



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**IDENTIFICADORES DE TRANSPORTADORES E MORFOMETRIA
INTESTINAL EM CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX COTURNIX*
JAPONICA) DE 1 A 49 DIAS DE IDADE**

Maria de Fátima de Souza Andrade

Zootecnista

AREIA – PB

FEVEREIRO – 2015

MARIA DE FÁTIMA DE SOUZA ANDRADE

**IDENTIFICADORES DE TRANSPORTADORES E MORFOMETRIA
INTESTINAL EM CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX COTURNIX*
JAPONICA) DE 1 A 49 DIAS DE IDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dr^a. Patrícia Emília Naves Givisiez – Orientadora

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa - Co-orientador

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra - Co-orientador

AREIA - PB

FEVEREIRO - 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “Identificadores de transportadores e morfometria intestinal em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) de 1 a 49 dias de idade”.

AUTORA: Maria de Fátima de Souza ANDrade

ORIENTADORA: Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa
Presidente

Universidade Federal da Paraíba



Prof. Dr. Dermeval Araújo Furtado

Examinador

Universidade Federal de Campina Grande


Profa. Dra. Danila Barreiro Campos

Examinadora

Universidade Federal da Paraíba

Areia, 25 de fevereiro de 2015

A Deus, por me amar incondicionalmente e me dar forças para continuar a caminhada.

A minha família, por compreenderem minha ausência em certos momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fortaleza, meu tudo, sem Ele seria impossível a caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPB pela oportunidade de realização do mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

A minha orientadora, Profa Patrícia Emília Naves Givisiez, professora exemplar, agradeço pela orientação, ensinamentos, paciência, dedicação e confiança durante os anos de graduação e mestrado.

Aos meus co-orientadores, Professor Fