem mantidas a partir da quarta semana, ou seja, na segunda metade do ciclo de produção, que é quando os níveis de amônia costumam ser mais elevados dentro das granjas. Desde o início do período de crescimento até a 4ª semana de idade, ambas as salas foram ventiladas seguindo um programa idêntico baseado no controle de temperatura e idade do animal. Um aquecedor de propano foi usado para manter a temperatura ambiente adequada. Maravalha (5 cm) foi utilizada como material de cama.

O experimento foi conduzido no inverno, quando se esperava que as concentrações de gás fossem maiores devido às menores taxas de ventilação. A fim de promover as emissões de NH_3 e atingir as concentrações desejadas de amônia, uma solução de ureia foi aplicada à cama. A ureia foi aplicada manualmente com pulverizador costal nos dias 32, 39, 51 e 56 do período de crescimento na dose de $0,21 \text{ L m}^{-2}$ de solução de ureia em água destilada.

Figura 1. Vista superior do aviário. A localização dos ventiladores (Vent), registradores de temperatura e umidade relativa (HOBO) e sensores de amônia é indicada



2.2. Animais e desenho experimental

Foram utilizadas duas linhagens comerciais, diferindo na taxa de crescimento. A linhagem de crescimento rápido foi a Ross®, com idade de abate de 42 dias. A linhagem de crescimento lento foi a Hubbard®, com idade de abate de 63 dias. Três tratamentos foram testados. O primeiro tratamento (LAD) consistiu em aves de crescimento lento estocadas em alta densidade (32 kg/m² na idade de abate). O segundo tratamento (RAD) consistiu em aves de crescimento rápido em alta densidade (32 kg/m² na idade de abate). O terceiro tratamento (RBD) consistia em aves de crescimento rápido com densidade final de 16 kg/m².

A dieta foi fornecida ad libitum. Ambas as linhagens comerciais receberam uma dieta comercial. A ração para a linhagem de crescimento rápido alojada em alta e baixa densidade consistia na Nanta A80, e para a linhagem de crescimento lento, Nanta A32.

Em cada sala foram instaladas 18 baias coletivas para alocar 6 repetições de cada tratamento. Cada baia foi fornecida com 3 bebedouros tipo nipple e um comedouro manual, alojando um total de 17 aves. As dimensões das baias de alta densidade, correspondentes aos tratamentos LAD e RAD, eram de 1 × 1,3 m², enquanto as baias de baixa densidade (correspondentes ao RBD) tinham o mesmo número de animais no dobro da área de superfície (2 × 1,3 m²). Portanto, em cada sala, 204 aves de crescimento rápido e 102 de crescimento lento foram alojadas dentro das baias. Como as baias ocupavam apenas uma parte de cada sala, 319 frangos de corte foram alocados no espaço externo das baias em cada sala. Isso foi estabelecido para simular as condições ambientais reais dentro de um aviário de frangos de corte, onde a amônia é proveniente principalmente da cama. Portanto, um total de 625 aves foram utilizadas em cada sala. Todas as aves foram alimentadas com ração inicial comercial do dia 1 ao dia 18 do teste, e do dia 18 até o final do teste, cada linhagem foi alimentada com rações diferentes de acordo com suas demandas (Figura 2).

Figura 2. Sala de experimentação com detalhamento da disposição dos compartimentos experimentais



2.3. Desempenho e saúde animal

Todos os animais alojados nas baias foram pesados semanalmente. O consumo de ração também foi medido em cada baia semanalmente. Posteriormente, foi calculado o ganho de peso médio diário (GPD) por ave para cada semana de criação e o acumulado durante o teste (42 dias RBD e RAD e 63 para LAD). A taxa de conversão alimentar (CA) também foi calculada para cada semana e a conversão alimentar acumulada (CAA), dividindo a quantidade de ração consumida por cada baia pelo ganho de peso de todas as aves alojadas nessa baia.

Trinta animais por tratamento foram abatidos nos dias 21 e 42 para medir o peso dos órgãos relacionados com o sistema imunológico. Animais de crescimento lento também foram amostrados no dia 63. Os animais foram abatidos com insensibilização elétrica. Os órgãos imunológicos retirados de cada animal foram o baço, a glândula timo, o fígado e a bolsa de Fabricius. Os órgãos foram pesados em balança de precisão (Ohaus Pioneer, PX, Nanikon, Suíça). Posteriormente, foram feitas relações de peso de cada órgão de acordo com o peso da ave proveniente para verificar distúrbios fisiológicos e anatômicos nos órgãos do sistema imunológico. No dia 63, a bolsa de Fabricio não pôde ser obtida devido ao seu pequeno tamanho ou inexistência, pois esse órgão tende a desaparecer com o crescimento dos animais.

2.4. Análise de dados

Os valores registrados de temperatura ambiente, taxa de ventilação e concentração de amônia foram integrados aos valores médios diários apresentados para fins descritivos.

Os dados do estudo mostraram uma distribuição normal para as médias das estimativas do teste. A análise estatística de cada variável medida foi realizada por semana de idade e acumulada ao longo do período de crescimento. Uma análise ANOVA de uma via foi realizada usando o software Satgraphics Centurion XVIII, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_i$$

onde: Y_{ijk} = variável estudada (semana ou valor acumulado).

μ = média geral.

T_i = tratamento (Sala 1 LAD, Sala 2 LAD, Sala 1 RAD, Sala 2 RAD, Sala 1 RBD, Sala 2 RBD).

ε_i = erro residual.

3. Resultados e Discussão

3.1. Controle de parâmetros ambientais

As condições ambientais (temperatura, umidade relativa, concentração de amônia e taxa de ventilação) durante o experimento são apresentadas na Tabela 1. Como ambas as salas tinham número de animais e manejo idênticos, essa diferença de concentração foi promovida pelo aumento da ventilação na Sala 1 em comparação com a Sala 2.

A temperatura do ar (Tabela 1) seguiu as recomendações para as linhagens de frangos de corte utilizadas neste estudo. Ambas as salas tiveram uma temperatura semelhante durante as primeiras quatro semanas. No entanto, a partir da semana 5, as taxas de ventilação mais altas na Sala 1 fizeram com que sua temperatura média fosse reduzida em 1,7 °C em média. No entanto, a diferença de 1,7 °C foi obtida na média geral de todas as semanas estudadas. Nas duas primeiras semanas, que são as mais críticas, essa diferença não chegou a 0,3 °C, portanto, as duas salas eram praticamente idênticas nas condições de temperatura, não sendo suficiente para causar diferenças no desempenho das aves. A umidade relativa foi muito semelhante entre as salas. Durante as quatro semanas iniciais, a ventilação foi mantida elevada e foi detectada concentração de amônia próxima a zero (Tabela 1). Da semana 5 até o final do experimento, o sistema de controle climático foi operado para criar a diferença desejada na concentração de amônia, com média de 8,27ppm na Sala 1 e 17,1ppm na Sala 2.

Tabela 1. Valores médios semanais de temperatura (°C), umidade relativa (%), taxa de ventilação ($\text{m}^3 \text{h}^{-1} \text{animal}^{-1}$) e concentração de amônia (ppm) nos aviários (sala 1 e sala 2)

	Temperatura (°C)		Umidade relativa (%)		Taxa de ventilação ($\text{m}^3 \text{h}^{-1} \text{animal}^{-1}$)		Concentração de NH_3 (ppm)	
	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2
Semana 1	33,1	33,0	22,1	22,9	0,8	0,3	0,0	0,0
Semana 2	29,8	29,5	29,4	31,7	4,2	3,7	0,0	0,0
Semana 3	27,0	26,3	29,1	31,5	5,5	5,8	0,0	0,0
Semana 4	24,7	23,8	29,5	30,5	6,5	7,7	0,0	0,0
Semana 5	21,9	22,8	46,4	50,7	3,9	3,5	0,3	6,5
Semana 6	20,3	22,0	54,1	59,2	3,5	2,5	4,5	19,0
Semana 7	19,7	22,2	55,9	61,1	5,0	2,6	9,0	20,4
Semana 8	20,4	21,7	48,4	50,8	6,5	3,7	12,5	14,4
Semana 9	19,9	21,5	51,1	54,7	6,8	4,4	10,1	16,1

3.2. Desempenho animal

A evolução do peso dos animais é apresentada na Tabela 2. Como esperado, os animais de crescimento lento tiveram peso inferior aos de crescimento rápido da mesma idade desde as fases iniciais do período de crescimento. Durante a primeira semana, algumas diferenças foram encontradas entre os tratamentos, o que pode estar relacionado à escolha aleatória dos animais no início do experimento. Também foram encontradas diferenças nas semanas 3 e 4 entre animais de crescimento lento em ambas as salas. Nessas semanas, os animais alojados na Sala 1 tinham peso inferior aos da Sala 2. Não foram encontradas mais diferenças entre os animais de crescimento lento do dia 35 até o final do experimento. Para frangos de corte de crescimento rápido, não foram detectadas diferenças de peso entre os tratamentos a partir do dia 14 para animais mantidos em alta ou baixa densidade.

Tabela 2. Evolução do peso dos animais (g por ave) durante a recria (n = 30 animais por tratamento)

Idade (dias)	Tratamento LAD		Tratamento RAD		Tratamento RBD		SE	p-Valor
	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2		
7	134,4 ^a	144,8 ^{ab}	164,4 ^a	151,1 ^{bc}	160,4 ^{cd}	160,5 ^{cd}	3,9	≤ 0,05
14	338,8 ^a	307,4 ^a	390,3 ^b	436,1 ^b	419,5 ^b	437,7 ^b	16,6	≤ 0,05
21	525,8 ^a	563,3 ^b	775,4 ^c	801,1 ^c	780,6 ^c	797,7 ^c	11,9	≤ 0,05
28	853,8 ^a	960,8 ^b	1242,7 ^c	1226,5 ^c	1239,2 ^c	1227,9 ^c	29,8	≤ 0,05
35	1294,1 ^a	1302,2 ^a	1840,8 ^b	1779,3 ^b	1825,9 ^b	1750,7 ^b	35,2	≤ 0,05
42	1769,0 ^a	1801,1 ^a	2527,3 ^b	2415,0 ^b	2475,6 ^b	2446,6 ^b	53,8	≤ 0,05
49	2192,0 ^a	2276,3 ^a	-	-	-	-	69,1	0,40
56	2676,8 ^a	2776,0 ^a	-	-	-	-	94,8	0,48
63	3127,7 ^a	3275,2 ^a	-	-	-	-	103,0	0,35

Letras diferentes dentro de uma mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. LAD = crescimento lento e alta densidade; RAD= crescimento rápido e alta densidade; RBD= crescimento rápido e baixa densidade. SE= erro padrão. A Sala 1 foi programada para atingir o máximo de 10 ppm NH_3 e a Sala 2 para o máximo de 20 ppm NH_3

A Tabela 3 mostra o consumo de ração por tratamento e semana. Entre os animais de crescimento lento, as diferenças entre as salas foram encontradas apenas do dia 35 ao dia 42, quando os animais da Sala 2 consumiram mais ração do que na Sala 1. Não foram encontradas diferenças entre as salas para animais de crescimento rápido mantidos em alta densidade. No entanto, o consumo de ração foi maior na semana 5 para animais de baixa densidade na Sala 2 em comparação com a Sala 1. O consumo de ração acumulado no final do período de crescimento foi maior para animais de crescimento lento (6,42 e 6,79 na Sala 1 e na Sala 2, respectivamente) do que para animais de crescimento rápido, tanto em alta densidade (5,35 e 5,33 na Sala 1 e Sala 2, respectivamente) quanto em baixa densidade (5,03 e 4,71 na Sala 1 e Sala 2, respectivamente). Em resumo, os animais de crescimento lento consumiram menos ração por semana, mas tiveram maior consumo de ração no final do período de crescimento, pois sua vida útil foi três semanas a mais (63 dias para animais de crescimento lento e 42 dias para animais de crescimento rápido). Comparando os animais de crescimento rápido, os animais mantidos em menor densidade e maior concentração de amônia (Sala 2) apresentaram menor consumo de ração no final do período de crescimento.

Tabela 3. Evolução do consumo de ração (g por animal e semana) durante a recria (n = 30 animais por tratamento)

Idade (dias)	Tratamento LAD		Tratamento RAD		Tratamento RBD		SE	p -Valor
	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2		
7	0,116 ^a	0,113 ^a	0,136 ^b	0,132 ^b	0,132 ^b	0,128 ^b	0,004	≤ 0,05
14	0,256 ^a	0,255 ^a	0,368 ^b	0,373 ^b	0,350 ^b	0,370 ^b	0,008	≤ 0,05
21	0,518 ^a	0,490 ^a	0,732 ^b	0,693 ^b	0,703 ^b	0,627 ^b	0,037	≤ 0,05
28	0,672 ^a	0,664 ^a	1,155 ^b	1,184 ^b	1,135 ^b	1,038 ^b	0,068	≤ 0,05
35	0,677 ^a	0,682 ^a	1,452 ^c	1,445 ^c	1,430 ^c	1,114 ^b	0,048	≤ 0,05
42	0,814 ^a	0,978 ^b	1,506 ^d	1,506 ^d	1,287 ^c	1,438 ^{cd}	0,056	≤ 0,05
49	0,976 ^a	1,032 ^a	-	-	-	-	0,030	0,22
56	1,155 ^a	1,242 ^a	-	-	-	-	0,050	0,20
63	1,236 ^a	1,333 ^a	-	-	-	-	0,050	0,19

Letras diferentes dentro de uma mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. LAD = crescimento lento e alta densidade; RAD = crescimento rápido e alta densidade; RBD = crescimento rápido e baixa densidade. SE = erro padrão. A Sala 1 foi programada para atingir no máximo 10 ppm de NH₃ e a Sala 2 para no máximo 20 ppm de NH₃

A Tabela 4 mostra a evolução da conversão alimentar em função da idade das aves.

Para o mesmo tratamento, não foram encontradas diferenças entre a Sala 1 e a Sala 2. Observou-se que tanto os animais de crescimento rápido quanto os de crescimento lento mantidos em alta densidade tiveram uma taxa de conversão alimentar semelhante no final do período de crescimento. Isso significa uma redução proporcional na taxa de crescimento animal e no consumo de ração de animais de crescimento lento em comparação com animais de crescimento rápido. No entanto, animais de crescimento rápido mantidos em baixa densidade tiveram uma taxa de conversão mais baixa, principalmente naqueles animais submetidos a concentrações mais altas de amônia (Sala 2). Para a conversão alimentar acumulada aos 28 dias de idade, foram obtidos valores de 1,90 para LAD, 2,00 para RAD e 1,96 para RBD alojados na Sala 1, e 1,66 para LAD, 2,01 para RAD e 1,82 para RBD alojados na Sala 2. Aos 42 dias de idade, foram obtidos os seguintes valores: 1,76 para LAD, 2,16 para RAD e 2,09 para RBD alojados na Sala 1, e 1,80 para LAD, 2,25 para RAD e 1,96 para RBD alojados na Sala 2.

Tabela 4. Evolução da conversão alimentar por semana durante o período de recria (n = 30 animais por tratamento)

Idade (dias)	Tratamento LAD		Tratamento RAD		Tratamento RBD		SE	p -Valor
	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2		
7	1,21 ^{ab}	1,07 ^a	1,12 ^{ab}	1,27 ^b	1,13 ^{ab}	1,10 ^a	0,05	0,10
14	1,56 ^b	1,59 ^b	1,38 ^a	1,32 ^a	1,36 ^a	1,39 ^a	0,05	≤ 0,05
21	2,22 ^b	1,94 ^{ab}	2,11 ^{ab}	1,92 ^{ab}	2,01 ^{ab}	1,77 ^a	0,12	0,17
28	2,01 ^{ab}	1,74 ^a	2,53 ^c	2,79 ^c	2,53 ^{bc}	2,39 ^{bc}	0,18	≤ 0,05
35	1,60 ^a	2,06 ^{ab}	2,44 ^{bc}	2,63 ^c	2,45 ^{bc}	2,09 ^{ab}	0,18	≤ 0,05
42	1,72 ^a	2,06 ^{ab}	2,20 ^b	2,30 ^b	2,02 ^{ab}	2,16 ^b	0,12	≤ 0,05
49	2,46 ^a	2,28 ^a	-	-			0,26	0,63
56	2,39 ^a	2,51 ^a	-				0,07	0,25
63	2,76 ^a	2,69 ^a	-				0,11	0,66

Letras diferentes dentro de uma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. LAD= crescimento lento e alta densidade; RAD= crescimento rápido e alta densidade; RBD= crescimento rápido e baixa densidade. A Sala 1 foi programada para atingir no máximo 10 ppm de NH₃ e a Sala 2 para no máximo 20 ppm de NH₃

Uma exposição diferente a concentração de amônia entre a sala 1 e a sala 2 foi obtida usando diferentes estratégias de gerenciamento de ventilação. Embora o experimento tenha sido planejado em condições de inverno, onde taxas de ventilação mais baixas são necessárias, a concentração de amônia foi insignificante até o dia 32 do período de crescimento. O material da cama permaneceu muito seco para gerar emissões significativas de NH₃, portanto, no dia 32, foi aplicada uma solução de ureia em ambas as salas para aumentar a produção de amônia. Como a mesma taxa de ureia foi usada em ambas as salas, não se esperava que isso atrapalhasse os resultados do experimento e fosse eficaz em produzir uma quantidade controlada de amônia nas salas. Uma vez gerada a amônia, o efeito diferencial da ventilação originou diferentes concentrações de amônia até o final do período de crescimento. Portanto, a exposição à amônia diferencial ocorreu durante os últimos 10 dias para os animais de crescimento rápido e a segunda metade do período de crescimento para os animais de crescimento lento. Essas condições podem ser representativas da produção de frangos de corte quando se utiliza uma nova cama, uma vez que as concentrações de amônia são baixas durante as primeiras semanas do período de criação [19].

A ventilação operada pelo sensor de amônia foi eficaz para controlar as concentrações de amônia. Até o dia 32, ambas as salas operaram com ventilação semelhante (menos de 2% de diferença em média). No entanto, a partir desse dia, a sala 1 teve em média 59% mais ventilação do que a sala 2. Isso ocorre concomitantemente com a menor concentração de amônia registrada, que foi 51% menor na sala 1.

A ventilação tem sido relatada como uma forma eficaz de reduzir a concentração interna de amônia; esta estratégia envolve mais consumo de energia. Uma fazenda comercial poderia manter as concentrações de gás abaixo dos limites regulamentares (20ppm) aumentando a ventilação, mas isso envolveria aumentar o consumo de eletricidade e calor em 10% e 14%, respectivamente. O uso da ventilação para manter os valores de concentração mais baixos acarretaria custos de energia mais altos, bem como a manutenção do instrumento, e esses custos provavelmente aumentariam exponencialmente à medida que o valor alvo fosse reduzido. Portanto, os esforços para manter as concentrações abaixo das relatadas devem ser claramente apoiados em termos de produtividade, saúde e bem-estar [18].

Neste estudo, não foi encontrado efeito significativo da exposição à concentração de amônia em frangos de corte mantidos em condições convencionais (animais de crescimento rápido mantidos em alta densidade de criação). Animais em melhores condições ambientais tendem a crescer mais rápido com consumo de ração semelhante, o que resulta em uma taxa de conversão ligeiramente melhor. Essas diferenças numéricas estão de acordo com a hipótese deste estudo. Dependendo do fator de estresse, os órgãos relacionados à imunidade diminuiriam ou aumentariam de tamanho. No caso de estresse devido à exposição à amônia, o fígado, o baço e a bolsa de fabricio estariam menos desenvolvidos [20]. No entanto, não foram encontradas diferenças neste estudo.

A exposição a concentrações diferentes de amônia por apenas 10 dias pode ser uma das respostas para que as diferenças sejam pequenas e não possam ser detectadas neste experimento. Os efeitos da amônia nos animais dependem do tempo de exposição [4] e, portanto, é necessário explorar o efeito de tempos de exposição mais longos, que também podem afetar os frangos de corte nos estágios iniciais de sua vida.

Uma concentração de amônia abaixo de 20ppm não parece ter um efeito claro sobre os parâmetros produtivos, e resultados semelhantes foram encontrados em outros experimentos [11,21]. Parece que a exposição a baixas concentrações de amônia pode influenciar algumas condições relacionadas à saúde e bem-estar [12], mas esses distúrbios não são suficientes para produzir mudanças visíveis no desempenho. De acordo com os resultados, parece que a ausência de um efeito de baixas concentrações de amônia nos parâmetros produtivos também se aplica a linhagens de crescimento lento e animais mantidos em uma densidade de alojamento mais baixa.

Este estudo também não encontrou um efeito significativo da densidade de alojamento no crescimento animal para aves de crescimento rápido. No entanto, descobriu-se que os animais reduziram o consumo de ração e melhoraram a taxa de conversão alimentar,

principalmente para animais mantidos em concentrações mais altas de amônia. Melhorias na redução da densidade populacional foram relatadas na literatura [22,23], mas o efeito interativo da concentração de amônia não foi relatado. Parece que a redução da densidade populacional pode facilitar a resposta dos animais a condições ambientais adversas, embora o tratamento de alta densidade neste estudo não tenha sido suficientemente alto para provocar diferenças mais relevantes, como as obtidas em estudos anteriores [15,24].

A diferença nos parâmetros produtivos entre linhagens de crescimento lento e rápido foi evidente. Entretanto, a taxa de conversão alimentar não diminuiu quando se utilizou a linhagem de crescimento lento neste experimento, o que é relevante em termos de eficiência no uso de recursos. Animais de crescimento lento foram expostos por mais tempo (31 dias) a diferentes concentrações de amônia do que animais de crescimento rápido (apenas 10 dias) e, portanto, seriam esperadas diferenças mais significativas. No entanto, parâmetros produtivos muito semelhantes foram encontrados para animais de crescimento lento mantidos em 10 ou 20ppm. A única diferença detectada foi o peso relativo do baço no final do período de crescimento. O menor peso do baço em animais mantidos em maiores concentrações de amônia apoiaria a hipótese de que fatores estressores reduzem os órgãos imunes [20], mas isso não se traduziu em resultados produtivos diferentes.

Os resultados deste estudo indicam que as práticas de criação podem melhorar as condições de crescimento animal com relação aos requisitos mínimos legais. Essas condições melhoradas, no entanto, têm um impacto relativamente baixo no desempenho animal e, portanto, sua relação custo-benefício precisa ser mais bem avaliada. Os resultados sugerem que a exposição a baixas concentrações de amônia (10 vs. 20ppm) durante parte do período de crescimento origina algumas alterações fisiológicas que não se refletem claramente em termos produtivos, e não se encontrou evidências de que essas condições melhoradas possam permitir que os animais respondam melhor a condições estressantes. Este efeito potencial na resiliência animal precisa ser explorado por pesquisas futuras.

3.3. Peso dos órgãos imunes

O efeito do estresse no bem-estar do animal, sua saúde e, portanto, seu sistema imunológico é variado. O baço, o fígado e a bursa de Fabricius são usados como indicadores anatômicos de estresse [25, 26] . O peso médio dos órgãos linfoides (baço e bursa de Fabricius) está relacionado a alterações em resposta estressoras. O mesmo foi relatado para o timo [27] . Na Tabela 5, encontramos a evolução da proporção dos órgãos que estão envolvidos no sistema

imunológico e são indicadores de estresse. Dependendo do fator de estresse, o órgão diminui ou aumenta de tamanho. No caso de estresse devido a uma alta concentração de NH_3 , espera-se que os órgãos estejam subdesenvolvidos em comparação com um crescimento normal [20]. Ao contrário, o efeito esperado da densidade é que os órgãos imunológicos sejam mais desenvolvidos do que o normal [15].

A Tabela 5 mostra o peso dos órgãos relacionados ao sistema imunológico, expresso em termos relativos em relação ao peso total do animal. Para animais de crescimento rápido, as informações estão disponíveis até o dia do abate (42). Para animais de crescimento lento, a bursa de Fabricius era muito pequena e não pôde ser medida no dia 63, portanto nenhuma informação é fornecida.

O peso do baço foi muito variável no dia 21 do período de crescimento e não foram encontradas diferenças relevantes no dia 42 no peso absoluto. No entanto, conforme demonstrado na Tabela 5, o baço apresentou maior peso quando expresso em relação ao peso do animal devido ao menor peso dos animais de crescimento lento na mesma idade. Além disso, os animais com maior concentração de amônia tenderam a ter um peso de baço menor do que aqueles com concentrações mais baixas. Na idade de abate, os baços dos animais de crescimento lento eram mais pesados nos animais mantidos em menor concentração de amônia (Sala 1) em comparação com aqueles em maiores concentrações de amônia (Sala 2). O peso relativo da glândula timo também foi afetado, sendo assim, os animais de crescimento lento tiveram um peso relativo maior do que os animais de crescimento rápido. Não foram detectadas diferenças para densidade de alojamento devido à concentração de amônia. Uma situação similar foi observada para o fígado e a bursa de Fabricius, onde nenhum efeito claro foi encontrado devido à mudança na concentração de amônia ou na densidade de alojamento.

Estudos mostram que em situações de estresse devido à exposição à amônia, o fígado, o baço e a bursa estariam menos desenvolvidos [20, 28, 29]. Este estudo encontrou algumas alterações no tamanho dos órgãos imunes, por isso sugere-se que sejam necessários estudos mais aprofundados nesse sentido para confirmar se de fato o tamanho maior dos órgãos está correlacionado com situações de maior estresse como maior concentração de amônia e maior densidade de alojamento.

Tabela 5. Evolução do peso relativo do baço, timo, fígado e bursa Fabricius (g por 1000 g de peso do animal) durante o período de recría

Órgão	Idade (dias)	Tratamento LAD		Tratamento RAD		Tratamento RBD		<i>p</i> - Valor
		Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	Sala 1	Sala 2	
Baço	21	1,11	1,27	3,82	0,94	0,91	0,94	0,47
		±1,17	±1,24	±1,19	±1,17	±1,19	±1,17	
	42	1,62 ^b	1,46 ^b	1,25 ^a	1,18 ^a	1,46 ^b	1,21 ^a	≤ 0,05
		±0,06	±0,06	±0,06	±0,06	±0,06	±0,06	
	63	1,26 ^b	1,10 ^a	-	-	-	-	≤ 0,05
		±0,05	±0,05	-	-	-	-	
Timo	21	2,88 ^c	2,98 ^c	1,85 ^{ab}	2,04 ^b	1,75 ^{ab}	1,57 ^a	≤ 0,05
		±0,15	±0,16	±0,16	±0,15	±0,16	±0,15	
	42	2,90 ^b	2,71 ^b	1,59 ^a	1,80 ^a	1,81 ^a	1,79 ^a	≤ 0,05
		±0,16	±0,16	±0,16	±0,16	±0,16	±0,16	
	63	2,44	2,22	-	-	-	-	0,32
		±0,16	±0,16	-	-	-	-	
Fígado	21	29,89 ^c	29,38 ^{bc}	26,69 ^a	27,71 ^{abc}	27,50 ^{ab}	28,35 ^{abc}	≤ 0,05
		±0,79	±0,83	±0,80	±0,79	±0,80	±0,79	
	42	20,55 ^a	21,69 ^a	20,83 ^a	21,56 ^a	21,76 ^a	21,25 ^a	0,38
		±0,48	±0,48	±0,48	±0,48	±0,48	±0,48	
	63	17,68	18,69	-	-	-	-	0,18
		±0,52	±0,52	-	-	-	-	
Bolsa de Fabricius	21	2,85 ^b	2,33 ^a	1,98 ^a	2,09 ^a	2,12 ^a	2,33 ^a	≤ 0,05
		±0,13	±0,14	±0,13	±0,13	±0,13	±0,13	
	42	0,54 ^{bc}	0,44 ^{abc}	0,42 ^{ab}	0,45 ^{abc}	0,40 ^a	0,56 ^c	0,08
		±0,05	±0,05	±0,05	±0,05	±0,05	±0,05	
	63	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	

Letras diferentes dentro de uma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. LAD= crescimento lento e alta densidade; RAD= crescimento rápido e alta densidade; RBD= crescimento rápido e baixa densidade. A Sala 1 foi programada para atingir no máximo 10 ppm de NH₃ e a Sala 2 para no máximo 20 ppm de NH₃

4. Conclusão

Este estudo avaliou o efeito das práticas de criação na resposta dos frangos de corte a baixas concentrações de amônia. A ventilação foi usada para gerar exposição a diferentes concentrações de amônia na parte final do período de crescimento (aproximadamente 10 e 20 ppm).

A redução das concentrações de amônia teve uma baixa influência nos parâmetros produtivos, independentemente da linhagem do animal (animais de crescimento lento ou rápido) ou da densidade de alojamento (32 vs. 16 kg m⁻² na idade de abate). No entanto, os animais mantidos em uma densidade de alojamento mais baixa tiveram uma taxa de conversão melhor do que aqueles em alta densidade, particularmente em maior exposição à amônia.

Animais de crescimento lento foram expostos a uma concentração de amônia por mais tempo do que animais de crescimento rápido. Não foram encontrados efeitos nos parâmetros de crescimento, mas o aumento do peso dos órgãos imunes (baço) sugere um efeito deletério na resposta imune. Porém, apesar de ser uma indicação, não é possível afirmar que haja uma disfunção imunológica baseada apenas no peso dos órgãos linfóides. Portanto, recomendamos que novas pesquisas sejam realizadas nessa direção.

As práticas de criação que melhoram as condições dos animais além dos requisitos legais mínimos parecem ter um efeito baixo na produtividade.

Referências

1. Tasistro, A.S.; Ritz, C.W.; Kissel, D.E. Ammonia emissions from broiler litter: Response to bedding materials and acidifiers. *Br. Poult. Sci.* **2007**, *48*, 399–405, doi:10.1080/00071660701473865.
2. Kearney, G.D.; Shaw, R.; Prentice, M.; Tutor-Marcom, R. Evaluation of Respiratory Symptoms and Respiratory Protection Behavior Among Poultry Workers in Small Farming Operations. *J. Agromedicine* **2014**, *19*, 162–170, doi:10.1080/1059924X.2014.886536.
3. Nemer, M.; Sikkeland, L.I.B.; Kasem, M.; Kristensen, P.; Nijem, K.; Bjertness, E.; Skare, Ø.; Bakke, B.; Kongerud, J.; Skogstad, M. Airway inflammation and ammonia exposure among female Palestinian hairdressers: A cross-sectional study. *Occup. Environ. Med.* **2015**, *72*, 428–434, doi:10.1136/oemed-2014-102437.
4. Kristensen, H.H.; Wathes, C.M. Ammonia and poultry welfare: a review. *Worlds. Poult. Sci. J.* **2000**, *56*, 235–245, doi:10.1079/WPS20000018.
5. Beker, A.; Vanhooser, S.L.; Swartzlander, J.H.; Teeter, R.G. Atmospheric ammonia concentration effects on broiler growth and performance. *J. Appl. Poult. Res.* **2004**, *13*, 5–9, doi:10.1093/japr/13.1.5.
6. Miles, D.M.; Branton, S.L.; Lott, B.D. Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. *Poult. Sci.* **2004**, *83*, 1650–1654, doi:10.1093/ps/83.10.1650.
7. Miles, D.M.; Miller, W.W.; Branton, S.L.; Maslin, W.R.; Lott, B.D. Ocular Responses to Ammonia in Broiler Chickens. *Avian Dis.* **2006**, *50*, 45–49, doi:10.1637/7386-052405r.1.
8. Purswell, J.L.; Davis, J.D.; Kiess, A.S.; Coufal, C.D. Effects of frequency of multiple applications of litter amendment on litter ammonia and live performance in a shared airspace. *J. Appl. Poult. Res.* **2013**, *22*, 469–473, doi:10.3382/japr.2012-00669.

9. Wei, F.X.; Hu, X.F.; Xu, B.; Zhang, M.H.; Li, S.Y.; Sun, Q.Y.; Lin, P. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genet. Mol. Res.* **2015**, *14*, 3160–3169, doi:10.4238/2015.April.10.27.
10. Yi, B.; Chen, L.; Sa, R.; Zhong, R.; Xing, H.; Zhang, H. Transcriptome profile analysis of breast muscle tissues from high or low levels of atmospheric ammonia exposed broilers (*Gallus gallus*). *PLoS One* **2016**, *11*, e0162631, doi:10.1371/journal.pone.0162631.
11. Zhou, Y.; Liu, Q.X.; Li, X.M.; Ma, D.D.; Xing, S.; Feng, J.H.; Zhang, M.H. Effects of ammonia exposure on growth performance and cytokines in the serum, trachea, and ileum of broilers. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 2485–2493, doi:10.1016/J.PSJ.2019.12.063.
12. Zhou, Y.; Zhang, M.; Liu, Q.; Feng, J. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2021**, *100*, 685–696, doi:10.1016/J.PSJ.2020.11.026.
13. Rayner, A.C.; Newberry, R.C.; Vas, J.; Mullan, S. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–14, doi:10.1038/s41598-020-72198-x.
14. Manswr, B.; Ball, C.; Forrester, A.; Chantrey, J.; Ganapathy, K. Host immune response to infectious bronchitis virus Q1 in two commercial broiler chicken lines. *Res. Vet. Sci.* **2021**, *136*, 587–594, doi:10.1016/J.RVSC.2021.04.020.
15. Abouelenien, F.; KhalfAlla, F.; MousaBalabel, T.; Nasser, S. Effect of Stocking Density and Bird Age on Air Ammonia, Performance and Blood Parameters of Broilers. *World s Vet. J.* **2016**, *6*, 130, doi:10.5455/wvj.20160878.
16. Ferguson, N.S.; Gates, R.S.; Taraba, J.L.; Cantor, A.H.; Pescatore, A.J.; Ford, M.J.; Burnham, D.J. The Effect of Dietary Crude Protein on Growth, Ammonia Concentration, and Litter Composition in Broilers. *Poult. Sci.* **1998**, *77*, 1481–1487, doi:10.1093/ps/77.10.1481.

17. Miles, D.M.; Rowe, D.E.; Cathcart, T.C. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. *Poult. Sci.* **2011**, *90*, 1162–1169, doi:10.3382/ps.2010-01113.
18. Costantino, A.; Fabrizio, E.; Villagr , A.; Estellés, F.; Calvet, S. The reduction of gas concentrations in broiler houses through ventilation: Assessment of the thermal and electrical energy consumption. *Biosyst. Eng.* **2020**, *199*, 135–148, doi:10.1016/j.biosystemseng.2020.01.002.
19. Calvet, S.; Cambra-López, M.; Estellés, F.; Torres, A.G. Characterization of gas emissions from a Mediterranean broiler farm. *Poult. Sci.* **2011**, *90*, 534–542, doi:10.3382/ps.2010-01037.
20. Wang, Y.M.; Meng, Q.P.; Guo, Y.M.; Wang, Y.Z.; Wang, Z.; Yao, Z.L.; Shan, T.Z. Effect of Atmospheric Ammonia on Growth Performance and Immunological Response of Broiler Chickens. *J. Anim. Vet. Adv.* **2010**, *22*, 2802–2806.
21. Zarnab, S.; Chaudhary, M.S.; Javed, M.T.; Khatoon, A.; Saleemi, M.K.; Ahmed, T.; Tariq, N.; Manzoor, F.; Javed, I.; Zhang, H.; et al. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its amelioration by different modifiers. *Pak. Vet. J.* **2019**, *39*, 371–376, doi:10.29261/pakvetj/2019.068.
22. Li, X.M.; Zhang, M.H.; Liu, S.M.; Feng, J.H.; Ma, D.D.; Liu, Q.X.; Zhou, Y.; Wang, X.J.; Xing, S. Effects of stocking density on growth performance, growth regulatory factors, and endocrine hormones in broilers under appropriate environments. *Poult. Sci.* **2019**, *98*, 6611–6617, doi:10.3382/ps/pez505.
23. Liu, H.; Bai, S.P.; Zhang, K.Y.; Ding, X.M.; Wang, J.P.; Zeng, Q.F.; Peng, H.W.; Bai, J.; Xuan, Y.; Su, Z.W. Effects of stocking density on the performance, tibia mineralization, and the expression of hypothalamic appetite genes in broiler chickens. *Ann. Anim. Sci.* **2021**, *21*, 1103–1117, doi:10.2478/AOAS-2020-0110.

24. Buijs, S.; Keeling, L.; Rettenbacher, S.; van Poucke, E.; Tuytens, F.A.M. Stocking density effects on broiler welfare: Identifying sensitive ranges for different indicators. *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 1536–1543, doi:10.3382/ps.2009-00007.
25. Pope, C.R. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **1991**, *30*, 31–44, doi:10.1016/0165-2427(91)90006-X.
26. Freire, R.; Wilkins, L.J.; Short, F.; Nicol, C.J. Behaviour and welfare of individual laying hens in a non-cage system. *Br. Poult. Sci.* **2003**, *44*, 22–29, doi:10.1080/0007166031000085391.
27. Ravindran, V.; Thomas, D. V.; Thomas, D.G.; Morel, P.C.H. Performance and welfare of broilers as affected by stocking density and zinc bacitracin supplementation. *Anim. Sci. J.* **2006**, *77*, 110–116, doi:10.1111/j.1740-0929.2006.00327.x.
28. Xing, H.; Luan, S.; Sun, Y.; Sa, R.; Zhang, H. Effects of ammonia exposure on carcass traits and fatty acid composition of broiler meat. *Anim. Nutr.* **2016**, *2*, 282–287, doi:10.1016/j.aninu.2016.07.006.
29. Soliman, E.S.; Hassan, R.A. Evaluation of superphosphate and meta-bisulfide efficiency in litter treatment on productive performance and immunity of broilers exposed to ammonia stress. *Adv. Anim. Vet. Sci.* **2017**, *5*, 253–259, doi:10.17582/journal.aavs/2017/5.6.253.259.

CAPÍTULO II

ARTIGO 2: PREDIÇÃO DE RISCO DE EXPOSIÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA EM FRANGOS DE CORTE CORRELACIONADOS A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS

Este capítulo está escrito em forma de artigo e nas normas da *revista Livestock Science* na qual o artigo será submetido.

PREDIÇÃO DE RISCO DE EXPOSIÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA EM FRANGOS DE CORTE CORRELACIONADOS A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS

Resumo

O objetivo do estudo foi prever o risco de exposição à concentração de amônia na produção de frangos de linhagem de crescimento lento e rápido, com densidade de produção baixa e alta e correlacionar com a incidência de lesões à saúde dos frangos de corte usando abordagem de aprendizado de máquina. Foram utilizadas duas linhagens comerciais de frango de corte, uma de crescimento rápido (Ross®, idade de abate 42 dias) e outra de crescimento lento (Hubbard®, idade de abate 63 dias). Todas as aves de crescimento lento foram alojadas a densidade de 32 kg/m². Já as aves de crescimento rápido foram alojadas em duas densidades de alojamento diferentes: baixa densidade de alojamento com alojamento final de 16 kg/m² e alta densidade, com uma densidade de alojamento final de 32 kg/m². Foram utilizadas neste experimento um total de 1250 aves, sendo 450 de crescimento rápido e 800 da linhagem de crescimento lento. Em cada sala, 306 aves foram distribuídas aleatoriamente em 18 boxes (6 boxes para cada tratamento, e 17 aves por box), cada uma com 3 bebedouros tipo nipple e um comedouro manual. As dimensões dos boxes de alta densidade eram de 1 x 1,3 m², enquanto os boxes de baixa densidade tiveram o mesmo número de animais alojados em uma maior área, com dimensões de 2 x 1,3 m². As 319 aves restantes foram alojadas aleatoriamente por toda a sala e fora dos boxes para simular uma condição de sistema de produção comercial. Todas as aves foram alimentadas com ração comercial inicial do dia 1 ao dia 18 do experimento e do dia 18 até o final, cada linhagem foi alimentada com diferentes rações de acordo com suas demandas nutricionais. As seguintes etapas de análise de dados foram realizadas: seleção de dados, pré-processamento, transformação, mineração, análise e interpretação de resultados. Os algoritmos de classificação, decision tree (J48), SMO (Sequential Minimal Optimization), Naive Bayes e Multilayer Perceptron foram aplicados ao conjunto de dados de treino e teste para construção de um modelo de regras para a predição dos níveis de risco de amônia na criação dos frangos de corte. A técnica de validação cruzada (cross-validation) foi usada na parametrização da análise em todos os modelos. A partir do banco de dados da primeira fase de análise, com o classificador para prever a condição de risco de concentração de amônia, o coeficiente de correlação de Spearman (ρ , rho), considerando a presença pododermatite, visão/afetada e lesão de mucosa que incluem avaliações de traquéia, brônquios, pulmões, olhos, lesão de patas, outras lesões. Uma medida de correlação não-paramétrica foi aplicada aos dados

de incidência de lesões em função do nível de risco da amônia (1 e 10 ppm) com objetivo de correlacionar a incidência de lesões e o nível de amônia nas condições estudadas. O melhor modelo preditivo capaz de avaliar e obter melhor desempenho foi o Multilayer Perceptron quando consideramos maior acerto por nível de risco de exposição à amônia no processo de produção de frangos de corte, incluindo crescimento rápido e lento. Aves expostas a maiores níveis de concentração de amônia apresentam coeficiente de correlação maior quando forte é a relação entre as variáveis. O coeficiente de correlação de Spearman mostra uma associação mais forte entre maiores riscos de exposição à amônia e a incidência de lesões nos frangos.

Palavras-chave: amônia, aprendizado de máquina, produção de frangos.

1. Introdução

As emissões atmosféricas são um dos maiores desafios enfrentados pelos sistemas agrícolas. Os sistemas agrícolas são as principais fontes de emissão de NH_3 para a atmosfera (Ti et al., 2019). O monitoramento das emissões de amônia requer estimativas precisas de tipos de sistemas de ventilação, detecção de amônia durante o processo de produção e estratégias de mitigação. Existem grandes variações nas emissões de amônia entre galpões ou tipos de sistemas, idades das aves, lotes e linhagens (Nicholson et al., 2004; Pescatore et al., 2005).

A amônia é o principal gás poluente emitido pelas instalações avícolas como resultado da degradação microbiana do ácido úrico presente no esterco das aves (Nicholson et al., 2004; Zhao et al., 2016). Os fatores principais que afetam as emissões de NH_3 durante o processo de produção incluem temperatura, teor de umidade, pH, taxas de ventilação, gerenciamento de cama e o tipo de processo de compostagem. Além disso, danos ambientais podem ser causados após a deposição de amônia por toxicidade direta. No entanto, estratégias de mitigação são eficazes na redução da emissão de NH_3 (Ti et al., 2019).

Um parâmetro importante, mas ainda desafiador, na determinação das emissões de amônia em função da concentração de gás e taxa de ventilação é a determinação precisa da taxa de ventilação da instalação, especialmente em instalações com ventilação natural (Oliveira et al., 2021).

É muito importante para a produção avícola quantificar, verificar e estudar as estimativas de concentração de amônia no processo de produção. Além disso, estimativas precisas de emissões e concentrações a partir de diferentes linhagens para avaliar o impacto no desempenho e na saúde das aves.

O objetivo do estudo foi prever o risco de exposição à concentração de amônia na produção de frangos de linhagem de crescimento lento e rápido, com densidade de produção baixa e alta e correlacionar com a incidência de lesões à saúde dos frangos de corte usando abordagem de aprendizado de máquina.

2. Material e Métodos

Um experimento animal foi realizado durante o inverno na Espanha, em 2019 para prever a condição de risco do nível de amônia e correlacionar com o risco de saúde de frangos de corte. O experimento obteve aprovação do Comitê De Ética Animal N2018/VSC/PEA/0067. Este estudo é parte de uma tese de doutorado.

2.1 Experimento

Duas salas idênticas (Sala 1 e Sala 2) foram utilizadas neste ensaio, com uma dimensão de 13,2 m x 5,95 m, totalizando aproximadamente 70 m² cada sala. Foi instalado um sistema de controle de temperatura automatizado (DNP Climate Controller, Exafan, Espanha) o qual realizou o controle das taxas de ventilação de acordo com as recomendações comerciais de temperatura: A temperatura ambiente foi gradualmente diminuída de 32°C (dia 1) a 19°C (dia 42). A temperatura foi controlada usando o sensor de controle de temperatura e foi registrada junto com a umidade relativa a cada 10 minutos usando um registrador de dados (HOBO U12, Onsetcomp, Country). Além disso, cada sala foi equipada com um sensor NH₃ eletroquímico (DOL 53, Dräger, Alemanha). A Sala 1 foi programada para manter no máximo 10ppm de NH₃, enquanto a Sala 2 foi programada para atingir no máximo 20ppm. Essas condições ambientais (concentração de amônia) foram programadas para serem mantidas a partir da quarta semana, ou seja, na segunda metade do ciclo de produção, quando os níveis de amônia costumam ser maiores dentro dos sistemas de produção de frango de corte. Um aquecedor a propano foi usado para manter a temperatura ambiente adequada.

O experimento foi realizado durante o período de inverno, quando se esperava que as concentrações de gás fossem maiores devido a menores taxas de ventilação. Para garantir que as concentrações desejadas fossem alcançadas durante uma parte relevante do período de produção das aves, decidiu-se aplicar uma solução de ureia na cama. A dosagem foi sempre de 0,21 L/m² de solução de ureia, com concentração de 187,5 g/L no dia 32 do ciclo de recria e 93,75 g/L nos dias 39, 51 e 56.

Foram utilizadas duas linhagens comerciais de frango de corte, uma de crescimento rápido (Ross®, idade de abate 42 dias) e outra de crescimento lento (Hubbard®, idade de abate 63 dias). Todas as aves de crescimento lento foram alojadas a densidade de 32 kg/m². Já as aves de crescimento rápido foram alojadas em duas densidades de alojamento diferentes: baixa

densidade de alojamento com alojamento final de 16 kg/m² e alta densidade, com uma densidade de alojamento final de 32 kg/m². Foram utilizadas neste experimento um total de 1250 aves, sendo 450 de crescimento rápido e 800 da linhagem de crescimento lento. Em cada sala, 306 aves foram distribuídas aleatoriamente em 18 boxes (6 boxes para cada tratamento, e 17 aves por box), cada uma com 3 bebedouros tipo nipple e um comedouro manual. As dimensões dos boxes de alta densidade eram de 1 x 1,3m², enquanto os boxes de baixa densidade tiveram o mesmo número de animais alojados em uma maior área, com dimensões de 2 x 1,3m². As 319 aves restantes foram alojadas aleatoriamente por toda a sala e fora dos boxes para simular uma condição de sistema de produção comercial. Todas as aves foram alimentadas com ração comercial inicial do dia 1 ao dia 18 do experimento e do dia 18 até o final, cada linhagem foi alimentada com diferentes rações de acordo com suas demandas nutricionais.

Todas as aves alojadas nos boxes foram pesadas semanalmente e calculado seu respectivo consumo de ração. O ganho de peso médio diário (GPM) por ave foi calculado para cada semana de criação e o ganho de peso médio diário acumulado durante todo o período do estudo (42 dias para aves de crescimento rápido e 63 para aves de crescimento lento). A conversão alimentar (CA) também foi obtida para cada semana e para períodos acumulados, dividindo a quantidade de alimento consumido por cada box pelo ganho de peso de todas as aves presentes nele.

Os dados de concentração de amônia das salas foram coletados pela instalação de sensores eletroquímicos em cada sala. As avaliações foram realizadas durante as 24 horas, e em todos os dias da semana.

Além das determinações de caráter produtivo, durante o desenvolvimento do experimento, animais foram sacrificados e colhidas amostras em 4 momentos: dia 0, dia 21, dia 42 e dia 63 (dia 63 apenas para os animais da linhagem de crescimento lento). Todas as aves sacrificadas foram previamente atordoadas através da aplicação de choque elétrico.

Na primeira amostragem, no dia 0 do estudo, 30 animais de cada linhagem foram sacrificados aleatoriamente antes da distribuição nos boxes. Na segunda e terceira amostragem, dias 21 e 42 do experimento respectivamente, foram amostrados 5 animais de cada baia, resultando em um total de 180 animais para cada dia de amostragem. Após o sacrifício, foi realizada a necropsia dos animais.

A quarta e última amostragem foi realizada no dia 63 do experimento e com o mesmo procedimento das duas anteriores, porém envolvendo apenas os animais da linhagem de

crescimento lento, uma vez que os animais da linhagem de crescimento rápido possuem ciclo de produção comercial de 42 dias.

Nas duas últimas coletas, aos 42 dias para aves de crescimento rápido e aos 63 dias para aves de crescimento lento, foi realizada uma inspeção dos animais amostrados em busca de sintomas relacionados à exposição prolongada ao NH_3 . Esses exames tinham como objetivo encontrar lesões epidérmicas nas pernas, lesões nos olhos e no trato respiratório devido a esse gás irritante.

2.2 Abordagem de mineração de dados

As seguintes etapas de análise de dados foram realizadas: seleção de dados, pré-processamento, transformação, mineração, análise e interpretação de resultados.

A etapa de pré-processamento dos dados abrange a compreensão de dados e preparação de dados, que incluem a padronização de nomenclaturas e limpeza dos dados brutos na planilha e a divisão do banco de dados no software Weka (versão 3.8.4).

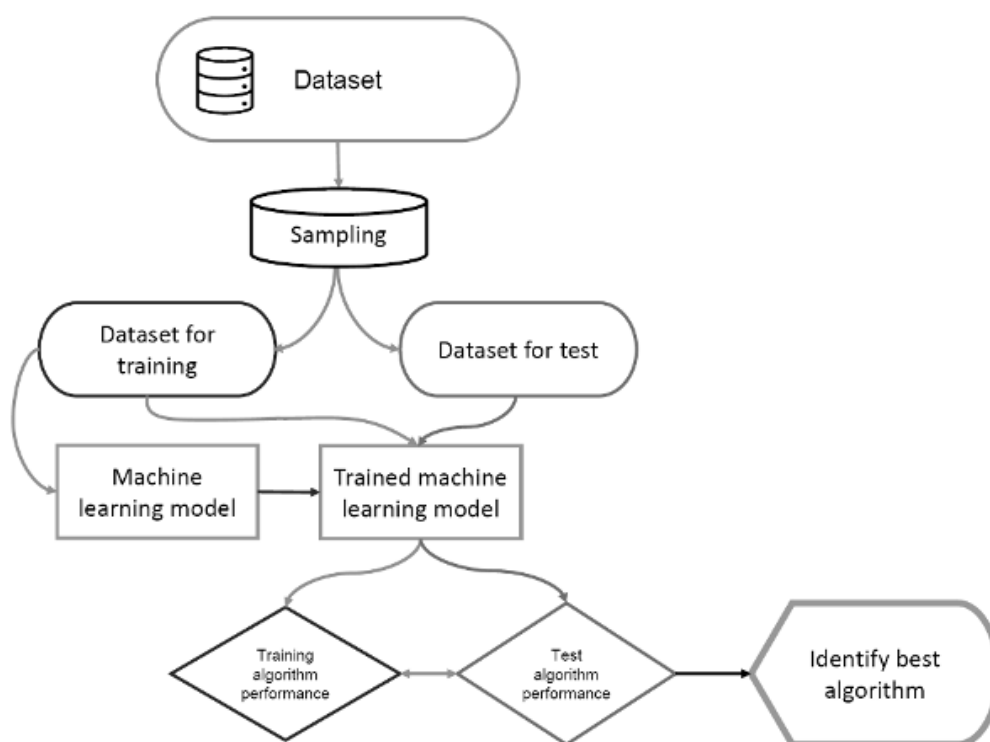
para modelagem de treino e teste. Para estratificar o conjunto de dados foi utilizado o filtro “*stratified remove folds*” para separar o conjunto de dados entre treino e teste. O pré-processamento também incluiu a discretização dos atributos em classes que reduz e simplifica os dados, tornando o aprendizado mais rápido e os resultados mais densos, de acordo com metodologias de Hall et al. (2009) e Larose e Larose, (2015).

Na etapa de processamento, o conjunto de dados foi analisado com aplicação de modelos preditivos de classificação para o treinamento (75% do conjunto de dados com 17062 instâncias) e para validação do modelo com o conjunto teste (25% do conjunto de dados, 5688 com instâncias).

Os algoritmos de classificação, decision tree (J48), SMO (Sequential Minimal Optimization), Naive Bayes e Multilayer Perceptron foram aplicados ao conjunto de dados de treino e teste para construção de um modelo de regras para a predição dos níveis de risco de amônia na criação dos frangos de corte. A técnica de validação cruzada (test mode: 10-fold cross-validation) foi usada na parametrização da análise em todos os modelos. O número dos atributos usados na modelagem foi sete, incluindo “housing_condition”, “age_week”, “T-hobo”, “UR%”, “Vent”, “NH3_ppm” e o atributo resposta “Ammonia_concentration_risk”, com total de 5688 instâncias.

O estudo desenvolveu um modelo de aprendizado de máquina para prever a condição de risco de concentração de amônia na produção de frangos de linhagem de crescimento lento e rápido, com densidade de produção baixa e alta. O estudo também comparou o desempenho de todos os algoritmos com relação às suas habilidades de previsão e qualidade do modelo. Na avaliação dos modelos foi realizada a divisão dos dados no subconjunto de treinamento e teste, depois os resultados são comparados por métricas de desempenho dos algoritmos. O fluxograma utilizado na identificação do melhor algoritmo de teste é exibido na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de treinamento e teste dos modelos para identificar melhor algoritmo



Fonte: Adaptado de Uçar et al. (2020)

O critério usado para discretizar as classes do atributo resposta (target) “condição de risco de concentração de amônia” incluiu níveis de concentração amônia em cinco classes descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição do critério do atributo risco de concentração de amônia

Ammonia concentration risk	
Target attribute	Risk level
No risk (nenhum risco)	0 - 1 pmm
Low risk (risco baixo)	2 - 9 pmm
Moderate risk (risco moderado)	10 - 14 pmm
High risk (risco alto)	15 - 20 pmm
Very high risk (risco extremo)	> 21 pmm

Fonte: CARLILE, 1984; COMMISSION, 2000; EUROPEA, 2010; KRISTENSEN; WATHES, 2000

2.3 Medidas de desempenho dos modelos de classificação

O desempenho dos modelos foi avaliado por diferentes métricas incluindo a acurácia, instâncias classificadas incorretamente, estatística *Kappa*, taxa de verdadeiro positivo, taxa de falso positivo, precisão, sensibilidade (*recall*), valor F, Matthews Correlation Coefficient (MCC) e a matriz de confusão (Bowes et al., 2012; Han et al., 2012).

A seguir as equações utilizadas para avaliar desempenho dos algoritmos para acurácia, precisão, sensibilidade (*recall*), coeficiente de correlação de Matthews (MCC) e valor F calculadas a partir das Equações 2 a 7, respectivamente:

$$\text{False Positive Rate} = 1 - \frac{(TN)}{(FP+FN)} \quad \text{Eq. 2}$$

$$\text{Accuracy} = \frac{(TP+TN)}{(TP+TN+FP+FN)} \quad \text{Eq. 3}$$

$$\text{Precision} = \frac{(TP)}{(TP+FP)} \quad \text{Eq. 4}$$

$$\text{Sensitivity} = \frac{(TP)}{(TP+FN)} \quad \text{Eq. 5}$$

$$\text{MCC} = \frac{TP \times TN - FP \times FN}{\sqrt{(TP+FP)(TP+FN)(TN+FP)(TN+FN)}} \quad \text{Eq. 6}$$

$$F = 2 \times \left[\frac{(\text{Precision} \times \text{Sensitivity})}{(\text{Precision} + \text{Sensitivity})} \right] \quad \text{Eq. 7}$$

Onde TP: true positive; TN: true negative; FP: false positive; FN: false negative.

Na matriz de confusão são calculados os seguintes itens (Han et al., 2012): positivos verdadeiros (TP) que são as tuplas positivas que foram rotuladas corretamente pelo classificador; negativos verdadeiros (TN) que são as tuplas negativas que foram rotuladas corretamente pelo classificador; falsos positivos (FP) que são as tuplas negativas que foram incorretamente rotuladas como positivas; falsos negativos (FN) que são as tuplas positivas que foram erroneamente rotuladas como negativas que mostra a relação entre os valores observados e previstos em um problema de classificação.

O estudo compara o desempenho de todos os algoritmos com relação às suas habilidades de previsão e qualidade do modelo. O fluxograma utilizado na identificação do melhor algoritmo de treinamento é exibido na Figura 1.

2.4. Análise de correlação de Spearman

A partir dos dados de classificação de risco de concentração de amônia (atributo “Ammonia_concentration_risk”, somente aqueles que apresentaram algum grau de risco) foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman (ρ , ρ), considerando valores de presença (contagem numérica) das seguintes doenças e lesões quantificadas durante a fase experimental, pododermatite, visão/afetada e lesão de mucosa que incluem avaliações de traquéia, brônquios, pulmões, olhos, lesão de patas, outras lesões.

Uma medida de correlação não-paramétrica foi aplicada aos dados de incidência de lesões em função do nível de risco da amônia (1 e 10 ppm) com objetivo de correlacionar a incidência de lesões e o nível de amônia nas condições estudadas, calculados a partir da Equação 1.

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2-1)} \quad \text{Eq. 1}$$

3. Resultados

O experimento foi conduzido de acordo com os regulamentos de pesquisa animal da UE, com o protocolo número 2018/VSC/PEA/0067. O teste foi realizado no Centro de Tecnologia e Pesquisa Animal (CITA-IVIA), localizado em Segorbe, (Castellón, Espanha).

O desempenho geral dos modelos apresentou acurácia de 100% para J48, 91.58% para SMO, 92.44% para Naive Bayes e 99.05% para Multilayer Perceptron. O maior erro na classificação foi para o modelo SMO. A estatística Kappa também foi 100% para o modelo J48, seguido de 89,12% para o modelo SMO, 90,28% para o modelo Naive Bayes e 98,77% para Multilayer Perceptron. Os resultados gerais de desempenho indicam que o modelo Multilayer Perceptron foi o melhor modelo de classificação para detectar risco da concentração de amônia na produção de frangos.

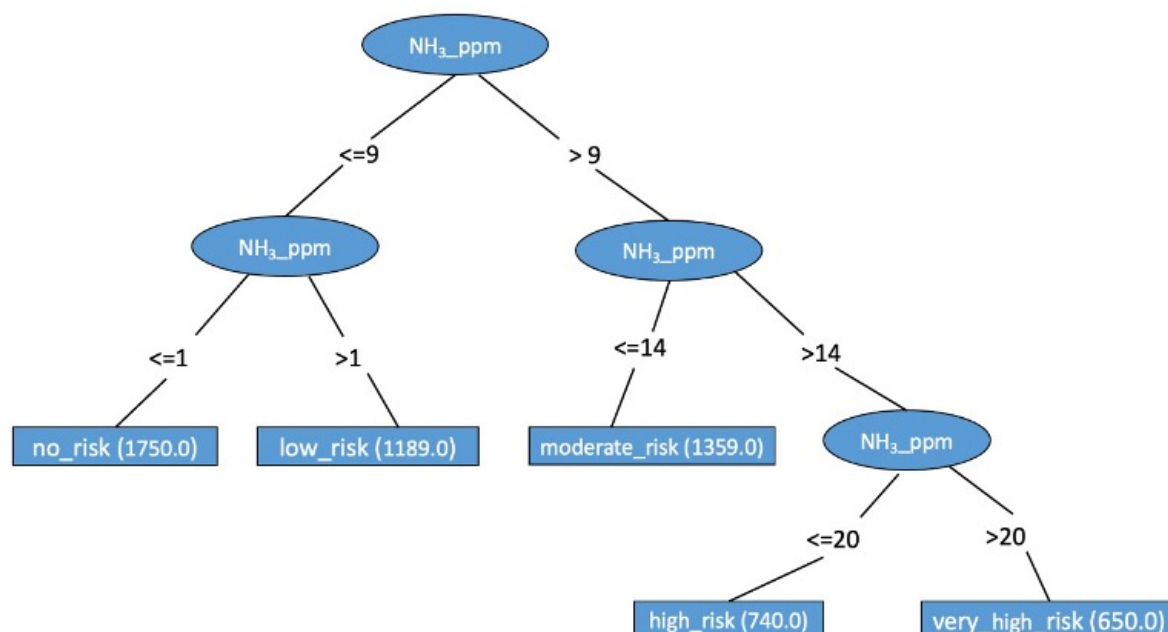
Tabela 2. Desempenho geral dos modelos de classificação

Classifier model	J48 Tree	SMO	Naive Bayes	Multilayer Perceptron
Correctly classified instances (%)	100	91.58	92.44	99.05
Incorrectly classified instances (%)	0	8.42	7.56	0.95
Kappa statistic (%)	100	89.12	90.28	98.77

SMO: Sequential Minimal Optimization

A visualização da árvore decisão gerada pelo modelo de classificação J48 encontra-se na Figura 2, o esquema indica que se a concentração de amônia for > 9 ppm, deve-se observar a concentração de amônia, quando essa concentração for ≤ 14 : o risco é moderado; quando a concentração de amônia for > 14 ppm, deve-se observar a concentração de amônia, se a amônia for ≤ 20 ppm, o risco é alto, e se for > 20 ppm, o risco é muito alto para as aves.

Figura 2. rvore de decisão J48



Os principais resultados apresentados Na Tabela 3 mostram que modelo J48 gerou bom desempenho médio (100%) em todas as métricas, o modelo SMO apresentou desempenho semelhante, mas com recall de 77% para a classe “baixo risco”. O modelo Naive Bayes apresentou resultados similares, com valores acima de 85% em todas as métricas, e o modelo Multilayer Perceptron obteve o melhor desempenho de todos com as métricas mais ajustadas como ocorreu com o J48. No entanto, esses resultados super ajustados podem conter overfitting.

Tabela 3. Desempenho dos modelos de classificação por níveis de risco de concentração de amônia

J48 tree model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	100	100	100	100	100	100
Low risk	100	100	100	100	100	100
Moderate risk	100	100	100	100	100	100
High risk	100	100	100	100	100	100
Very high risk	100	100	100	100	100	100
SMO model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	97	1.0	98	97	97	96
Low risk	77	1.0	93	77	84	81
Moderate risk	94	6.0	83	94	89	85
High risk	95	2.0	87	95	91	90
Very high risk	92	0.01	99	92	95	95
Naive Bayes model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	96	00	100	96	98	97
Low risk	88	2.0	93	88	90	88
Moderate risk	89	3.0	89	89	89	86
High risk	95	2.0	87	95	91	89
Very high risk	94	2.0	86	94	90	89
Multilayer Perceptron model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	99	1.0	99	99	99	98
Low risk	98	1.0	98	98	98	98
Moderate risk	100	1.0	99	100	99	99
High risk	99	00	100	99	99	99
Very high risk	100	00	100	100	100	100

SMO: Sequential Minimal Optimization. TP Rate: true positive rate; FP Rate: false positive rate. MCC: Matthews correlation coefficient.

A matriz de confusão dos modelos é mostrada na Tabela 4, o modelo J48 obteve 100% de acertos de todas as classes, não apresentou erro de classificação. Os modelos SMO e Naive Bayes apresentaram mais erros de classificação do que J48 e Multilayer Perceptron, indicando que esses modelos ainda podem ser ajustados para aumentar a acurácia por classe. Quanto menor o erro na classificação do risco de concentração de amônia nas instalações, melhor é a possibilidade de gerenciamento dessa concentração da amônia quando requer uma tomada de decisão.

Tabela 4. Matriz de confusão dos modelos de predição

J48 tree model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,750	0	0	0	0	1,750	No risk
0	1,189	0	0	0	1,189	Low risk
0	0	1,359	0	0	1,359	Moderate risk
0	0	0	740	0	740	High risk
0	0	0	0	650	650	Very high risk
1,750	1,189	1,359	740	650	5,688	
SMO model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,702	48	0	0	0	1,750	No risk
41	918	230	0	0	1,189	Low risk
0	20	1,280	55	0	1,355	Moderate risk
0	0	27	706	7	2,095	High risk
0	0	0	51	599	650	Very high risk
1,743	986	1,537	812	606	5,688	
Naive Bayes model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,685	59	0	0	6	1,750	No risk
0	1,046	135	0	8	1,189	Low risk
0	20	1,211	67	61	1,359	Moderate risk
0	0	15	702	23	740	High risk
0	0	0	36	614	650	Very high risk
1,685	1,125	1,361	805	712	5,688	
Multilayer Perceptron model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,731	19	0	0	0	1,750	No risk
22	1,164	2	1	0	1,189	Low risk
2	0	1,357	0	0	1,359	Moderate risk
0	0	8	732	0	2,099	High risk
0	0	0	0	650	650	Very high risk
1,755	1,183	1,359	733	650	5,688	

A correlação de Spearman avaliou a interrelação entre a variável de risco de exposição à amônia e a incidência de doenças decorrentes principalmente pelo gás amônia (Tabela 5). A correlação de Spearman entre o risco de exposição à amônia e a incidência de problemas de saúde no pulmão apresentou uma correlação de 0.549, o risco para os brônquios 0.189, para os olhos 0.378 e para as patas 0.375, logo se o valor de ρ se aproximou de 0, a associação entre os dois intervalos é mais fraca. Quanto maior for o valor absoluto do coeficiente, mais forte é a relação entre as variáveis. A correlação envolvendo outras lesões causadas por amônia apresentou uma forte correlação quando comparado aos demais tipos de lesão, indicando maior associação entre o aparecimento de lesões quando as aves são expostas a níveis maiores de amônia no processo de produção.

Tabela 5. Correlações de Spearman pareadas

Amostra 1	Amostra 2	Correlação	IC de 95% ρ	Valor-p
Risco NH ₃ (ppm)	brônquios	0.189	-0.600; 0.792	0.654
Risco NH ₃ (ppm)	pulmões	0.549	-0.313; 0.915	0.159
Risco NH ₃ (ppm)	olhos	0.378	-0.470; 0.863	0.356
Risco NH ₃ (ppm)	patas	0.375	-0.472; 0.862	0.360
Risco NH ₃ (ppm)	outras lesões	0.750	-0.019; 0.961	0.032

Outras lesões: sacos aéreos, fígado e pele.

4. Discussão

Níveis de risco de concentração de amônia quando avaliados para diferentes sistemas de produção de frangos considerando aves de crescimento rápido e lento pode mostrar um cenário do impacto causado pela concentração de amônia no processo produtivo. Existe uma convergência entre os níveis concentração de amônia e o tipo de sistemas e tecnificação da produção tanto para produção de frangos de corte quanto para produção de ovos. Muitos estudos (Tabela 6) avaliaram concentrações de amônia em diferentes idades, com diferentes sistemas construtivos e de ventilação, linhagens e regiões.

Tabela 6. Relação de trabalhos publicados relacionados a concentração de amônia em aviários de frango de corte e de galinhas poedeiras, sistema construtivo e período de vida

Autores	NH ₃ Min (ppm)	NH ₃ Max (ppm)	Idade (semanas)	Tipo de Avicultura	Tipo de Sistema construtivo na criação/sistema de ventilação	Linhagem	Local
Küçükto pcu and Cemek, 2018	13.3	26.2	1	Corte	P. negativa	Ross 308	Turquia
Maliseo and Nkonde, 2015	80	100	6	Corte	Conv.	Híbridos	Zambia
Almuhan na et al., 2011	0.086	0.172	1	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	0.23	0.287	2	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	0.187	0.388	3	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	1.694	7.939	4	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	11.127	17.946	5	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	0.072	0.086	1	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	0.66	0.718	2	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	0.273	0.904	3	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	7.466	23.459	4	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Almuhan na et al., 2011	13.496	25.354	5	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Arábia Saudita
Dagtekin and Ozturk, 2015	33	52	6	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Turquia
Dagtekin and Ozturk, 2015	30	45	6	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Turquia
Owada et al., 2007	0	40	5-7	Corte	P. negativa	Linhagem com. não identificada	Brasil
Nääs et al., 2007	-	13	2	Corte	Conv.	Linhagem com. não identificada	Brasil
Nääs et al., 2007	-	167	3-6	Corte	Conv.	Linhagem com. não identificada	Brasil
Nääs et al., 2007	-	17	2	Corte	Túnel/ P. negativa	Linhagem com. não identificada	Brasil

Nääs et al., 2007	-	86	3-6	Corte	Túnel/P. negativa	Linhagem com. não identificada	Brasil
Zarnab et al., 2019	25.1	11.1	6	Corte	Pressão negativa	Linhagem com. não identificada	Paquistão
Autores	NH ₃ Min (ppm)	NH ₃ Max (ppm)	Idade (semanas)	Tipo de Avicultura	Tipo de Sistema construtivo na criação/sistema de ventilação	Linhagem	Local
Tauson and Holm, 2001	5	40	53	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Suécia
Tauson and Holm, 2001	1	2	53	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Suécia
Koerkamp and Bleijenberg, 1998	5	30	5	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Holanda
Nimmermark, 2009	3	12	61	Post.	P. negativa	Linhagem com.	Suécia
Nimmermark, 2009	21	42	46	Post.	P. negativa e conv.	Linhagem com.	Suécia
Nimmermark, 2009	66	120	59	Post.	P. negativa e conv.	Linhagem com.	Suécia
Hinz et al., 201	0.4	4.2	104	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Alemanha
Hinz et al., 201	2.2	18.5	104	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Alemanha
Hinz et al., 201	9.2	47.4	104	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Alemanha
Hinz et al., 201	1.9	33.6	104	Post.	Sist. não esp.	Linhagem com.	Alemanha

No contexto de Aprendizado de Máquina, dados de IoT têm sido usados com sucesso na previsão de lesões que afetam negativamente a produção de aves. Apesar do aumento constante na literatura sobre aplicações de tecnologia digital na agroindústria nos últimos anos, há uma falta notável de artigos revisados por pares que se concentrem em sistemas de IoT habilitados para IA na gestão da saúde e do bem-estar das aves. Além disso, a maioria dos estudos anteriores se limita a aspectos específicos do bem-estar das aves (Ojo et al., 2022).

Da mesma forma que neste estudo, pesquisadores como Debauche et al. (2020), Fernández et al. (2018), Lashari et al. (2018), Lin et al. (2016) e Rico-Contreras et al. (2017) conduziram monitoramento e observações abrangendo variáveis como temperatura, umidade, conteúdo de fezes, níveis de amônia e umidade no ambiente das aves.

Estudos mostram a implementação de sensores para supervisionar e regular as condições ambientais, ativando dispositivos apropriados, como ventilação, iluminação, refrigeração e sistemas de aquecimento, conforme mencionado em pesquisas anteriores (Choukidar & Dawande, 2017; Demmers et al., 2010; Gunawan et al., 2019; Lahlouh et al., 2020; Li et al., 2020a; Lorencena et al., 2020; Mirzaee-Ghaleh et al., 2015; So-In et al., 2014).

Como exemplo, seguindo a abordagem deste estudo para prever riscos de lesões, Zhang e Chen (2020) projetaram um sistema para detectar automaticamente aves doentes. Este sistema, baseado na rede residual ResNet, alcançou uma notável precisão de 93,70% ao monitorar a fisiologia comportamental e o desempenho produtivo de frangos de corte. Neste estudo, uma precisão ainda maior foi obtida na previsão de lesões causadas por amônia, com valores acima de 98% para o modelo Perceptron Multicamadas.

So-In et al. (2014) introduziram um sistema com baixa complexidade computacional que demonstrou uma precisão de 80,00%. Esse sistema tem a capacidade de ajustar automaticamente o comportamento ambiental das aves, levando em consideração variáveis como temperatura, umidade, intensidade de luz e densidade populacional.

Inicialmente, é crucial monitorar parâmetros ambientais em uma granja de aves, incluindo elementos como temperatura, umidade, níveis de amônia e luz. Esse monitoramento é essencial para garantir o controle eficaz das condições internas por meio de sistemas de automação. Diversas técnicas de Aprendizado de Máquina são empregadas para monitorar esses parâmetros ambientais, variando de regressão linear (Pereira et al., 2020) a lógica fuzzy (Lahlouh et al., 2020; Mirzaee-Ghaleh et al., 2015), neuro-fuzzy e redes neurais (Küçüktopcu & Cemek, 2021), bem como aprendizado profundo (Debauche et al., 2020).

Lahlouh et al. (2020) projetaram um sistema notável, alcançando uma precisão de 97,00%. Este sistema tem como objetivo controlar os parâmetros hidrotérmicos, incluindo temperatura e umidade relativa, bem como gases contaminantes. Isso resulta na criação de condições ideais para uma produção eficiente de aves. A precisão do modelo desenvolvido por Lahlouh et al. (2020) atingiu valores próximos aos deste estudo, demonstrando a eficiência desses modelos na previsão das condições ambientais

Além disso, Zhuang e Zang (2019) implementaram um Detector MultiBox para o diagnóstico automatizado do estado de saúde de frangos de corte. O algoritmo proposto alcançou uma impressionante precisão média de 99,70%. Este modelo alcançou uma precisão mais alta do que os modelos estudados no estudo de previsão de risco de amônia.

No que diz respeito ao reconhecimento de atividades, Banerjee et al. (2012) realizaram uma comparação entre árvores de decisão, Naïve Bayes e redes neurais para identificar as atividades de frangos de corte. Os resultados indicaram que as redes neurais demonstraram a melhor precisão geral, atingindo 82,10%. Da mesma forma, Pereira et al. (2013) aplicaram o algoritmo de árvore de classificação para identificar comportamentos em aves criadas para reprodução, alcançando uma taxa global de sucesso de 70,30% no conjunto de validação. Assim

como esses estudos, na pesquisa realizada para prever o risco de amônia, o modelo Naïve Bayes também apresentou excelentes resultados, com valores acima de 85%.

A amônia representa um poluente atmosférico primário nas instalações de aves, exercendo um impacto adverso significativo no ecossistema, no meio ambiente, no bem-estar das aves e na saúde humana, como observado por Küçüktopcu & Cemek (2021). Portanto, estimar com precisão a concentração de NH_3 torna-se um imperativo essencial para a gestão adequada de resíduos, visando preservar a saúde ambiental, a saúde humana e o bem-estar dos animais, como mencionado por Debauche et al. (2020) e Küçüktopcu & Cemek (2021).

Küçüktopcu and Cemek (2021) realizaram uma avaliação de desempenho envolvendo quatro modelos, a saber: multilayer perceptron, sistemas de inferência neurodifusa adaptativa integrados com particionamento em grade e agrupamento subtrativo (ANFIS-GP e ANFIS-SC), bem como análise de regressão linear múltipla. Os resultados destacaram que o ANFIS-SC se destacou como o mais preciso, registrando um valor de R-quadrado de 0,86 no conjunto de validação. Neste estudo, ao realizar o cálculo para a correlação de Spearman, observou-se uma maior correlação entre a exposição à amônia e a incidência de problemas de saúde pulmonar, com uma correlação de 0,549.

No contexto da estimativa da concentração de amônia em fazendas de aves, Küçüktopcu e Cemek (2021) empregaram uma técnica de agrupamento subtrativo para determinar os parâmetros de entrada ideais em seu modelo de regressão. Além disso, Zhuang et al. (2018) propuseram um algoritmo de segmentação em tempo real com base em agrupamento K-means e modelo elíptico, visando ao diagnóstico automatizado do estado de saúde de frangos de corte.

O modelo Multilayer Perceptron demonstrou um desempenho notável, estabelecendo-se como uma excelente ferramenta para prever o risco de lesões em frangos de corte relacionado à concentração de amônia.

5. Conclusão

O melhor modelo preditivo capaz de avaliar e obter melhor desempenho é o Multilayer Perceptron quando consideramos maior acerto por nível de risco de exposição à amônia no processo de produção de frangos de corte, incluindo crescimento rápido e lento.

Aves expostas à maiores níveis de concentração de amônia apresentam coeficiente de correlação maior quando forte é a relação entre as variáveis. O coeficiente de correlação de Spearman mostra uma associação mais forte entre maiores riscos de exposição à amônia e a incidência de lesões nos frangos.

Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Politécnica de Valência, a Universidade estadual de Campinas e ao Instituto Valenciano de Pesquisas Agrárias pelo espaço físico, laboratórios e recursos cedidos. Agradecemos ao Instituto Nacional de Pesquisa e Experimentação Agropecuária e pelo Ministério da Economia, Indústria e Competitividade da Espanha pelo financiamento da pesquisa. E também a Capes e ao Cnpq por concederem as bolsas de estudos.

Financiamento

Esta pesquisa foi financiada pelo Instituto Nacional de Pesquisa e Experimentação Agropecuária e pelo Ministério da Economia, Indústria e Competitividade (RTA 2017-00013, Programa: MINECO, Ministerio de Economía y Competitividad). A bolsa Capes e CNPq foram concedidas como apoio para a participação de Leonardo Valentino nesta pesquisa.

Contribuição do autor

Todos os autores contribuíram para a concepção e delineamento do estudo. XXXX: foram realizadas conceituação, metodologia, coleta e análise dos dados, redação-redação original. XXXX: redação-revisão, edição e supervisão.

Todos os autores comentaram versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Declarações

Aprovação ética e consentimento para participar

O experimento foi conduzido de acordo com os regulamentos de pesquisa animal da UE, com o protocolo número 2018/VSC/PEA/0067. O teste foi realizado no Centro de Tecnologia e Pesquisa Animal (CITA-IVIA), localizado em Segorbe, (Castellón, Espanha).

Consentimento para publicação

Todos os autores verificaram o manuscrito e concordaram com a publicação.

Interesses competitivos

Os autores declaram não ter interesses conflitantes.

Referências

ALMUHANNA, E.; HASSAN (A.S. AHMED), A.; YOUSIF, Y. M. Effect of Air Contaminants on Poultry Immunological and Production Performance. *International Journal of Poultry Science*, v. 10, p. 461–470, 1 jun. 2011.

BANERJEE, D.; BISWAS, S.; DAIGLE, C.; SIEGFORD, J. Remote activity classification of hens using wireless body-mounted sensors. In: *Proceedings of the 2012 Ninth International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks*, 2012, p. 107-112.

BOWES, D.; HALL, T.; GRAY, D. Comparing the performance of fault prediction models which report multiple performance measures: recomputing the confusion matrix. 2012.

CARLILE, F. S. Ammonia in Poultry Houses: A Literature Review. *World's Poultry Science Journal*, v. 40, n. 2, p. 99–113, 1984.

CHOUKIDAR, G.; DAWANDE, N. Smart poultry farm automation and monitoring system. In: *International Conference on Computing, Communication, Control and Automation*, 2017, p. 1-5.

COMMISSION, E.--E. Directive 2000/39/EC of 8 June 2000 establishing a first list of indicative occupational exposure limit values in implementation of Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work. [s.l: s.n.].

DEBAUCHE, O.; MAHMOUDI, S.; MANNEBACK, P.; BINDELLE, J.; LEBEAU, F. Edge computing and artificial intelligence for real-time poultry monitoring. In: *Procedia Computer Science*, v. 175, 2020, p. 534-541.

EUROPEA, C. Commission directive 2009/161/EU of 17 December 2009 establishing a third list of indicative values of occupational exposure. *La Medicina del lavoro*, v. 101, n. 2, p. 145, 2010.

FERNANDEZ, A.; NORTON, T.; TULLO, E.; VAN HERTEM, T.; YOUSSEF, A.; EXADAKTYLOS, V.; VRANKEN, E.; GUARINO, M.; BERCKMANS, D. Real-time monitoring of broiler flock's welfare status using camera-based technology. In: *Biosystems Engineering*, v. 173, 2018, p. 103-114.

GUNAWAN, T.; SABAR, M.; NASIR, H.; KARTIWI, M.; MOTAKABBER, S. Development of smart chicken poultry farm using RTOS on Arduino. In: *IEEE International Conference on Smart Instrumentation, Measurement and Application*, 2019, p. 1-5.

HALL, M. et al. The WEKA data mining software: an update. *ACM SIGKDD explorations newsletter*, v. 11, n. 1, p. 10–18, 2009.

HAN, J.; KAMBER, M.; PEI, J. *Data mining concepts and techniques third edition*. University of Illinois at Urbana-Champaign Micheline Kamber Jian Pei Simon Fraser University, 2012.

HINZ, T.; WINTER, T.; LINKE, S. Luftfremde Stoffe in und aus verschiedenen Haltungssystemen für Legehennen–Teil 1: Ammoniak. *Landbauforsch*, v. 60, n. 3, p. 139–150, 2010.

KEARNEY, G. D. et al. Evaluation of Respiratory Symptoms and Respiratory Protection Behavior Among Poultry Workers in Small Farming Operations. *Journal of Agromedicine*, v. 19, n. 2, p. 162–170, 2014.

KOERKAMP, P. W. G. G.; BLEIJENBERG, R. Effect of type of aviary, manure and litter handling on the emission kinetics of ammonia from layer houses. *British Poultry Science*, v. 39, n. 3, p. 379–392, 1998.

KRISTENSEN, H. H.; WATHES, C. M. Ammonia and poultry welfare: a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 56, n. 03, p. 235–245, 2000.

KÜÇÜKTOPCU, E.; CEMEK, B. Comparison of neuro-fuzzy and neural networks techniques for estimating ammonia concentration in poultry farms. In: *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, n. 4, 2021, p. 105699.

LAHLOUH, I.; RERHRHAYE, F.; ELAKKARY, A.; SEFIANI, N. Experimental implementation of a new multi-input multi-output fuzzy-PID controller in a poultry house system. In: *Heliyon*, v. 6, n. 8, 2020, e04645.

LAROSE, D. T. *Data mining and predictive analytics*. [s.l.] John Wiley & Sons, 2015.

LASHARI, M.; MEMON, A.; SHAH, S.; NENWANI, K.; SHAFQAT, F. IoT Based Poultry Environment Monitoring System. In: *IEEE International Conference on Internet of Things and Intelligence System*, 2018, p. 1-5.

LI, G.; JI, B.; LI, B.; SHI, Z.; ZHAO, Y.; DOU, Y.; BROCATO, J. Assessment of layer pullet drinking behaviors under selectable light colors using convolutional neural network. In: *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 172, 2020, p. 105333.

LORECENA, M.; SOUTHER, L.; CASANOVA, D.; RIBEIRO, R.; TEIXEIRA, M. A framework for modeling, control, and supervision of poultry farming. In: *International Journal of Production Research*, v. 58, n. 10, 2020, p. 3164-3179.

MANSUR, B. et al. Host immune response to infectious bronchitis virus Q1 in two commercial broiler chicken lines. *Research in Veterinary Science*, v. 136, p. 587–594, maio 2021.

NÄÄS, I. DE A. et al. Ambiência aérea em alojamento de frangos de corte: poeira e gases. *Engenharia Agrícola*, v. 27, p. 326–335, 2007.

NAGARAJA, K. V et al. Effect of ammonia on the quantitative clearance of *Escherichia coli* from lungs, air sacs, and livers of turkeys aerosol vaccinated against *Escherichia coli*. *American journal of veterinary research*, v. 45, n. 2, p. 392–395, 1984.

NEMER, M. et al. Airway inflammation and ammonia exposure among female Palestinian hairdressers: A cross-sectional study. *Occupational and Environmental Medicine*, v. 72, n. 6, p. 428–434, 2015.

NICHOLSON, F. A.; CHAMBERS, B. J.; WALKER, A. W. Ammonia emissions from broiler litter and laying hen manure management systems. *Biosystems Engineering*, v. 89, n. 2, p. 175–185, 2004.

OLIVEIRA, M. D. et al. Ammonia emission in poultry facilities: a review for tropical climate areas. *Atmosphere*, v. 12, n. 9, p. 1091, 2021.

OWADA, A. N. et al. Estimativa de bem-estar de frango de corte em função da concentração de amônia e grau de luminosidade no galpão de produção. *Engenharia Agrícola*, v. 27, n. 3, p. 611–618, 2007.

PESCATORE, A. J.; CASEY, K. D.; GATES, R. S. Ammonia emissions from broiler houses. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 14, n. 3, p. 635–637, 2005.

RAYNER, A. C. et al. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.

TASISTRO, A. S.; RITZ, C. W.; KISSEL, D. E. Ammonia emissions from broiler litter: Response to bedding materials and acidifiers. *British Poultry Science*, v. 48, n. 4, p. 399–405, 2007.

TAUSON, R.; HOLM, K. E. First furnished small group cages for laying hens in evaluation program on commercial farms in Sweden. 2001.

TI, C. et al. Potential for mitigating global agricultural ammonia emission: a meta-analysis. *Environmental Pollution*, v. 245, p. 141–148, 2019.

UÇAR, M. K. et al. The effect of training and testing process on machine learning in biomedical datasets. *Mathematical Problems in Engineering*, v. 2020, 2020.

WEI, F. X. et al. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 2, p. 3160–3169, 2015.

YI, B. et al. Transcriptome profile analysis of breast muscle tissues from high or low levels of atmospheric ammonia exposed broilers (*Gallus gallus*). *PLoS ONE*, v. 11, n. 9, p. 1–15, 2016.

ZARNAB, S. et al. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its amelioration by different modifiers. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 39, n. 3, p. 371–376, 2019.

ZHAO, L. et al. Ammonia concentrations and emission rates at a commercial poultry manure composting facility. *Biosystems Engineering*, v. 150, p. 69–78, 2016.

ZHOU, Y. et al. Effects of ammonia exposure on growth performance and cytokines in the serum, trachea, and ileum of broilers. *Poultry Science*, v. 99, n. 5, p. 2485–2493, maio 2020.

ZHOU, Y. et al. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 100, n. 2, p. 685–696, fev. 2021.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação ao primeiro estudo, observou-se que a redução das concentrações de amônia teve uma baixa influência nos parâmetros produtivos, independentemente da linhagem de frango de corte utilizada (animais de crescimento lento ou rápido) ou da densidade de alojamento (32 vs. 16 kg m⁻² na idade de abate). No entanto, os animais mantidos em uma densidade de alojamento mais baixa tiveram uma taxa de conversão melhor do que aqueles em alta densidade, e expostos a maior concentração de amônia.

Animais de crescimento lento foram expostos a uma concentração de amônia por mais tempo do que animais de crescimento rápido. Não foram encontrados efeitos nos parâmetros de crescimento, mas o aumento do peso dos órgãos imunes (baço) sugere um efeito deletério na resposta imune. Porém, apesar de ser um indício, não é possível afirmar que haja uma disfunção imunológica baseada apenas no peso dos órgãos linfoides. Portanto, recomendamos que novas pesquisas sejam realizadas nessa direção.

As práticas de criação que melhoram as condições dos animais além dos requisitos legais mínimos parecem ter um efeito baixo na produtividade.

Já no segundo estudo realizado empregando mineração de dados, o melhor modelo preditivo capaz de avaliar e obter melhor desempenho é o Multilayer Perceptron quando consideramos maior acerto por nível de risco de exposição à amônia no processo de produção de frangos de corte, incluindo crescimento rápido e lento.

Aves expostas à maiores níveis de concentração de amônia apresentam coeficiente de correlação maior quando forte é a relação entre as variáveis. O coeficiente de correlação de Spearman mostra uma associação mais forte entre maiores riscos de exposição à amônia e a incidência de lesões nos fran

REFERÊNCIAS

ABOUELENIEN, F.; KHALFALLA, F.; MOUSABALABEL, T.; NASSER, S. Effect of Stocking Density and Bird Age on Air Ammonia, Performance and Blood Parameters of Broilers. **World s Vet. J.** 2016, 6, 130, doi:10.5455/wvj.20160878.

ALMUHANNA, E.; HASSAN (A.S. AHMED), A.; YOUSIF, Y. M. Effect of Air Contaminants on Poultry Immunological and Production Performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 461–470, 1 jun. 2011.

ANDERSON, D. P.; BEARD, C. W.; HANSON, R. P. Influence of poultry house dust, ammonia, and carbon dioxide on the resistance of chickens to Newcastle disease virus. **Avian Diseases**, v. 10, n. 2, p. 177–188, 1966.

ANDERSON, D. P.; BEARD, C. W.; HANSON, R. P. The adverse effects of ammonia on chickens including resistance to infection with Newcastle disease virus. **Avian Diseases**, v. 8, n. 3, p. 369–379, 1964.

BEKER, A.; VANHOOSER, S.L.; SWARTZLANDER, J.H.; TEETER, R.G. Atmospheric ammonia concentration effects on broiler growth and performance. **J. Appl. Poult. Res.** 2004, 13, 5–9, doi:10.1093/japr/13.1.5.

BOWES, D., HALL, T., & GRAY, D. (2012). Comparing the performance of fault prediction models which report multiple performance measures: recomputing the confusion matrix. In Proceedings of the **8th International Conference on Predictive Models in Software Engineering** (pp. 109-118). ACM.

BUIJS, S.; KEELING, L.; RETTENBACHER, S.; VAN POUCKE, E.; TUYTTENS, F.A.M. Stocking density effects on broiler welfare: Identifying sensitive ranges for different indicators. **Poult. Sci.** 2009, 88, 1536–1543, doi:10.3382/ps.2009-00007.

BULLIS, K. L.; SNOEYENBOS, G. H.; VAN ROEKEL, H. A keratoconjunctivitis in chickens. **Poultry Science**, v. 29, n. 3, p. 386–389, 1950.

CALVET, S.; CAMBRA-LÓPEZ, M.; ESTELLÉS, F.; TORRES, A.G. Characterization of gas emissions from a Mediterranean broiler farm. **Poult. Sci.** 2011, 90, 534–542, doi:10.3382/ps.2010-01037.

CARLILE, F. S. Ammonia in Poultry Houses: A Literature Review. **World's Poultry Science Journal**, v. 40, n. 2, p. 99–113, 1984.

COMMISSION, E.--E. **Directive 2000/39/EC of 8 June 2000** establishing a first list of indicative occupational exposure limit values in implementation of **Council Directive 98/24/EC** on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work. [s.l: s.n.].

COSTANTINO, A.; FABRIZIO, E.; VILLAGRÁ, A.; ESTELLÉS, F.; CALVET, S. The reduction of gas concentrations in broiler houses through ventilation: Assessment of the thermal and electrical energy consumption. **Biosyst. Eng.** 2020, 199, 135–148, doi:10.1016/j.biosystemseng.2020.01.002.

DAGTEKİN, M.; OZTURK, H. H. **Effect of various litter materials on ammonia concentration in broiler poultry houses.** v. 3, n. 1, p. 126–131, 2015.

DALHAMN, T. Mucous flow and ciliary activity in the trachea of healthy rats and rats exposed to respiratory irritant gases (SO₂, H₃N, HCHO): a functional and morphologic (light microscopic and electron microscopic) study, with special reference to technique. **Acta physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 36, n. 123, p. 1–161, 1956.

DONHAM, K. J. et al. Dose-response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: recommendations for exposure limits. **Journal of occupational and environmental medicine**, p. 260–269, 2000.

EUROPEA, C. Commission directive 2009/161/EU of 17 December 2009 establishing a third list of indicative values of occupational exposure. **La Medicina del lavoro**, v. 101, n. 2, p. 145, 2010.

FERGUSON, N.S.; GATES, R.S.; TARABA, J.L.; CANTOR, A.H.; PESCATORE, A.J.; FORD, M.J.; BURNHAM, D.J. The Effect of Dietary Crude Protein on Growth, Ammonia Concentration, and Litter Composition in Broilers. **Poult. Sci.** 1998, 77, 1481–1487, doi:10.1093/ps/77.10.1481.

FREIRE, R.; WILKINS, L.J.; SHORT, F.; NICOL, C.J. Behaviour and welfare of individual laying hens in a non-cage system. **Br. Poult. Sci.** 2003, 44, 22–29, doi:10.1080/0007166031000085391.

HALL, M., FRANK, E., HOLMES, G., PFAHRINGER, B., REUTEMANN, P., & WITTEN, I. H. (2009). **The WEKA data mining software: an update. ACM SIGKDD explorations newsletter**, 11(1), 10-18.

HAN J., KAMBER M., PEI J. Classification: Basic Concepts. Editor(s): Jiawei Han, Micheline Kamber, Jian Pei. In: **The Morgan Kaufmann Series in Data Management Systems**. Data Mining (Third Edition). Morgan Kaufmann, 2012, pages 327-391. ISBN 9780123814791. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381479-1.00008-3>.

HINZ, T.; WINTER, T.; LINKE, S. Luftfremde Stoffe in und aus verschiedenen Haltungssystemen für Legehennen–Teil 1: **Ammoniak. Landbauforsch**, v. 60, n. 3, p. 139–150, 2010.

KEARNEY, G.D.; SHAW, R.; PRENTICE, M.; TUTOR-MARCOM, R. Evaluation of Respiratory Symptoms and Respiratory Protection Behavior Among Poultry Workers in Small Farming Operations. **J. Agromedicine** 2014, 19, 162–170, doi:10.1080/1059924X.2014.886536.

KOERKAMP, P. W. G. G.; BLEIJENBERG, R. Effect of type of aviary, manure and litter handling on the emission kinetics of ammonia from layer houses. **British Poultry Science**, v. 39, n. 3, p. 379–392, 1998.

KRISTENSEN, H. H.; WATHES, C. M. Ammonia and poultry welfare: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 56, n. 03, p. 235–245, 2000.

KRISTENSEN, H.H.; WATHES, C.M. Ammonia and poultry welfare: a review. **Worlds. Poult. Sci. J.** 2000, 56, 235–245, doi:10.1079/WPS20000018.

KÜÇÜKTOPCU, E.; CEMEK, B. Comparison of neuro-fuzzy and neural networks techniques for estimating ammonia concentration in poultry farms. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105699, 2021.

LAROSE D.T. & LAROSE C.D. (2015). **Data mining and predictive analytics. John Wiley & Sons.** (2nd ed.) Hoboken, New Jersey, USA.

LI, X.M.; ZHANG, M.H.; LIU, S.M.; FENG, J.H.; MA, D.D.; LIU, Q.X.; ZHOU, Y.; WANG, X.J.; XING, S. Effects of stocking density on growth performance, growth regulatory factors, and endocrine hormones in broilers under appropriate environments. **Poult. Sci.** 2019, 98, 6611–6617, doi:10.3382/ps/pez505.

LIU, H.; BAI, S.P.; ZHANG, K.Y.; DING, X.M.; WANG, J.P.; ZENG, Q.F.; PENG, H.W.; BAI, J.; XUAN, Y.; SU, Z.W. Effects of stocking density on the performance, tibia mineralization, and the expression of hypothalamic appetite genes in broiler chickens. **Ann. Anim. Sci.** 2021, 21, 1103–1117, doi:10.2478/AOAS-2020-0110.

MALISELO, P. S.; NKONDE, G. K. Ammonia Production In Poultry Houses And Its Effect On The Growth Of Gallus Gallus Domestica Broiler Chickens A Case Study Of A Small Scale Poultry House In Riverside Kitwe Zambia. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 4, n. 4, p. 141–145, 2015.

MANSWR, B.; BALL, C.; FORRESTER, A.; CHANTREY, J.; GANAPATHY, K. Host immune response to infectious bronchitis virus Q1 in two commercial broiler chicken lines. **Res. Vet. Sci.** 2021, 136, 587–594, doi:10.1016/J.RVSC.2021.04.020.

MILES, D.M.; BRANTON, S.L.; LOTT, B.D. Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. **Poult. Sci.** 2004, 83, 1650–1654, doi:10.1093/ps/83.10.1650.

MILES, D.M.; MILLER, W.W.; BRANTON, S.L.; MASLIN, W.R.; LOTT, B.D. Ocular Responses to Ammonia in Broiler Chickens. **Avian Dis.** 2006, 50, 45–49, doi:10.1637/7386-052405r.1.

MILES, D.M.; ROWE, D.E.; CATHCART, T.C. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. **Poult. Sci.** 2011, 90, 1162–1169, doi:10.3382/ps.2010-01113.

NÄÄS, I. DE A. et al. Ambiência aérea em alojamento de frangos de corte: poeira e gases. **Engenharia Agrícola**, v. 27, p. 326–335, 2007.

NAGARAJA, K. V et al. Effect of ammonia on the quantitative clearance of Escherichia coli from lungs, air sacs, and livers of turkeys aerosol vaccinated against Escherichia coli. **American journal of veterinary research**, v. 45, n. 2, p. 392–395, 1984.

NEMER, M.; SIKKELAND, L.I.B.; KASEM, M.; KRISTENSEN, P.; NIJEM, K.; BJERTNESS, E.; SKARE, Ø.; BAKKE, B.; KONGERUD, J.; SKOGSTAD, M. Airway inflammation and ammonia exposure among female Palestinian hairdressers: A cross-sectional study. **Occup. Environ. Med.** 2015, 72, 428–434, doi:10.1136/oemed-2014-102437.

NICHOLSON, F. A., CHAMBERS, B. J., & WALKER, A. W. (2004). Ammonia emissions from broiler litter and laying hen manure management systems. **Biosystems Engineering**, 89(2), 175-185. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2004.06.006>.

NIMMERMARK, S. et al. Ammonia, dust and bacteria in welfare-oriented systems for laying hens. **Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM**, v. 16, n. 1, p. 103–113, 2009.

OLANREWAJU, H. A. et al. **Interactive effects of ammonia and light intensity on ocular, fear and leg health in broiler chickens.** 2007.

OLIVEIRA, M. D., SOUSA, F. C., SARAZ, J. O., CALDERANO, A. A., TINÔCO, I. F. F., & CARNEIRO, A. P. S. (2021). **Ammonia emission in poultry facilities: a review for tropical climate areas.** *Atmosphere*, 12(9), 1091. <https://doi.org/10.3390/atmos12091091>

OWADA, A. N. et al. Estimativa de bem-estar de frango de corte em função da concentração de amônia e grau de luminosidade no galpão de produção. **Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 3, p. 611–618, 2007.

OYETUNDE, O. O.; THOMSON, R. G.; CARLSON, H. C. Aerosol exposure of ammonia, dust and *Escherichia coli* in broiler chickens. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 19, n. 7, p. 187, 1978.

PEREIRA, D. F. et al. Correlations among behavior, performance and environment in broiler breeders using multivariate analysis. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 9, n. 4, p. 207–213, 2007.

PESCATORE, A. J., CASEY, K. D., & GATES, R. S. (2005). Ammonia emissions from broiler houses. **Journal of Applied Poultry Research**, 14(3), 635-637. <https://doi.org/10.1093/japr/14.3.635>.

POPE, C.R. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 1991, 30, 31–44, doi:10.1016/0165-2427(91)90006-X.

PURSWELL, J.L.; DAVIS, J.D.; KIESS, A.S.; COUFAL, C.D. Effects of frequency of multiple applications of litter amendment on litter ammonia and live performance in a shared airspace. **J. Appl. Poult. Res.** 2013, 22, 469–473, doi:10.3382/japr.2012-00669.

QUARLES, C. L.; CAVENY, D. D. Effect of air contaminants on performance and quality of broilers. **Poultry Science**, v. 58, n. 3, p. 543–548, 1979.

QUARLES, C. L.; KLING, H. F. Evaluation of ammonia and infectious bronchitis vaccination stress on broiler performance and carcass quality. **Poultry Science**, v. 53, n. 4, p. 1592–1596, 1974.

RAVINDRAN, V.; THOMAS, D. V.; THOMAS, D.G.; MOREL, P.C.H. Performance and welfare of broilers as affected by stocking density and zinc bacitracin supplementation. **Anim. Sci. J.** 2006, 77, 110–116, doi:10.1111/j.1740-0929.2006.00327.x.

RAYNER, A.C.; NEWBERRY, R.C.; VAS, J.; MULLAN, S. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. **Sci. Rep.** 2020, 10, 1–14, doi:10.1038/s41598-020-72198-x.

SOLIMAN, E.S.; HASSAN, R.A. Evaluation of superphosphate and meta-bisulfide efficiency in litter treatment on productive performance and immunity of broilers exposed to ammonia stress. **Adv. Anim. Vet. Sci.** 2017, 5, 253–259, doi:10.17582/journal.aavs/2017/5.6.253.259.

SUTTON, C.D. 2005. **Handbook of Statistics**. Penn State University. Pennsylvania. 24: 303-329.

TASISTRO, A.S.; RITZ, C.W.; KISSEL, D.E. Ammonia emissions from broiler litter: Response to bedding materials and acidifiers. **Br. Poult. Sci.** 2007, 48, 399–405, doi:10.1080/00071660701473865.

TAUSON, R.; HOLM, K. E. **First furnished small group cages for laying hens in evaluation program on commercial farms in Sweden**. 2001.

TI, C., XIA, L., CHANG, S. X., & YAN, X. (2019). Potential for mitigating global agricultural ammonia emission: a meta-analysis. **Environmental Pollution**, 245, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.124>.

UÇAR, M. K., NOUR, M., SINDI, H., & POLAT, K. (2020). The effect of training and testing process on machine learning in biomedical datasets. **Mathematical Problems in Engineering**, 2020, pp. 1-17, <https://doi.org/10.1155/2020/2836236>

VALENTINE, H. A study of the effect of different ventilation rates on the ammonia concentrations in the atmosphere of broiler houses. **British Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 149–159, 1964.

WISEK, W. J. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 3, p. 481–498, 1984.

VISEK, W. J. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. **Journal of dairy science**, v. 51, n. 2, p. 286–295, 1968.

WANG, Y.M.; MENG, Q.P.; GUO, Y.M.; WANG, Y.Z.; WANG, Z.; YAO, Z.L.; SHAN, T.Z. Effect of Atmospheric Ammonia on Growth Performance and Immunological Response of Broiler Chickens. **J. Anim. Vet. Adv.** 2010, 22, 2802–2806.

WEI, F.X.; HU, X.F.; XU, B.; ZHANG, M.H.; LI, S.Y.; SUN, Q.Y.; LIN, P. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. **Genet. Mol. Res.** 2015, 14, 3160–3169, doi:10.4238/2015.April.10.27.

XING, H.; LUAN, S.; SUN, Y.; SA, R.; ZHANG, H. Effects of ammonia exposure on carcass traits and fatty acid composition of broiler meat. **Anim. Nutr.** 2016, 2, 282–287, doi:10.1016/j.aninu.2016.07.006.

YI, B.; CHEN, L.; SA, R.; ZHONG, R.; XING, H.; ZHANG, H. Transcriptome profile analysis of breast muscle tissues from high or low levels of atmospheric ammonia exposed broilers (*Gallus gallus*). **PLoS One** 2016, 11, e0162631, doi:10.1371/journal.pone.0162631.

ZARNAB, S. et al. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its amelioration by different modifiers. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 39, n. 3, p. 371–376, 2019.

ZARNAB, S.; CHAUDHARY, M.S.; JAVED, M.T.; KHATOON, A.; SALEEMI, M.K.; AHMED, T.; TARIQ, N.; MANZOOR, F.; JAVED, I.; ZHANG, H.; ET AL. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its amelioration by different modifiers. **Pak. Vet. J.** 2019, 39, 371–376, doi:10.29261/pakvetj/2019.068.

ZHAO, L., HADLOCON, L. J. S., MANUZON, R. B., DARR, M. J., KEENER, H. M., HEBER, A. J., & NI, J. (2016). Ammonia concentrations and emission rates at a commercial poultry manure composting facility. **Biosystems Engineering**, 150, 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.07.006>.

ZHOU, Y.; LIU, Q.X.; LI, X.M.; MA, D.D.; XING, S.; FENG, J.H.; ZHANG, M.H. Effects of ammonia exposure on growth performance and cytokines in the serum, trachea, and ileum of broilers. **Poult. Sci.** 2020, 99, 2485–2493, doi:10.1016/J.PSJ.2019.12.063.

ZHOU, Y.; ZHANG, M.; LIU, Q.; FENG, J. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. **Poult. Sci.** 2021, 100, 685–696, doi:10.1016/J.PSJ.2020.11.026.

ANEXOS

CAPÍTULO I –

Article

Assessment of Husbandry Practices That Can Reduce the Negative Effects of Exposure to Low Ammonia Concentrations in Broiler Houses

Leonardo V. S. Barbosa ^{1,*}, Daniella J. De Moura ^{1,*} , Fernando Estellés ² , Adrian Ramón-Moragues ³, Salvador Calvet ² and Arantxa Villagrà ³

¹ College of Agricultural Engineering, State University of Campinas, 501 Candido Rondon Avenue, São Paulo 13083-875, Brazil

² Institute of Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s.n., 46022 Valencia, Spain; feresbar@upv.es (F.E.); salcalsa@upvnet.upv.es (S.C.)

³ Centro de Investigación en Tecnología Animal (CITA), Valencian Institute for Agricultura Research (IVIA), 12400 Segorbe, Spain; armzulu@gmail.com (A.R.-M.); villagra_ara@gva.es (A.V.)

* Correspondence: valentino.leo@icloud.com (L.V.S.B.); djmoura@unicamp.br (D.J.D.M.); Tel.: +55-19-984417811 (L.V.S.B.)

Simple Summary: We used two commercial breeds, differing in growth rate: Fast-growing breed and slow-growing breed. We stocked these birds in two different densities. The slow-growing birds was stocked at a high density and the fast-growing birds at a high density and low density. These birds were reared under two different environmental conditions: A control room with a low concentration of ammonia and a second room with a higher concentration. We analyzed management practices such as the effect of ventilation, animal density and growth rate as management possibilities to reduce the negative effect of ammonia on production parameters.

Abstract: Ammonia is an important pollutant emitted by broiler litter that can accumulate inside farms, impairing animal health and welfare productivity. An experiment was designed to evaluate of precision husbandry practices such as the effect of ventilation, animal density and growth rate as management options to reduce the adverse effects of ammonia exposure on productive parameters in broiler houses. Two identical experimental rooms were used in this study. They were programmed to differ in ammonia concentration from day 32 of the growing period (10 and 20 ppm in Room 1 and Room 2, respectively). Three treatments were tested in each room: slow growth in high stocking density (SHD), fast growth in low density (FLD) and fast growth in high density (FHD). Animal weight, feed intake and feed conversion ratio were determined weekly. In addition, the immune status of animals was assessed by weighing the organs related to immune response as stress indicators. Increasing ventilation was effective to control ammonia concentrations. Exposure to ammonia caused no significant effect on productive parameters. However, lowering stocking density improved response to higher ammonia concentrations by lowering the feed conversion ratio. No other relevant effects of differential exposure to ammonia were found in fast-growing animals, either at high or low stocking density. The use of slow-growing breeds had no effect on production parameters. Despite having a slower growth rate, their feed conversion ratio was not different from that of fast-growing breeds. The productive performance of slow-growing animals was not affected by the differential exposure to ammonia, but the reduced spleen size would suggest an impairment of the immune system.

Keywords: animal welfare; animal health; immune system; productive parameters; management



Citation: Barbosa, L.V.S.; De Moura, D.J.; Estellés, F.; Ramón-Moragues, A.; Calvet, S.; Villagrà, A. Assessment of Husbandry Practices That Can Reduce the Negative Effects of Exposure to Low Ammonia Concentrations in Broiler Houses. *Animals* **2022**, *12*, 1096. <https://doi.org/10.3390/ani12091096>

Academic Editor: Marian Stamp Dawkins

Received: 26 February 2022

Accepted: 20 April 2022

Published: 23 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Maintaining a proper rearing environment is essential in broiler production. Ammonia concentration in the air is one of the main factors impairing broiler health, welfare and

productivity. Exposure of animals to high ammonia levels causes irritation of mucous membranes and the respiratory tract, conjunctivitis and dermatitis [1–4]. Animals exposed to ammonia reduce feed consumption and consequently productivity is impaired through lower growth rate, higher mortality and worse feed conversion ratios [5–8]. It has also been demonstrated that high ammonia concentrations indirectly influence gene expression, affecting the immune response [9] and productivity in terms of slaughter performance and breast yield [10]. For those reasons, welfare regulations establish a concentration threshold for ammonia of 20 ppm according to European Directive 2007/43/CE.

However, the implications of levels below 20 ppm throughout the broiler production cycle are not well known. Most studies do not report relevant effects at concentrations lower than 20 ppm. However, there is evidence that animals' response starts under lower concentrations. It has been described that concentrations of 15 ppm did not affect growth performance, but induced an anti-inflammatory response in the ileum and altered the tracheal microbiota, causing respiratory tract injury [11,12]. Therefore, understanding the effects of concentrations lower than 20 ppm is necessary.

Precision husbandry practices are useful tools to reduce the negative impacts of ammonia exposure. More resilient animals, reducing animal density or increasing ventilation rates are effective practices on farms. Growth rate and animal density are related to animal resilience. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioral indicators of positive welfare [13]. Additionally, it has been reported that slow growing animals have a greater magnitude of innate immune response to infections [14]. Therefore, broilers with a lower growth rate may be expected to be more robust against ammonia exposure and less affected in terms of welfare, health and productivity. However, to the authors' knowledge, there is no information on how ammonia exposure affects slow-growing broilers differently from conventional broiler breeds. The effect of stocking density on broiler performance has been described in the literature [15], but the interacting effect of stocking density with the exposure to ammonia is not clear.

Engineering solutions are also available to control ammonia concentrations in broiler farms. The concentration of ammonia in the indoor air is therefore influenced by the diluting effect of ventilation. Ammonia comes from the breakdown of the uric acid excreted by the broilers [16]. The emission rate depends on litter moisture, and litter N content tends to increase as excreta is accumulated in bedding material [17]. Once emitted, the ammonia accumulates inside broiler houses until it is emitted to the atmosphere through the ventilation system. Adjusting ventilation is a strategic mechanism for maintaining an appropriate indoor air quality. It is possible to adjust ventilation to achieve proper indoor air quality, but this normally involves higher energy consumption [18]. Therefore, farmers need to have clear evidence of the welfare and productivity benefits of maintaining ammonia concentrations below certain thresholds.

The hypothesis motivating this study is that there may be additional benefits in reducing stressing factors (ammonia exposure, animal density or growth rate) below the common practice on farm. However, there is scarce information quantifying these effects. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of two ammonia concentrations (10 and 20 ppm), two broiler breeds (fast vs. medium growth rate) and stocking density (13 vs. 6.5 broiler/m²) on the productive performance and physiological parameters during one rearing cycle.

2. Materials and Methods

2.1. House Description

The experiment was conducted in accordance with the animal research regulations of the EU, with protocol number 2018/VSC/PEA/0067. The test was carried out at the Animal Technology and Research Center (CITA-IVIA), located in Segorbe, (Castellón, Spain). Two identical rooms (Room 1 and Room 2) were used in this trial. Each room had a dimension of 13.2 m × 5.95 m and had independent mechanical ventilation through ceiling fans (Figure 1).

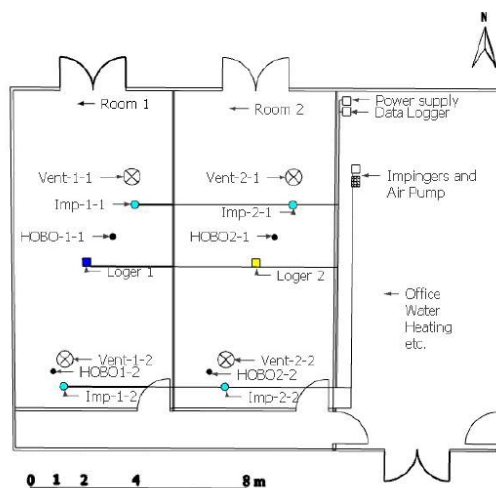


Figure 1. Top view of broiler house. Location of fans (Vent), temperature and relative humidity loggers (HOBO), and ammonia sensors is indicated.

An automated climate control system (DNP Climate Controller, Exafan, Spain) regulated ventilation rates according to commercial breed recommendations of temperature. The environmental temperature was gradually decreased from 32 °C (day 1) to 19 °C (day 42). Temperature was controlled using the climate controller sensor and was recorded together with relative humidity every 10 min using a data logger (HOBO U12, Onsetcomp, Bourne, MA, USA). Additionally, each room was equipped with one electrochemical ammonia sensor (DOL 53, Dräger, Germany). The location of these sensors is presented in Figure 1.

Ammonia was established as a criterion to operate ventilation. In Room 1, ventilation was programmed to maintain a maximum of 10 ppm ammonia, while in Room 2, it was programmed to reach a maximum of 20 ppm. These concentration conditions were programmed to be maintained from the fourth week, that is, in the second half of the production cycle, which is when the ammonia levels are usually higher inside the farms. From the start of the growing period until week 4 of age, both rooms were ventilated following an identical program based on temperature control and animal age. A propane heater was used to maintain adequate room temperatures. Wood shavings (5 cm) were used as the litter material.

The experiment was conducted in winter, when gas concentrations were expected to be higher due to lower ventilation rates. In order to promote NH_3 emissions and achieve the desired concentrations of ammonia, a urea solution was applied to the litter. Urea was applied manually using a backpack sprayer on days 32, 39, 51 and 56 of the growing period at a dose of 0.21 L m^{-2} of urea solution in distilled water.

2.2. Animals and Experimental Design

Two commercial breeds were used, differing in growth rate. The fast-growing breed was Ross®, with a slaughter age of 42 days. The slow-growing breed was Hubbard®, with a slaughter age of 63 days. Three treatments were tested. The first treatment (SHD) was slow-growing birds stocked at a high density (32 kg/m^2 at slaughter age). The second treatment (FHD) was fast-growing birds at a high density (32 kg/m^2 at slaughter age). The third treatment (FLD) was fast-growing birds at a final stocking density of 16 kg/m^2 .

The diet was provided ad libitum. Both commercial breeds received a commercial diet. The feed for the fast-growing breed stocked in high and low density consisted of the Nanta A80, and for the slow growing breed, Nanta A32.

In each room, 18 collective pens were installed to allocate 6 repetitions of each treatment. Each pen was provided with 3 nipple drinkers and a manual feeder and housed 17 birds. The dimensions of high-density pens, corresponding to SHD and FHD treatments, were $1 \times 1.3 \text{ m}^2$, whereas low-density pens (corresponding to FLD) had the same number of animals in double the surface area ($2 \times 1.3 \text{ m}^2$). Therefore, in each room, 204 fast-growing and 102 slow-growing birds were housed inside the pens. As the pens only occupied a part of each room, 319 broilers were allocated in the space outside the pens in each room. This was completed to simulate the real ambient conditions inside a broiler house, where ammonia comes from litter. Therefore, a total of 625 birds were used in each room. All birds were fed with commercial starter feed from day 1 to day 18 of testing, and from day 18 until the end of the test, each strain was fed with different feeds according to their demands (Figure 2).



Figure 2. Experimentation room with details of the layout of the experimental compartments.

2.3. Animal Performance and Health

All the animals housed in the pens were weighed weekly. Feed consumption was also measured in each pen on a weekly basis. The average daily weight gain (DWG) per bird was subsequently calculated for each week of rearing and that accumulated during the test (42 days FLD and FHD and 63 for SHD). The feed conversion rate (FCR) was also calculated for each week and at a cumulative level by dividing the amount of feed consumed by each pen by the growth of all the birds in it.

Thirty animals per treatment were slaughtered on days 21 and 42 to measure the weight of organs related with the immune system. Slow-growing animals were also sampled on day 63. Animals were slaughtered with electric stunning. The immune organs taken from each animal were the spleen, thymus gland, liver and bursa of Fabricius. Organs were weighed using a precision scale (Ohaus Pioneer, PX, Nanikon, Switzerland). Afterwards, weight ratios of each organ were made according to the weight of the birds from which it came to check physiological and anatomical disorders in the immune system organs. On day 63, Fabricio's bag could not be obtained due to its small size or nonexistence, as this organ tends to disappear as animals grow.

2.4. Data Analysis

Recorded values of ambient temperature, ventilation rate and ammonia concentration were integrated into daily average values presented for descriptive purposes.

The study data showed a normal distribution for the mean test estimates. The statistical analysis of each measured variable was conducted per week of age and accumulated throughout the growing period. A one-way ANOVA analysis was conducted using the software Satgraphics Centurion XVIII, according to the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

where: Y_{ijk} = studied variable (week or accumulated value).

μ = general mean.

T_i = treatment (SHD Room 1, SHD Room 2, FHD Room 1, FHD Room 2, FLD Room 1, FLD Room 2).

ε_{ij} = residual error.

3. Results and Discussion

3.1. Control of Environmental Parameters

Environment conditions (temperature, relative humidity, ammonia concentration and ventilation rate) during the experiment are presented in the Table 1. Since both rooms had an identical number of animals and management, this difference in concentration was promoted through increasing ventilation in Room 1 as compared to Room 2.

Table 1. Weekly average values of temperature (°C), relative humidity (%) ventilation rate ($\text{m}^3 \text{h}^{-1} \text{animal}^{-1}$) and ammonia concentration (ppm) in the broiler houses (Room 1 and Room 2).

	Temperature (°C)		Relative Humidity (%)		Ventilation Rate ($\text{m}^3 \text{h}^{-1} \text{animal}^{-1}$)		NH ₃ Concentration (ppm)	
	Room 1	Room 2	Room 1	Room 1	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2
Week 1	33.1	33.0	22.1	22.9	0.8	0.3	0.0	0.0
Week 2	29.8	29.5	29.4	31.7	4.2	3.7	0.0	0.0
Week 3	27.0	26.3	29.1	31.5	5.5	5.8	0.0	0.0
Week 4	24.7	23.8	29.5	30.5	6.5	7.7	0.0	0.0
Week 5	21.9	22.8	46.4	50.7	3.9	3.5	0.3	6.5
Week 6	20.3	22.0	54.1	59.2	3.5	2.5	4.5	19.0
Week 7	19.7	22.2	55.9	61.1	5.0	2.6	9.0	20.4
Week 8	20.4	21.7	48.4	50.8	6.5	3.7	12.5	14.4
Week 9	19.9	21.5	51.1	54.7	6.8	4.4	10.1	16.1

Air temperature (Table 1) followed the recommendations for the broiler strains used in this study. Both rooms had a similar temperature during the first four weeks. However, from week 5, the higher ventilation rates in Room 1 caused its average temperature to be reduced by 1.7 °C on average. However, the difference of 1.7 °C was obtained in the general average of all the weeks studied. In the first two weeks, which are the most critical, this difference did not reach 0.3 °C, thus being practically identical in temperature conditions is not enough to cause differences in the performance of the birds. Relative humidity was very similar between rooms. During the four initial weeks, ventilation was kept high, and near-zero ammonia concentration was detected (Table 1). From week 5 until the end of the experiment, the climate control system was operated to create the desired difference in ammonia concentration, averaging 8.27 ppm in Room 1 and 17.1 ppm in Room 2.

3.2. Animal Performance

The evolution of animal weight is presented in Table 2. As expected, slow-growing animals had lower weight than the fast-growing ones of the same age from the early stages of the growing period. During the first week, some differences were found among

treatments, which could be related to the random choice of animals at the beginning of the experiment. Differences were also found in weeks 3 and 4 between slow-growing animals in both rooms. In those weeks, animals housed in Room 1 had a lower weight than those in Room 2. No more differences were found between slow-growing animals from day 35 until the end of the experiment. For fast-growing broilers, no differences in weight were detected between treatments from day 14 for animals kept at either high or low density.

Table 2. Evolution of animal weight (g per bird) during the rearing period ($n = 30$ animals per treatment).

Age (days)	Treatment SHD		Treatment FHD		Treatment FLD		S.E.	p-Value
	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2		
7	134.4 ^a	144.8 ^{ab}	164.4 ^d	151.1 ^{bc}	160.4 ^{cd}	160.5 ^{cd}	3.9	≤0.05
14	338.8 ^a	307.4 ^a	390.3 ^b	436.1 ^b	419.5 ^b	437.7 ^b	16.6	≤0.05
21	525.8 ^a	563.3 ^b	775.4 ^c	801.1 ^c	780.6 ^c	797.7 ^c	11.9	≤0.05
28	853.8 ^a	960.8 ^b	1242.7 ^c	1226.5 ^c	1239.2 ^c	1227.9 ^c	29.8	≤0.05
35	1294.1 ^a	1302.2 ^a	1840.8 ^b	1779.3 ^b	1825.9 ^b	1750.7 ^b	35.2	≤0.05
42	1769.0 ^a	1801.1 ^a	2527.3 ^b	2415.0 ^b	2475.6 ^b	2446.6 ^b	53.8	≤0.05
49	2192.0 ^a	2276.3 ^a	-	-	-	-	69.1	0.40
56	2676.8 ^a	2776.0 ^a	-	-	-	-	94.8	0.48
63	3127.7 ^a	3275.2 ^a	-	-	-	-	103.0	0.35

Different letters within a row indicate statistically significant differences among treatments. SHD = slow growing and high density; FHD = fast growing and high density; FLD = fast growing and low density. S.E. = standard error. Room 1 was programmed to reach maximum 10 ppm NH₃ and Room 2 to maximum 20 ppm NH₃.

Table 3 shows feed consumption per treatment and week. Among slow-growing animals, differences between rooms were only found from day 35 to day 42, when animals in Room 2 consumed more feed than in Room 1. No differences were found between rooms for fast-growing animals kept at a high density. However, feed consumption was higher in week 5 for low-density animals in Room 2 compared to Room 1. The accumulated feed consumption at the end of the growing period was higher for slow-growing animals (6.42 and 6.79 in Room 1 and Room 2, respectively) than for fast-growing animals, both at a high density (5.35 and 5.33 in Room 1 and Room 2, respectively) and at a low density (5.03 and 4.71 in Room 1 and Room 2, respectively). In summary, slow-growing animals consumed less feed per week but had higher feed consumption at the end of their growing period since their lifetime was three weeks longer (63 days for slow-growing animals and 42 days for fast-growing animals). Comparing fast-growing animals, those animals kept at a lower density and higher ammonia concentration (Room 2) had lower feed consumption at the end of the growing period.

Table 4 shows the evolution of feed conversion ratio depending on animal age. For the same treatment, no differences were found between Room 1 and Room 2. It was observed that both fast- and slow-growing animals kept at a high density had a similar feed conversion ratio at the end of their growing period. This means a proportional reduction in animal growth rate and feed consumption of slow-growing animals compared to fast-growing animals. However, fast-growing animals kept at a low density had a lower conversion ratio, particularly in those animals subjected to higher ammonia concentrations (Room 2). For the feed conversion ratio accumulated at 28 days of age, values of 1.90 were obtained for SHD, 2.00 for FHD, and 1.96 for FLD stocked in Room 1, and 1.66 for SHD, 2.01 for FHD and 1.82 for FLD stocked in Room 2. At 42 days of age, the following values were obtained: 1.76 for SHD, 2.16 for FHD and 2.09 for FLD stocked in Room 1, and 1.80 for SHD, 2.25 for FHD and 1.96 for FLD stocked in Room 2.

Table 3. Evolution of feed consumption (g per animal and week) during the rearing period ($n = 30$ animals per treatment).

Age (days)	Treatment SHD		Treatment FHD		Treatment FLD		S.E.	p-Value
	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2		
7	0.116 ^a	0.113 ^a	0.136 ^b	0.132 ^b	0.132 ^b	0.128 ^b	0.004	≤0.05
14	0.256 ^a	0.255 ^a	0.368 ^b	0.373 ^b	0.350 ^b	0.370 ^b	0.008	≤0.05
21	0.518 ^a	0.490 ^a	0.732 ^b	0.693 ^b	0.703 ^b	0.627 ^b	0.037	≤0.05
28	0.672 ^a	0.664 ^a	1.155 ^b	1.184 ^b	1.135 ^b	1.038 ^b	0.068	≤0.05
35	0.677 ^a	0.682 ^a	1.452 ^c	1.445 ^c	1.430 ^c	1.114 ^b	0.048	≤0.05
42	0.814 ^a	0.978 ^b	1.506 ^d	1.506 ^d	1.287 ^c	1.438 ^{cd}	0.056	≤0.05
49	0.976 ^a	1.032 ^a	-	-	-	-	0.030	0.22
56	1.155 ^a	1.242 ^a	-	-	-	-	0.050	0.20
63	1.236 ^a	1.333 ^a	-	-	-	-	0.050	0.19

Different letters within a row indicate statistically significant differences among treatments. SHD = slow growing and high density; FHD = fast growing and high density; FLD = fast growing and low density. S.E. = standard error. Room 1 was programmed to reach maximum 10 ppm NH₃ and Room 2 to maximum 20 ppm NH₃.

Table 4. Evolution of feed conversion ratio per week during the rearing period ($n = 30$ animals per treatment).

Age (days)	Treatment SHD		Treatment FHD		Treatment FLD		S.E.	p-Value
	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2		
7	1.21 ^{ab}	1.07 ^a	1.12 ^{ab}	1.27 ^b	1.13 ^{ab}	1.10 ^a	0.05	0.10
14	1.56 ^b	1.59 ^b	1.38 ^a	1.32 ^a	1.36 ^a	1.39 ^a	0.05	≤0.05
21	2.22 ^b	1.94 ^{ab}	2.11 ^{ab}	1.92 ^{ab}	2.01 ^{ab}	1.77 ^a	0.12	0.17
28	2.01 ^{ab}	1.74 ^a	2.53 ^c	2.79 ^c	2.53 ^{bc}	2.39 ^{bc}	0.18	≤0.05
35	1.60 ^a	2.06 ^{ab}	2.44 ^b	2.63 ^c	2.45 ^{bc}	2.09 ^{ab}	0.18	≤0.05
42	1.72 ^a	2.06 ^{ab}	2.20 ^b	2.30 ^b	2.02 ^{ab}	2.16 ^b	0.12	≤0.05
49	2.46 ^a	2.28 ^a	-	-	-	-	0.26	0.63
56	2.39 ^a	2.51 ^a	-	-	-	-	0.07	0.25
63	2.76 ^a	2.69 ^a	-	-	-	-	0.11	0.66

Different letters within a row indicate statistically significant differences among treatments. SHD = slow growing and high density; FHD = fast growing and high density; FLD = fast growing and low density. Room 1 was programmed to reach maximum 10 ppm NH₃ and Room 2 to maximum 20 ppm NH₃.

A different exposure of ammonia between Room 1 and Room 2 was achieved using different ventilation management strategies. Although the experiment was planned in winter conditions, where lower ventilation rates are needed, ammonia concentration was negligible until day 32 of the growing period. Litter material remained too dry to generate significant NH₃ emissions, so on day 32, urea had to be applied in both rooms to increase ammonia production. As the same rate of urea was used in both rooms, it was not expected to disturb the results of the experiment and was effective in producing a controlled amount of ammonia in the rooms. Once ammonia was generated, the differential effect of ventilation originated different ammonia concentrations until the end of the growing period. Therefore, exposure to differential ammonia occurred during the last 10 days for the fast-growing animals and the second half of the growing period for the slow-growing animals. These conditions may be representative of broiler production if new bedding material is used, since concentrations are low during the first weeks of the rearing period [19].

Ventilation operated by the ammonia sensor was effective to control ammonia concentrations. Until day 32, both rooms operated with similar ventilation (less than 2% difference on average). However, from that day, Room 1 had on average 59% higher ventilation than Room 2. This is concurrent with the lower ammonia concentration registered, which was 51% lower in Room 1.

Ventilation has been reported as an effective way to reduce indoor ammonia concentration; this strategy involves more energy consumption. Was reported that a commercial

farm could keep gas concentrations below regulation thresholds (20 ppm) by increasing ventilation, but this would involve increasing electric and heat consumption by 10% and 14%, respectively. Using ventilation to keep lower concentration values would entail higher energy costs as well as instrument maintenance, and these costs would be likely increase exponentially as the target value reduces. Therefore, efforts to keep concentrations lower than those reported in the regulation must be clearly supported in terms of productivity, health and welfare [18].

In this study, we found no significant effect of exposure to ammonia concentration on broilers kept under conventional conditions (fast-growing animals kept at high stocking density). Animals under improved environmental conditions tended to grow faster with similar feed consumption, which resulted in a slightly better conversion rate. These numerical differences are in accordance with the hypothesis of this study. Depending on the stress factor, the organs related to immunity would decrease or increase in size. In the case of stress due to ammonia exposure, the liver, spleen and bursa would be less developed [20]. However, no differences were found in this study.

Exposure to differential ammonia concentrations for only 10 days could be originating that differences are minor and could not be detected in this experiment. The effects of ammonia on animals depend on exposure time [4], and therefore it is necessary to explore the effect of longer exposure times, which could also affect broilers at early stages of their life.

An ammonia concentration below 20 ppm does not appear to have a clear effect on productive parameters, and similar results have been found in other experiments [11,21]. It seems that exposure to low ammonia concentrations may influence some conditions related to health and welfare [12], but this disturbance is not enough to produce visible changes in performance. According to our results, it seems that the absence of an effect of low ammonia concentrations on productive parameters would also apply for slow-growing strains and animals kept at a lower stocking density.

This study also did not find a significant effect of stocking density on animal growth in fast-growing animals. However, we found that animals reduced feed consumption and improved the feed conversion ratio, particularly for animals kept under higher ammonia concentrations. Improvements of lowering stocking density have been reported in the literature [22,23], but the interacting effect of ammonia concentration has not been reported. It seems that reducing stocking density may facilitate animals responding better to adverse environmental conditions, although the high-density treatment in this study was not sufficiently high to elicit more relevant differences at the animal level, as those obtained in previous studies [15,24].

The difference in productive parameters between slow-growing and fast-growing strains was evident. However, feed conversion rate did not decrease when using the slow-growing strain used in this experiment, which is relevant in terms of efficiency in the use of resources. Slow-growing animals were exposed for more time (31 days) to different ammonia concentrations than fast-growing animals (only 10 days), and therefore more differences would be expected. However, very similar productive parameters were found for slow-growing animals kept either at 10 or 20 ppm. The only difference detected was the relative weight of spleen at the end of the growing period. The lower spleen weight in animals kept at higher ammonia concentrations would support the hypothesis that stressor factors reduce immune organs [20], but this would not be translated into different productive results.

The results of this study indicate that husbandry practices can improve the conditions of animal growth with respect to the minimum legal requirements. These improved conditions, however, have a relatively low impact on animal performance and therefore their cost effectiveness needs to be further assessed. Results suggest that exposure to low ammonia concentrations (10 vs. 20 ppm) during part of the growing period originates some physiological changes that are not clearly reflected in productive terms, and we did not find evidence that these improved conditions could allow animals to respond better

to stressing conditions. This potential effect on animal resiliency needs to be explored by future research.

3.3. Weight of the Immune Organs

The effect of stress on the welfare of the animal, its health and therefore its immune system is varied. The spleen, liver, and bursa of Fabricius are used as anatomical indicators of stress [25,26]. The average weight of the lymphoid organs (spleen and bursa of Fabricius) is related to changes in response to stress. The same has been reported for the thymus [27]. In Table 5, we find the evolution of the ratio of the organs that are involved in the immune system and are indicators of stress. Depending on the stress factor, the organ decreases or increases its size. In the case of stress due to a high concentration of NH_3 , the organs are expected to be underdeveloped compared to a normal growth [20]. Contrarily, the expected effect of density is that the immune organs are more developed than normal [15].

Table 5. Evolution of the relative weight of spleen, thymus, liver and bursa Fabricius (g per 1000 g animal weight) during the rearing period.

Organ	Age (days)	Treatment SHD		Treatment FHD		Treatment FLD		p-Value
		Room 1	Room 2	Room 1	Room 2	Room 1	Room 2	
Spleen	21	1.11 ± 1.17	1.27 ± 1.24	3.82 ± 1.19	0.94 ± 1.17	0.91 ± 1.19	0.94 ± 1.17	0.47
	42	1.62 ^b ± 0.06	1.46 ^b ± 0.06	1.25 ^a ± 0.06	1.18 ^a ± 0.06	1.46 ^b ± 0.06	1.21 ^a ± 0.06	≤0.05
	63	1.26 ^b ± 0.05	1.10 ^a ± 0.05	-	-	-	-	≤0.05
Thymus	21	2.88 ^c ± 0.15	2.98 ^c ± 0.16	1.85 ^{ab} ± 0.16	2.04 ^b ± 0.15	1.75 ^{ab} ± 0.16	1.57 ^a ± 0.15	≤0.05
	42	2.90 ^b ± 0.16	2.71 ^b ± 0.16	1.59 ^a ± 0.16	1.80 ^a ± 0.16	1.81 ^a ± 0.16	1.79 ^a ± 0.16	≤0.05
	63	2.44 ± 0.16	2.22 ± 0.16	-	-	-	-	0.32
Liver	21	29.89 ^c ± 0.79	29.38 ^{bc} ± 0.83	26.69 ^a ± 0.80	27.71 ^{abc} ± 0.79	27.50 ^{ab} ± 0.80	28.35 ^{abc} ± 0.79	≤0.05
	42	20.55 ^a ± 0.48	21.69 ^a ± 0.48	20.83 ^a ± 0.48	21.56 ^a ± 0.48	21.76 ^a ± 0.48	21.25 ^a ± 0.48	0.38
	63	17.68 ± 0.52	18.69 ± 0.52	-	-	-	-	0.18
Bursa of Fabricius	21	2.85 ^b ± 0.13	2.33 ^a ± 0.14	1.98 ^a ± 0.13	2.09 ^a ± 0.13	2.12 ^a ± 0.13	2.33 ^a ± 0.13	≤0.05
	42	0.54 ^{bc} ± 0.05	0.44 ^{abc} ± 0.05	0.42 ^{ab} ± 0.05	0.45 ^{abc} ± 0.05	0.40 ^a ± 0.05	0.56 ^c ± 0.05	0.08
	63	-	-	-	-	-	-	-

Different letters within a row indicate statistically significant differences among treatments. SHD = slow growing and high density; FHD = fast growing and high density; FLD = fast growing and low density. Room 1 was programmed to reach maximum 10 ppm NH_3 and Room 2 to maximum 20 ppm NH_3 .

Table 5 shows the weight of the organs related to the immune system, expressed in relative terms with respect to total animal weight. For fast-growing animals, information is available until the slaughter day (42). For slow-growing animals, the bursa of Fabricius was too small, and it could not be measured at day 63, so no information is provided.

Spleen weight was very variable on day 21 of the growing period and no relevant differences were found on day 42 in absolute weight. However, as shown in Table 5, the spleen had a higher weight when expressed in relative terms to animal weight due to the lower weight of slow-growing animals at the same age. Additionally, animals at a higher ammonia concentration tended to have a lower spleen weight than those at lower concentrations. At slaughter age, slow-growing animals' spleens were heavier in animals kept at lower ammonia concentration (Room 1) compared to those at higher ammonia concentrations (Room 2). The relative weight of the thymus gland was also affected by animal strain and slow-growing animals had a higher relative weight than fast-growing animals. No differences for stocking density were detected due to ammonia concentration. A similar situation was found for the liver and bursa of Fabricius, where no clear effect was found because of changing exposure to ammonia concentration or stocking density.

Studies show that in situations of stress due to exposure to ammonia, the liver, spleen and bursa would be less developed [20,28,29]. This study found some changes in the size of immune organs, so it is suggested that more in-depth studies are necessary in this direction to confirm if in fact the larger size of the organs are correlated with situations of greater stress such as higher ammonia concentration and higher stocking density.

4. Conclusions

This study evaluated the effect of husbandry practices on broiler response to low ammonia concentrations. Ventilation was used to generate exposure to different ammonia concentration in the final part of a growing period (approximately 10 and 20 ppm).

Reducing ammonia concentrations had a low influence on productive parameters regardless of the animal strain (slow- or fast-growing animals) or stocking density (32 vs. 16 kg m⁻² at slaughter age) was tested. However, animals kept at a lower stocking density had a better conversion rate than those under high density, particularly at higher ammonia exposure.

Slow-growing animals were exposed to an ammonia concentration for a longer time than fast-growing animals. No effects on growth parameters were found, but the increased weight of immune organs (spleen) suggests a deleterious effect on the immune response. However, despite being an indication, it is not possible to say that there is an immunological dysfunction based only on the weight of the lymphoid organs. Therefore, we recommend that further research be carried out in this direction.

Husbandry practices improving animal conditions beyond the minimum legal requirements seem to have a low effect on productivity.

Author Contributions: Conceptualization, L.V.S.B., S.C., A.R.-M., F.E. and A.V.; methodology, S.C., F.E. and A.V.; software, L.V.S.B.; A.R.-M. and A.V.; validation, L.V.S.B., S.C., F.E. and A.R.-M.; formal analysis, L.V.S.B., D.J.D.M., F.E., A.R.-M., S.C. and A.V.; investigation, L.V.S.B., D.J.D.M., S.C., A.R.-M., F.E. and A.V.; data curation, L.V.S.B., S.C., A.R.-M. and F.E.; writing—original draft preparation, L.V.S.B., D.J.D.M. and S.C.; writing—review and editing, L.V.S.B., D.J.D.M., F.E., S.C. and A.V.; supervision, L.V.S.B., A.R.-M. and A.V.; project administration, A.V., F.E. and S.C. and took the photos, L.V.S.B. and A.R.-M. All figures were drawn by the authors. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The experiment was conducted in accordance with the animal research regulations of the EU, with protocol number 2018/VSC/PEA/0067. The test was carried out at the Animal Technology and Research Center (CITA-IVIA), located in Segorbe, (Castellón, Spain).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: This research was funded by the National Institute for Agricultural Research and Experimentation and the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (RTA 2017-00013, Programme: MINECO, Ministerio de Economía y Competitividad). The scholarship Capes and Cnpq supported the participation of Leonardo Valentino in this research. We acknowledge CNPq for the participation number 308177/2021-5 and Santander for the Subject Ibero-Americana.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Tasistro, A.S.; Ritz, C.W.; Kissel, D.E. Ammonia emissions from broiler litter: Response to bedding materials and acidifiers. *Br. Poult. Sci.* **2007**, *48*, 399–405. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Kearney, G.D.; Shaw, R.; Prentice, M.; Tutor-Marcom, R. Evaluation of Respiratory Symptoms and Respiratory Protection Behavior Among Poultry Workers in Small Farming Operations. *J. Agromed.* **2014**, *19*, 162–170. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Nemer, M.; Sikkeland, L.I.B.; Kasem, M.; Kristensen, P.; Nijem, K.; Bjertness, E.; Skare, Ø.; Bakke, B.; Kongerud, J.; Skogstad, M. Airway inflammation and ammonia exposure among female Palestinian hairdressers: A cross-sectional study. *Occup. Environ. Med.* **2015**, *72*, 428–434. [\[CrossRef\]](#)
4. Kristensen, H.H.; Wathes, C.M. Ammonia and poultry welfare: A review. *Worlds. Poult. Sci. J.* **2000**, *56*, 235–245. [\[CrossRef\]](#)
5. Beker, A.; Vanhooser, S.L.; Swartzlander, J.H.; Teeter, R.G. Atmospheric ammonia concentration effects on broiler growth and performance. *J. Appl. Poult. Res.* **2004**, *13*, 5–9. [\[CrossRef\]](#)
6. Miles, D.M.; Branton, S.L.; Lott, B.D. Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. *Poult. Sci.* **2004**, *83*, 1650–1654. [\[CrossRef\]](#)

7. Miles, D.M.; Miller, W.W.; Branton, S.L.; Maslin, W.R.; Lott, B.D. Ocular Responses to Ammonia in Broiler Chickens. *Avian Dis.* **2006**, *50*, 45–49. [\[CrossRef\]](#)
8. Purswell, J.L.; Davis, J.D.; Kiess, A.S.; Coufal, C.D. Effects of frequency of multiple applications of litter amendment on litter ammonia and live performance in a shared airspace. *J. Appl. Poult. Res.* **2013**, *22*, 469–473. [\[CrossRef\]](#)
9. Wei, F.X.; Hu, X.F.; Xu, B.; Zhang, M.H.; Li, S.Y.; Sun, Q.Y.; Lin, P. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genet. Mol. Res.* **2015**, *14*, 3160–3169. [\[CrossRef\]](#)
10. Yi, B.; Chen, L.; Sa, R.; Zhong, R.; Xing, H.; Zhang, H. Transcriptome profile analysis of breast muscle tissues from high or low levels of atmospheric ammonia exposed broilers (*Gallus gallus*). *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0162631. [\[CrossRef\]](#)
11. Zhou, Y.; Liu, Q.X.; Li, X.M.; Ma, D.D.; Xing, S.; Feng, J.H.; Zhang, M.H. Effects of ammonia exposure on growth performance and cytokines in the serum, trachea, and ileum of broilers. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 2485–2493. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Zhou, Y.; Zhang, M.; Liu, Q.; Feng, J. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2021**, *100*, 685–696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Rayner, A.C.; Newberry, R.C.; Vas, J.; Mullan, S. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–14. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Mansur, B.; Ball, C.; Forrester, A.; Chantrey, J.; Ganapathy, K. Host immune response to infectious bronchitis virus Q1 in two commercial broiler chicken lines. *Res. Vet. Sci.* **2021**, *136*, 587–594. [\[CrossRef\]](#)
15. Abouelenen, F.; Khalf Alla, F.; MousaBalabel, T.; Nasser, S. Effect of Stocking Density and Bird Age on Air Ammonia, Performance and Blood Parameters of Broilers. *Worlds Vet. J.* **2016**, *6*, 130. [\[CrossRef\]](#)
16. Ferguson, N.S.; Gates, R.S.; Taraba, J.L.; Cantor, A.H.; Pescatore, A.J.; Ford, M.J.; Burnham, D.J. The Effect of Dietary Crude Protein on Growth, Ammonia Concentration, and Litter Composition in Broilers. *Poult. Sci.* **1998**, *77*, 1481–1487. [\[CrossRef\]](#)
17. Miles, D.M.; Rowe, D.E.; Cathcart, T.C. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. *Poult. Sci.* **2011**, *90*, 1162–1169. [\[CrossRef\]](#)
18. Costantino, A.; Fabrizio, E.; Villagrà, A.; Estellés, F.; Calvet, S. The reduction of gas concentrations in broiler houses through ventilation: Assessment of the thermal and electrical energy consumption. *Biosyst. Eng.* **2020**, *199*, 135–148. [\[CrossRef\]](#)
19. Calvet, S.; Cambra-López, M.; Estellés, F.; Torres, A.G. Characterization of gas emissions from a Mediterranean broiler farm. *Poult. Sci.* **2011**, *90*, 534–542. [\[CrossRef\]](#)
20. Wang, Y.M.; Meng, Q.P.; Guo, Y.M.; Wang, Y.Z.; Wang, Z.; Yao, Z.L.; Shan, T.Z. Effect of Atmospheric Ammonia on Growth Performance and Immunological Response of Broiler Chickens. *J. Anim. Vet. Adv.* **2010**, *22*, 2802–2806. [\[CrossRef\]](#)
21. Zarnab, S.; Chaudhary, M.S.; Javed, M.T.; Khatoon, A.; Saleemi, M.K.; Ahmed, T.; Tariq, N.; Manzoor, F.; Javed, I.; Zhang, H.; et al. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its amelioration by different modifiers. *Pak. Vet. J.* **2019**, *39*, 371–376. [\[CrossRef\]](#)
22. Li, X.M.; Zhang, M.H.; Liu, S.M.; Feng, J.H.; Ma, D.D.; Liu, Q.X.; Zhou, Y.; Wang, X.J.; Xing, S. Effects of stocking density on growth performance, growth regulatory factors, and endocrine hormones in broilers under appropriate environments. *Poult. Sci.* **2019**, *98*, 6611–6617. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Liu, H.; Bai, S.P.; Zhang, K.Y.; Ding, X.M.; Wang, J.P.; Zeng, Q.F.; Peng, H.W.; Bai, J.; Xuan, Y.; Su, Z.W. Effects of stocking density on the performance, tibia mineralization, and the expression of hypothalamic appetite genes in broiler chickens. *Ann. Anim. Sci.* **2021**, *21*, 1103–1117. [\[CrossRef\]](#)
24. Buijs, S.; Keeling, L.; Rettenbacher, S.; van Poucke, E.; Tuytens, F.A.M. Stocking density effects on broiler welfare: Identifying sensitive ranges for different indicators. *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 1536–1543. [\[CrossRef\]](#)
25. Pope, C.R. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **1991**, *30*, 31–44. [\[CrossRef\]](#)
26. Freire, R.; Wilkins, L.J.; Short, F.; Nicol, C.J. Behaviour and welfare of individual laying hens in a non-cage system. *Br. Poult. Sci.* **2003**, *44*, 22–29. [\[CrossRef\]](#)
27. Ravindran, V.; Thomas, D.V.; Thomas, D.G.; Morel, P.C.H. Performance and welfare of broilers as affected by stocking density and zinc bacitracin supplementation. *Anim. Sci. J.* **2006**, *77*, 110–116. [\[CrossRef\]](#)
28. Xing, H.; Luan, S.; Sun, Y.; Sa, R.; Zhang, H. Effects of ammonia exposure on carcass traits and fatty acid composition of broiler meat. *Anim. Nutr.* **2016**, *2*, 282–287. [\[CrossRef\]](#)
29. Soliman, E.S.; Hassan, R.A. Evaluation of superphosphate and meta-bisulfide efficiency in litter treatment on productive performance and immunity of broilers exposed to ammonia stress. *Adv. Anim. Vet. Sci.* **2017**, *5*, 253–259. [\[CrossRef\]](#)

CAPÍTULO II -

PREDICTION OF EXPOSURE RISK TO AMMONIA CONCENTRATION IN BROILER CHICKENS CORRELATED TO DISEASE INCIDENCE

Leonardo V. S. Barbosa ^{1,*}, Nilsa D. S. Lima², Juliana de S.G. Barros¹, Daniella J. De Moura ^{1,*},
Fernando Estellés ³, Adrian Ramón-Moragues ⁴, Salvador Calvet ³ and Arantxa Villagrà ⁴

- 1- College of Agricultural Engineering, State University of Campinas, 501 Candido Rondon Avenue, 13083-875, São Paulo, Brazil
- 2- Department of Animal Science, Federal University of Roraima, Boa Vista 69300-000, RR, Brazil
- 3- Institute of Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s.n., 46022 Valencia, Spain; feresbar@upv.es (F.E.); salcalsa@upvnet.upv.es (S.C.)
- 4- Centro de Investigación en Tecnología Animal (CITA), Valencian Institute for Agricultura Research (IVIA), 12400 Segorbe, Spain; armzulu@gmail.com (A.R.-M.); villagra_ara@gva.es (A.V.)

*Correspondence: valentino.leo@icloud.com (L.V.S:B); djmoura@unicamp.br (D.J.M); Tel.: +55-19-984417811 (L.V.S.B)

Abstract

The objective of the study was to predict the risk of exposure to ammonia concentration in the production of broiler breeds of slow and fast-growing with low and high production density and correlate with the incidence of health injuries in broiler chickens using a learning machine. Two commercial lines of broiler chicken were used, one with fast-growing (Ross®, slaughter age 42 days) and another with slow-growing (Hubbard®, slaughter age 63 days). All slow-growing birds were housed at a density of 32 kg/m². Fast-growing birds were housed in two different housing densities: low housing density with a final housing density of 16 kg/m² and high density with a final housing density of 32 kg/m². A total of 1250 birds were used in this experiment, 450 of which were fast-growing birds and 800 were slow-growing birds. In each room, 306 birds were randomly distributed in 18 boxes (6 boxes for each treatment and 17 birds per box), each with 3 nipple drinkers and a manual feeder. The dimensions of the high-density boxes were 1 x 1.3 m², while the low-density boxes had the same number of animals housed in a larger area, with dimensions of 2 x 1.3 m². The remaining 319 birds were housed randomly throughout the room and outside the pens to simulate a commercial production system condition (stock density). All birds were fed with an initial commercial feed from day 1 to day 18 of the experiment, and from day 18 until the end, each breed was fed with different feeds according to their nutritional demands. The following data analysis steps were performed: data selection, pre-processing, transformation, mining, analysis and, interpretation of results. The

classification algorithms, decision tree (J48), SMO (Sequential Minimal Optimization), Naive Bayes and Multilayer Perceptron were applied to the training and test data sets to build a rule model for predicting ammonia risk levels in broiler chickens. The cross-validation technique was used to parameterize the analysis in all models. From the database of the first phase of analysis, with the classifier to predict the risk condition of ammonia concentration, the Spearman correlation coefficient (ρ , ρ ho), considering the presence of pododermatitis, vision/affected and mucosal injury, which include assessments of trachea, bronchi, lungs, eyes, paw injuries, and other injuries. A non-parametric correlation measure was applied to injury incidence data as a function of ammonia risk level (1 and 10 ppm) with the aim of correlating injury incidence and ammonia level in the conditions studied. The best predictive model capable of evaluating and obtaining better performance was the Multilayer Perceptron when we considered greater accuracy by level of risk of exposure to ammonia in the broiler chicken production process, including fast and slow-growing. Birds exposed to higher levels of ammonia concentration have a higher correlation coefficient when the relationship between the variables is strong. The Spearman correlation coefficient shows a stronger association between increased risks of ammonia exposure and the incidence of chicken injuries.

Keywords: ammonia, machine learning, chicken production.

1. Introduction

Atmospheric emissions are one of the biggest challenges facing agricultural systems. Agricultural systems are the main sources of NH_3 emissions into the atmosphere (Ti et al., 2019). Monitoring ammonia emissions requires accurate estimates of types of ventilation systems, detection of ammonia during the production process, and mitigation strategies. There are large variations in ammonia emissions between houses or system types, bird ages, flocks, and breeds (Nicholson et al., 2004; Pescatore et al., 2005).

Ammonia is the main pollutant gas emitted by poultry facilities because of the microbial degradation of uric acid present in poultry manure (Nicholson et al., 2004; Zhao et al., 2016). The main factors affecting NH_3 emissions during the production process include temperature, moisture content, pH, ventilation rates, litter management, and the type of composting process. Furthermore, environmental damage can be caused following ammonia deposition through direct toxicity. However, mitigation strategies are effective in reducing NH_3 emissions (Ti et al., 2019).

An important, but still challenging, parameter in determining ammonia emissions as a function of gas concentration and ventilation rate is the accurate determination of the facility's ventilation rate, especially in facilities with natural ventilation (Oliveira et al., 2021).

It is very important for poultry production to quantify, verify, and study estimates of ammonia concentration in the production process. Additionally, accurate estimates of emissions and concentrations from different breeds are needed to assess the impact on bird performance and health.

The objective of the study was to predict the risk of exposure to ammonia concentration in the production of broiler breeds of slow and fast-growing with low and high production density and correlate it with the incidence of health injuries in broiler chickens using a machine learning approach.

2. Material and Methods

An animal experiment was carried out during the winter in Spain in 2019 to predict the risk condition of ammonia levels and correlate them with the health risk of broiler chickens. The experiment was approved by the Animal Ethics Committee N2018/VSC/PEA/0067. This study is part of a doctoral thesis.

The experiment was conducted in accordance with EU animal research regulations, with protocol number 2018/VSC/PEA/0067. The test was carried out at the Animal Technology and Research Center (CITA-IVIA), located in Segorbe, (Castellón, Spain).

2.1 Experiment

Two identical rooms (Room 1 and Room 2) were used in this test, measuring 13.2 m x 5.95 m, totaling approximately 70 m² for each room. An automated temperature control system was installed (DNP Climate Controller, Exafan, Spain), which controlled ventilation rates in accordance with commercial temperature recommendations. The room temperature was gradually decreased from 32°C (day 1) to 19°C (day 42). Temperature was controlled using the temperature control sensor and recorded along with relative humidity every 10 minutes using a data logger (HOBO U12, Onsetcomp, Country). Furthermore, each room was equipped with an electrochemical NH₃ sensor (DOL 53, Dräger, Germany). Room 1 was programmed to maintain a maximum of 10 ppm of NH₃, while Room 2 was programmed to maintain a maximum of 20 ppm. These environmental conditions (ammonia concentration) were programmed to be maintained from the fourth week onwards, that is, in the second half of the production cycle, when ammonia levels tend to be higher within broiler production systems. A propane heater was used to maintain an adequate room temperature.

The experiment was carried out during the winter period, when gas concentrations were expected to be higher due to lower ventilation rates. To ensure that the desired concentrations were achieved during a relevant part of the poultry production period, it was decided to apply a urea solution to the litter. The dosage was always 0.21 L/m² of urea solution, with a concentration of 187.5 g/L on day 32 of the rearing cycle and 93.75 g/L on days 39, 51, and 56.

Two commercial lines of broiler chicken were used, one with fast-growing (Ross®, slaughter age 42 days) and another with slow-growing (Hubbard®, slaughter age 63 days). All slow-growing birds were housed at a density of 32 kg/m². Fast-growing birds were housed in two different housing densities: low housing density with a final housing density of 16 kg/m² and high density with a final housing density of 32 kg/m². A total of 1250 birds were used in

this experiment, 450 of which were fast-growing birds and 800 were slow-growing birds. In each room, 306 birds were randomly distributed in 18 boxes (6 boxes for each treatment and 17 birds per box), each with 3 nipple drinkers and a manual feeder. The dimensions of the high-density boxes were $1 \times 1.3\text{m}^2$, while the low-density boxes had the same number of animals housed in a larger area, with dimensions of $2 \times 1.3\text{m}^2$. The remaining 319 birds were housed randomly throughout the room and outside the pens to simulate a commercial production system condition. All birds were fed with an initial commercial feed from day 1 to day 18 of the experiment, and from day 18 until the end, each breed was fed with different feeds according to their nutritional demands.

All birds housed in the boxes were weighed weekly and their respective feed consumption was calculated. Average daily weight gain (GPM) per bird was calculated for each week of rearing and, average daily weight gain accumulated over the entire study period (42 days for fast-growing birds and 63 for slow-growing birds). Feed conversion (CA) was also obtained for each week and for accumulated periods, dividing the amount of food consumed by each pen by the weight gain of all birds present in it.

Room ammonia concentration data was collected by installing electrochemical sensors in each room. Assessments were carried out 24 hours a day, every day of the week.

In addition to the productive character determinations, during the development of the experiment, animals were sacrificed and samples were taken at four moments: day 0, day 21, day 42, and day 63 (day 63 only for animals from the slow-growing lineage). All the sacrificed birds were previously stunned by an electric shock.

In the first sampling, on day 0 of the study, 30 animals from each lineage were randomly sacrificed before distribution into the boxes. In the second and third sampling days 21 and 42 of the experiment, respectively, 5 animals were sampled from each pen, resulting in a total of 180 animals for each sampling day. After sacrifice, the animals were necropsied.

The fourth and final sampling was carried out on day 63 of the experiment with the same procedure as the previous two but involving only animals from the slow-growing lineage, since animals from the fast-growing lineage have a commercial production cycle of 42 days.

In the last two collections, at 42 days for fast-growing birds and at 63 days for fast-growing birds, the sampled animals were inspected for symptoms related to prolonged exposure to NH_3 . These exams aimed to find epidermal lesions on the legs and injuries to the eyes and respiratory tract due to this irritating gas.

2.2 Data mining approach

The following data analysis steps were performed: data selection, pre-processing, transformation, mining, analysis, and interpretation of results.

The data preprocessing stage covers data understanding and data preparation, which includes standardizing nomenclatures, cleaning the raw data in the spreadsheet and, dividing the database in the Weka software (version 3.8.4).

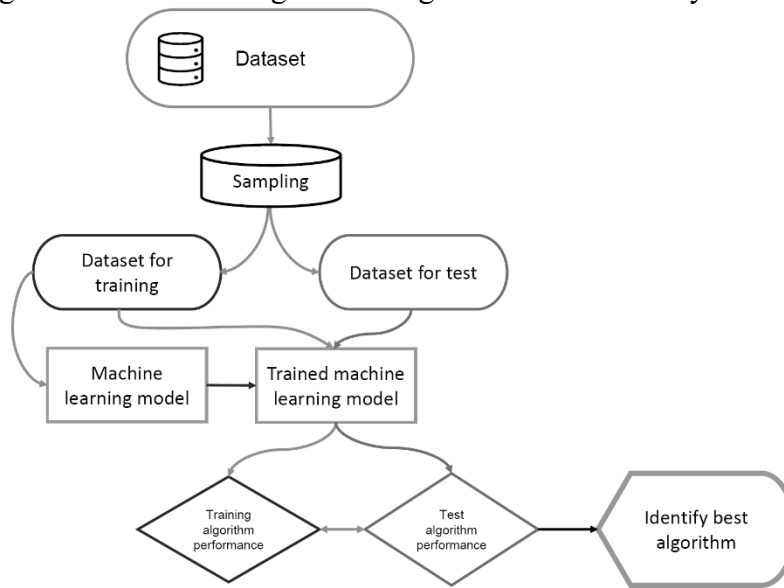
For training and testing modeling. To stratify the data set, the “*stratified remove folds*” filter was used to separate the data set between training and testing. Pre-processing also included the discretization of attributes into classes that reduces and simplifies the data, making learning faster and the results denser, according to methodologies by Hall et al. (2009) and Larose and Larose, (2015).

In the processing stage, the data set was analyzed by applying predictive classification models for training (75% of the data set with 17062 instances) and for validation of the model with the test set (25% of the data set with 5688 instances).

The classification algorithms, decision tree (J48), SMO (Sequential Minimal Optimization), Naive Bayes and Multilayer Perceptron were applied to the training and test data sets to build a rule model for predicting ammonia risk levels in broiler chickens. The cross-validation technique (test mode: 10-fold cross-validation) was used to parameterize the analysis in all models. The number of attributes used in the modeling was seven, including “housing_condition”, “age_week”, “T-hobo”, “UR%”, “Vent”, “NH3_ppm” and the response attribute “Ammonia_concentration_risk”, with a total of 5688 instances.

The study developed a machine learning model to predict the risk condition of ammonia concentration in the production of chickens of slow and fast-growing breeds with low and high production densities. The study also compared the performance of all algorithms with respect to their prediction abilities and model quality. When evaluating the models, the data was divided into training and testing subsets, and then the results were compared by the performance metrics of the algorithms. The flowchart used to identify the best test algorithm is shown in Figure 1.

Figure 1. Model training and testing flowchart to identify the best algorithm.



Source: Adapted from Uçar et al. (2020).

The criterion used to discretize the classes of the response attribute (target) “ammonia concentration risk condition” included ammonia concentration levels in five classes described in Table 1.

Table 1. Description of the ammonia concentration risk attribute criterion

Ammonia concentration risk	
target attribute	risk level
No risk (none risk)	0 - 1 pmm
low risk (risk down)	2 - 9pm
Moderate risk (risk moderate)	10 - 14 pm
High risk (high risk)	15 - 20 pm
Very high risk (risk extreme)	> 21 pm

Source: Carlile (1984); Commission (2000); Europea (2010); Kristensen and Wathes (2000).

2.3 Performance measures of classification models

The performance of the models was evaluated by different metrics including accuracy, incorrectly classified instances, *Kappa statistics*, true positive rate, false positive rate, precision, sensitivity (recall), F value, Matthews Correlation Coefficient (MCC) and the confusion matrix (Bowes et al., 2012; Han et al., 2012).

Below are the equations used to evaluate the performance of the algorithms for accuracy, precision, sensitivity (*recall*), Matthews correlation coefficient (MCC) and F value calculated from Equations 2 to 7, respectively:

$$\text{False Positive Rate} = 1 - \frac{(TN)}{(FP+FN)} \quad \text{Equity two}$$

$$\text{Accuracy} = \frac{(TP+TN)}{(TP+TN+FP+FN)} \quad \text{Equity 3}$$

$$\text{Precision} = \frac{(TP)}{(TP+FP)} \quad \text{Equity 4}$$

$$\text{Sensitivity} = \frac{(TP)}{(TP+FN)} \quad \text{Equity 5}$$

$$\text{MCC} = \frac{TP \times TN - FP \times FN}{\sqrt{(TP+FP)(TP+FN)(TN+FP)(TN+FN)}} \quad \text{Equity 6}$$

$$F = 2 \times \left[\frac{(\text{Precision} \times \text{Sensitivity})}{(\text{Precision} + \text{Sensitivity})} \right] \quad \text{Equity 7}$$

Where TP: true positive; TN: true negative; FP: false positive; FN: false negative.

The following items are calculated in the confusion matrix (Han et al., 2012): true positives (TP), which are the positive tuples that were correctly labeled by the classifier; true negatives (TN), which are the negative tuples that were correctly labeled by the classifier; false positives (FP), which are negative tuples that were incorrectly labeled as positive; and false negatives (FN) which are the positive tuples that have been mistakenly labeled as negative. This shows the relationship between observed and predicted values in a classification problem.

The study compares the performance of all algorithms with respect to their prediction abilities and model quality. The flowchart used to identify the best training algorithm is shown in Figure 1.

2.4. Spearman correlation analysis

From the ammonia concentration risk classification data (attribute “Ammonia_concentration_risk”), only those that presented some degree of risk) the Spearman correlation coefficient (ρ , ρ) was calculated, considering the presence values (numerical counts) of the following diseases and injuries quantified during the experimental phase: pododermatitis, vision/affected, and mucosal injury, which include assessments of trachea, bronchi, lungs, eyes, paw injury, and other injuries.

A non-parametric correlation measure was applied to the injury incidence data as a function of the ammonia risk level (1 and 10 ppm) with the aim of correlating the injury incidence and the ammonia level in the conditions studied, calculated from the Equation 1.

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2-1)} \quad \text{Equity 1}$$

3. Results

The overall performance of the models showed an accuracy of 100% for J48, 91.58% for SMO, 92.44% for Naive Bayes, and 99.05% for Multilayer Perceptron. The biggest error in classification was for the SMO model. The Kappa statistic was also 100% for the J48 model, followed by 89.12% for the SMO model, 90.28% for the Naive Bayes model, and 98.77% for Multilayer Perceptron. The overall performance results indicate that the Multilayer Perceptron model was the best classification model for detecting risk from ammonia concentration in chicken production.

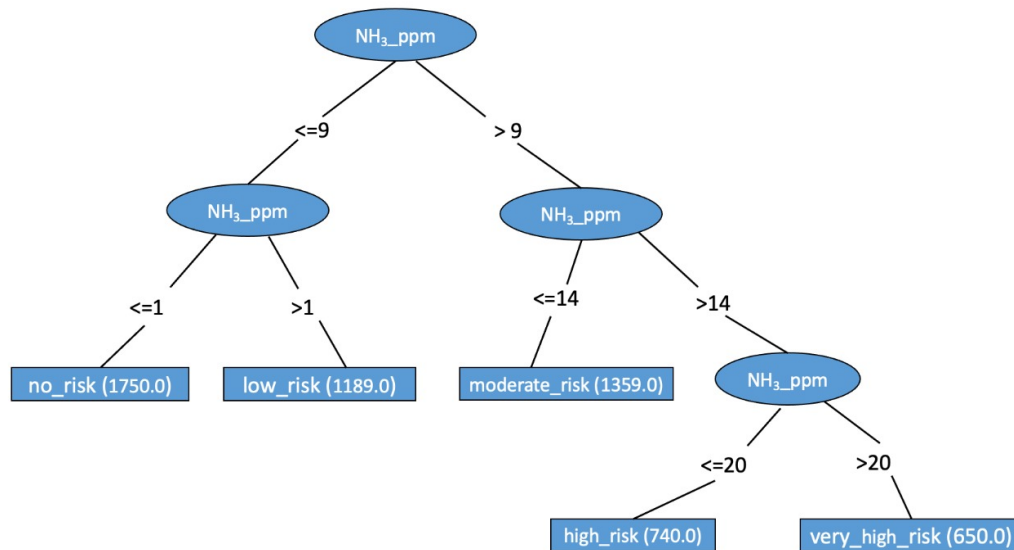
Table 2. Overall performance of classification models

Classifier model	J48 Tree	SMO	Naive Bayes	Multilayer Perceptron
Correctly classified instances (%)	100	91.58	92.44	99.05
Incorrectly classified instances (%)	0	8.42	7.56	0.95
Kappa statistic (%)	100	89.12	90.28	98.77

SMO: Sequential Minimal Optimization

The visualization of the decision tree generated by the J48 classification model is shown in Figure 2, the scheme indicates that if the ammonia concentration is > 9 ppm, the ammonia concentration must be observed, when this concentration is ≤ 14 : o risk is moderate; when the ammonia concentration is > 14 ppm, the ammonia concentration must be observed, if the ammonia is ≤ 20 ppm, the risk is high, and if it is > 20 ppm, the risk is very high for birds.

Figure 2. J48 decision tree model.



The main results presented in Table 3 show that the J48 model generated good average performance (100%) in all metrics; the SMO model presented similar performance, but with a recall of 77% for the “low risk” class. The Naive Bayes model presented similar results, with values above 85% in all metrics, and the Multilayer Perceptron model obtained the best performance of all with the most adjusted metrics, as occurred with J48. However, these overfitted results may contain overfitting.

Table 3. Performance of classification models by risk levels of ammonia concentration

J48 tree model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	100	100	100	100	100	100
Low risk	100	100	100	100	100	100
Moderate risk	100	100	100	100	100	100
High risk	100	100	100	100	100	100
Very high risk	100	100	100	100	100	100
SMO model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	97	1.0	98	97	97	96
Low risk	77	1.0	93	77	84	81
Moderate risk	94	6.0	83	94	89	85
High risk	95	2.0	87	95	91	90
Very high risk	92	0.01	99	92	95	95
Naive Bayes model						
Detailed accuracy by class	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	96	00	100	96	98	97

Low risk	88	2.0	93	88	90	88
Moderate risk	89	3.0	89	89	89	86
High risk	95	2.0	87	95	91	89
Very high risk	94	2.0	86	94	90	89

Detailed accuracy by class	Multilayer Perceptron model					
	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC
No risk	99	1.0	99	99	99	98
Low risk	98	1.0	98	98	98	98
Moderate risk	100	1.0	99	100	99	99
High risk	99	00	100	99	99	99
Very high risk	100	00	100	100	100	100

SMO: Sequential Minimal Optimization. TP Rate: true positive rate; FP Rate: false positive rate. MCC: Matthews correlation coefficient

The models' confusion matrix is shown in Table 4. The J48 model obtained 100% correct answers for all classes and did not present a classification error. The SMO and Naive Bayes models showed more classification errors than J48 and Multilayer Perceptron, indicating that these models can still be adjusted to increase accuracy per class. The smaller the error in classifying the risk of ammonia concentration in facilities, the better the possibility of managing this ammonia concentration when decision-making is required.

Table 4. Confusion matrix of prediction models

J48 tree model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,750	0	0	0	0	1,750	No risk
0	1,189	0	0	0	1,189	Low risk
0	0	1,359	0	0	1,359	Moderate risk
0	0	0	740	0	740	High risk
0	0	0	0	650	650	Very high risk
1,750	1,189	1,359	740	650	5,688	

SMO model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,702	48	0	0	0	1,750	No risk
41	918	230	0	0	1,189	Low risk
0	20	1,280	55	0	1,355	Moderate risk
0	0	27	706	7	2,095	High risk
0	0	0	51	599	650	Very high risk
1,743	986	1,537	812	606	5,688	

Naive Bayes model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,685	59	0	0	6	1,750	No risk
0	1,046	135	0	8	1,189	Low risk
0	20	1,211	67	61	1,359	Moderate risk
0	0	15	702	23	740	High risk

0	0	0	36	614	650	Very high risk
1,685	1,125	1,361	805	712	5,688	
Multilayer Perceptron model						
No risk	Low risk	Moderate risk	High risk	Very high risk	Total	Classified as
1,731	19	0	0	0	1,750	No risk
22	1,164	2	1	0	1,189	Low risk
2	0	1,357	0	0	1359	Moderate risk
0	0	8	732	0	2,099	High risk
0	0	0	0	650	650	Very high risk
1,755	1,183	1359	733	650	5,688	

Spearman's correlation assessed the interrelationship between the risk variable of exposure to ammonia and the incidence of diseases resulting mainly from ammonia gas (Table 5). Spearman's correlation between the risk of exposure to ammonia and the incidence of lung health problems showed a correlation of 0.549, the risk for the bronchi 0.189, for the eyes 0.378, and for the paws 0.375, so if the value of ρ is approached 0, the association between the two intervals is weaker. The higher the absolute value of the coefficient, the stronger the relationship between the variables. The correlation involving other injuries caused by ammonia showed a strong correlation when compared to other types of injuries, indicating a greater association between the appearance of injuries when birds are exposed to higher levels of ammonia in the production process.

Table 5. Paired Spearman correlations

sample 1	Sample 2	Correlation	95% CI ρ	p-value
Risk NH ₃ (ppm)	bronchi	0.189	-0.600; 0.792	0.654
Risk NH ₃ (ppm)	lungs	0.549	-0.313; 0.915	0.159
Risk NH ₃ (ppm)	eyes	0.378	-0.470; 0.863	0.356
Risk NH ₃ (ppm)	paws	0.375	-0.472; 0.862	0.360
Risk NH ₃ (ppm)	other injuries	0.750	-0.019; 0.961	0.032

Other lesions: air sacs, liver, and skin.

4. Discussion

Risk levels of ammonia concentration when evaluated for different broiler production systems considering fast and slow growing birds can show a scenario of the impact caused by ammonia concentration in the production process. There is a convergence between the ammonia concentration levels and the type of production systems and technology for both broiler and egg production. Many studies (Table 6) have evaluated ammonia concentrations at different ages, with different construction and ventilation systems, breeds and regions.

Table 7. List of published works related to ammonia concentration in broiler and laying hen aviaries, construction system and life span.

Authors	NH ₃ Min (ppm)	NH ₃ Max(ppm)	Age (weeks)	Type of Poultry Farming	Type of constructive system in the creation/ventilation system	Breeds	Local
Küçüktopcu and Cemek , 2018	13.3	26.2	1	Broiler	negative p.	Ross 308	Türkiye
Maliseo and Nkonde , 2015	80	100	2	Broiler	conv.	Hybrids	Zambia
Almuhanna et al., 2011	0.086	0.172	1	Broiler	negative p.	Commercial breeds. not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	0.23	0.287	2	Broiler	negative p.	Commercial breeds. not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	0.187	0.388	3	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	1,694	7,939	4	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	11,127	17,946	5	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	0.072	0.086	1	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	0.66	0.718	2	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	0.273	0.904	3	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	7,466	23,459	4	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Almuhanna et al., 2011	13,496	25,354	5	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Saudi Arabia
Dagtekin and Ozturk , 2015	33	52	6	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Türkiye
Dagtekin and Ozturk , 2015	30	45	6	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Türkiye
Owada et al., 2007	0	40	5-7	Broiler	negative p.	Commercial breeds not identified	Brazil
Nääs et al., 2007	-	13	2	Broiler	conv .	Commercial breeds not identified	Brazil
Nääs et al., 2007	-	167	3-6	Broiler	conv .	Commercial breeds not identified	Brazil
Nääs et al., 2007	-	17	2	Broiler	Tunnel/ P. negative	Commercial breeds not identified	Brazil
Nääs et al., 2007	-	86	3-6	Broiler	Tunnel/P. negative	Commercial breeds not identified	Brazil
Zarnab et al., 2019	25.1	11.1	6	Broiler	negative pressure	Lineage com. not identified	Pakistan
Authors	NH ₃ Min (ppm)	NH ₃ Max (ppm)	Age (weeks)	Type of Poultry Farming	Type of constructive system in the creation/ventilation system	Breeds	Local
Tauson and Holr 2001	5	40	53	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Sweden
Tauson and Holr 2001	1	2	53	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Sweden
Koerkamp and Bleijenberg , 1998	5	30	5	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Netherlands
Nimmermark , 2009	3	12	61	Laying hen	negative p.	Com. breeds	Sweden
Nimmermark , 2009	21	42	46	Laying hen	P. negative and conv .	Com. breeds	Sweden
Nimmermark 2009	66	120	59	Laying hen	P. negative and conv .	Com. breeds	Sweden

Hinz et al., 20	0.4	4.2	104	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Germany
Hinz et al., 20	2.2	18.5	104	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Germany
Hinz et al., 20	9.2	47.4	104	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Germany
Hinz et al., 20	1.9	33.6	104	Laying hen	System not esp.	Com. breeds	Germany

In the context of Machine Learning, IoT data has been successfully employed in predicting injuries known to negatively impact poultry production. Although there has been a steady increase in literature addressing applications of digital technology in agribusiness in recent years, there is a notable lack of peer-reviewed articles that focus on AI-enabled IoT systems in managing poultry health and welfare. Furthermore, most previous studies are limited to specific aspects of bird welfare (Ojo et al., 2022).

Similarly to this study, researchers such as Debauche et al. (2020), Fernández et al. (2018), Lashari et al. (2018), Lin et al. (2016), and Rico-Contreras et al. (2017) conducted monitoring and observations covering variables such as temperature, humidity, feces content, ammonia levels, and humidity in the poultry environment.

Studies show the implementation of sensors to supervise and regulate environmental conditions, activating appropriate devices such as ventilation, lighting, refrigeration, and heating systems, as mentioned in previous research (Choukidar & Dawande, 2017; Demmers et al., 2010; Gunawan et al., 2019; Lahlouh et al., 2020; Li et al., 2020a; Lorencena et al., 2020; Mirzaee-Ghaleh et al., 2015; So-In et al., 2014).

As an example, following the approach of this study to predict injury risks, Zhang and Chen (2020) designed a system for automatically detecting sick chickens. This system, based on the ResNet residual network, achieved a remarkable 93.70% accuracy when monitoring the behavioral physiology and productive performance of meat birds. In this study, even greater accuracy was obtained in predicting injuries caused by ammonia, with values above 98% for the Multilayer Perceptron model.

So-In et al. (2014) introduced a system with low computational complexity that demonstrated an accuracy of 80.00%. This system has the ability to automatically adjust the environmental behavior of birds, taking into account variables such as temperature, humidity, light intensity, and population density.

Initially, it is crucial to monitor environmental parameters on a poultry farm, including elements such as temperature, humidity, ammonia levels, and light. This monitoring is essential to ensure effective control of internal conditions by automation systems. Several Machine Learning techniques are employed to monitor these environmental parameters, ranging from

linear regression (Pereira et al., 2020) to fuzzy logic (Lahlouh et al., 2020; Mirzaee-Ghaleh et al., 2015), neuro-fuzzy and neural networks (Küçüktopcu & Cemek, 2021), as well as deep learning (Debauche et al., 2020).

Lahlouh et al. (2020) designed a remarkable system, achieving an accuracy of 97.00%. This system aims to control hydrothermal parameters, including temperature and relative humidity, as well as contaminating gases. This results in the creation of ideal conditions for efficient poultry production. The accuracy of the model developed by Lahlouh et al. (2020) reached values close to those of this study, demonstrating the efficiency of these models for predicting environmental conditions.

Additionally, Zhuang and Zang (2019) implemented a MultiBox Detector for automated diagnosis of the health status of broiler chickens. The proposed algorithm achieved an impressive average accuracy of 99.70%. This model achieved higher accuracy than the models studied in the ammonia risk prediction study.

When it comes to activity recognition, Banerjee et al. (2012) conducted a comparison between decision trees, Naïve Bayes, and neural networks to identify the activities of broiler chickens. The results indicated that neural networks demonstrated the best overall accuracy, reaching 82.10%. Similarly, Pereira et al. (2013) applied the classification tree algorithm to identify behaviors in broiler breeders, achieving an overall success rate of 70.30% in the validation set. Like these studies, in the research carried out to predict risk due to ammonia, the Naïve Bayes model also presented excellent results, with values above 85%.

Ammonia represents a primary air pollutant in poultry facilities, exerting a significant adverse impact on the ecosystem, the environment, bird welfare, and human health, as noted by Küçüktopcu & Cemek (2021). Therefore, accurately estimating the concentration of NH₃ becomes an essential imperative for adequate waste management, aiming to preserve environmental health, human health, and animal welfare, as mentioned by Debauche et al. (2020) and Küçüktopcu & Cemek (2021).

Küçüktopcu and Cemek (2021) conducted a performance evaluation involving four models, namely: multilayer perceptron, adaptive neuro-fuzzy inference systems integrated with grid partitioning and subtractive clustering (ANFIS-GP and ANFIS-SC), as well as multiple linear regression analysis. The results highlighted that ANFIS-SC stood out as the most accurate, recording an R-squared value of 0.86 in the validation set. In this study, when performing the calculation for Spearman's correlation, a greater correlation was observed between exposure to ammonia and the incidence of lung health problems, with a correlation of 0.549.

In the context of estimating ammonia concentration in poultry farms, Küçüktopcu and Cemek (2021) employed a subtractive clustering technique to determine the optimal input parameters in their regression model. Furthermore, Zhuang et al. (2018) proposed a real-time segmentation algorithm based on K-means clustering and the ellipse model, aiming at automated diagnosis of the health status of broiler chickens.

The Multilayer Perceptron demonstrated remarkable performance, establishing itself as an excellent tool for predicting the risk of injuries in broiler chickens related to ammonia concentration.

5. Conclusion

The best predictive model capable of evaluating and obtaining better performance is the Multilayer Perceptron when we consider greater accuracy by risk level of exposure to ammonia in the broiler chicken production process, including fast and slow growth.

Birds exposed to higher levels of ammonia concentration have a higher correlation coefficient when the relationship between the variables is strong. Spearman's correlation coefficient shows a stronger association between higher risks of exposure to ammonia and the incidence of lesions in chickens.

Acknowledgments

We would like to thank the Universidad Politécnica de València, the State University of Campinas and the Instituto Valenciano de Pesquisas Agrárias for the physical space, laboratories and resources provided. We thank the National Institute for Agricultural Research and Experimentation and the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness of Spain for funding the research. And also Capes and Cnpq for granting scholarships.

Funding

This research was funded by the National Institute for Agricultural Research and Experimentation and the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (RTA 2017-00013, Program: MINECO, Ministerio de Economía y Competitividad). Capes and CNPq grants were awarded to support Leonardo Valentino's participation in this research.

Author contributions

All authors contributed to the study's conception and design. XXXX: conceptualization, methodology, data collection, and analysis were performed, writing-original draft. XXXX: writing-reviewing, editing, and supervision.

All authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Declarations**Ethics approval and consent to participate**

The experiment was conducted in accordance with EU animal research regulations, with protocol number 2018/VSC/PEA/0067. The test was carried out at the Animal Technology and Research Center (CITA-IVIA), located in Segorbe, (Castellón, Spain).

Consent for publication

All authors have checked the manuscript and have agreed to the publication.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests

REFERENCES

ALMUHANNA, E.; HASSAN (A.S. AHMED), A.; YOUSIF, Y. M. Effect of Air Contaminants on Poultry Immunological and Production Performance. *International Journal of Poultry Science*, v. 10, p. 461–470, 1 jun. 2011.

BANERJEE, D.; BISWAS, S.; DAIGLE, C.; SIEGFORD, J. Remote activity classification of hens using wireless body-mounted sensors. In: *Proceedings of the 2012 Ninth International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks*, 2012, p. 107-112.

BOWES, D.; HALL, T.; GRAY, D. Comparing the performance of fault prediction models which report multiple performance measures: recomputing the confusion matrix. 2012.

CARLILE, F. S. Ammonia in Poultry Houses: A Literature Review. *World's Poultry Science Journal*, v. 40, n. 2, p. 99–113, 1984.

CHOUKIDAR, G.; DAWANDE, N. Smart poultry farm automation and monitoring system. In: *International Conference on Computing, Communication, Control and Automation*, 2017, p. 1-5.

COMMISSION, E.--E. Directive 2000/39/EC of 8 June 2000 establishing a first list of indicative occupational exposure limit values in implementation of Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work. [s.l: s.n.].

DEBAUCHE, O.; MAHMOUDI, S.; MANNEBACK, P.; BINDELLE, J.; LEBEAU, F. Edge computing and artificial intelligence for real-time poultry monitoring. In: *Procedia Computer Science*, v. 175, 2020, p. 534-541.

EUROPEA, C. Commission directive 2009/161/EU of 17 December 2009 establishing a third list of indicative values of occupational exposure. *La Medicina del lavoro*, v. 101, n. 2, p. 145, 2010.

FERNANDEZ, A.; NORTON, T.; TULLO, E.; VAN HERTEM, T.; YOUSSEF, A.; EXADAKTYLOS, V.; VRANKEN, E.; GUARINO, M.; BERCKMANS, D. Real-time monitoring of broiler flock's welfare status using camera-based technology. In: *Biosystems Engineering*, v. 173, 2018, p. 103-114.

GUNAWAN, T.; SABAR, M.; NASIR, H.; KARTIWI, M.; MOTAKABBER, S. Development of smart chicken poultry farm using RTOS on Arduino. In: *IEEE International Conference on Smart Instrumentation, Measurement and Application*, 2019, p. 1-5.

HALL, M. et al. The WEKA data mining software: an update. *ACM SIGKDD explorations newsletter*, v. 11, n. 1, p. 10–18, 2009.

HAN, J.; KAMBER, M.; PEI, J. *Data mining concepts and techniques third edition*. University of Illinois at Urbana-Champaign Micheline Kamber Jian Pei Simon Fraser University, 2012.

HINZ, T.; WINTER, T.; LINKE, S. Luftfremde Stoffe in und aus verschiedenen Haltungssystemen für Legehennen–Teil 1: Ammoniak. *Landbauforsch*, v. 60, n. 3, p. 139–150, 2010.

KEARNEY, G. D. et al. Evaluation of Respiratory Symptoms and Respiratory Protection Behavior Among Poultry Workers in Small Farming Operations. *Journal of Agromedicine*, v. 19, n. 2, p. 162–170, 2014.

KOERKAMP, P. W. G. G.; BLEIJENBERG, R. Effect of type of aviary, manure and litter handling on the emission kinetics of ammonia from layer houses. *British Poultry Science*, v. 39, n. 3, p. 379–392, 1998.

KRISTENSEN, H. H.; WATHES, C. M. Ammonia and poultry welfare: a review. *World's Poultry Science Journal*, v. 56, n. 03, p. 235–245, 2000.

KÜÇÜKTOPCU, E.; CEMEK, B. Comparison of neuro-fuzzy and neural networks techniques for estimating ammonia concentration in poultry farms. In: *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, n. 4, 2021, p. 105699.

LAHLOUH, I.; RERHRHAYE, F.; ELAKKARY, A.; SEFIANI, N. Experimental implementation of a new multi-input multi-output fuzzy-PID controller in a poultry house system. In: *Heliyon*, v. 6, n. 8, 2020, e04645.

LAROSE, D. T. *Data mining and predictive analytics*. [s.l.] John Wiley & Sons, 2015.

LASHARI, M.; MEMON, A.; SHAH, S.; NENWANI, K.; SHAFQAT, F. IoT Based Poultry Environment Monitoring System. In: *IEEE International Conference on Internet of Things and Intelligence System*, 2018, p. 1-5.

LI, G.; JI, B.; LI, B.; SHI, Z.; ZHAO, Y.; DOU, Y.; BROCATO, J. Assessment of layer pullet drinking behaviors under selectable light colors using convolutional neural network. In: *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 172, 2020, p. 105333.

LORECENA, M.; SOUTHER, L.; CASANOVA, D.; RIBEIRO, R.; TEIXEIRA, M. A framework for modeling, control, and supervision of poultry farming. In: International Journal of Production Research, v. 58, n. 10, 2020, p. 3164-3179.

MANSUR, B. et al. Host immune response to infectious bronchitis virus Q1 in two commercial broiler chicken lines. Research in Veterinary Science, v. 136, p. 587–594, maio 2021.

NÄÄS, I. DE A. et al. Ambiência aérea em alojamento de frangos de corte: poeira e gases. Engenharia Agrícola, v. 27, p. 326–335, 2007.

NAGARAJA, K. V et al. Effect of ammonia on the quantitative clearance of Escherichia coli from lungs, air sacs, and livers of turkeys aerosol vaccinated against Escherichia coli. American journal of veterinary research, v. 45, n. 2, p. 392–395, 1984.

NEMER, M. et al. Airway inflammation and ammonia exposure among female Palestinian hairdressers: A cross-sectional study. Occupational and Environmental Medicine, v. 72, n. 6, p. 428–434, 2015.

NICHOLSON, F. A.; CHAMBERS, B. J.; WALKER, A. W. Ammonia emissions from broiler litter and laying hen manure management systems. Biosystems Engineering, v. 89, n. 2, p. 175–185, 2004.

OLIVEIRA, M. D. et al. Ammonia emission in poultry facilities: a review for tropical climate areas. Atmosphere, v. 12, n. 9, p. 1091, 2021.

OWADA, A. N. et al. Estimativa de bem-estar de frango de corte em função da concentração de amônia e grau de luminosidade no galpão de produção. Engenharia Agrícola, v. 27, n. 3, p. 611–618, 2007.

PESCATORE, A. J.; CASEY, K. D.; GATES, R. S. Ammonia emissions from broiler houses. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 14, n. 3, p. 635–637, 2005.

RAYNER, A. C. et al. Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.

TASISTRO, A. S.; RITZ, C. W.; KISSEL, D. E. Ammonia emissions from broiler litter: Response to bedding materials and acidifiers. *British Poultry Science*, v. 48, n. 4, p. 399–405, 2007.

TAUSON, R.; HOLM, K. E. First furnished small group cages for laying hens in evaluation program on commercial farms in Sweden. 2001.

TI, C. et al. Potential for mitigating global agricultural ammonia emission: a meta-analysis. *Environmental Pollution*, v. 245, p. 141–148, 2019.

UÇAR, M. K. et al. The effect of training and testing process on machine learning in biomedical datasets. *Mathematical Problems in Engineering*, v. 2020, 2020.

WEI, F. X. et al. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 2, p. 3160–3169, 2015.

YI, B. et al. Transcriptome profile analysis of breast muscle tissues from high or low levels of atmospheric ammonia exposed broilers (*Gallus gallus*). *PLoS ONE*, v. 11, n. 9, p. 1–15, 2016.

ZARNAB, S. et al. Effects of induced high ammonia concentration in air on gross and histopathology of different body organs in experimental broiler birds and its

amelioration by different modifiers. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 39, n. 3, p. 371–376, 2019.

ZHAO, L. et al. Ammonia concentrations and emission rates at a commercial poultry manure composting facility. *Biosystems Engineering*, v. 150, p. 69–78, 2016.

ZHOU, Y. et al. Effects of ammonia exposure on growth performance and cytokines in the serum, trachea, and ileum of broilers. *Poultry Science*, v. 99, n. 5, p. 2485–2493, maio 2020.

ZHOU, Y. et al. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 100, n. 2, p. 685–696, fev. 2021.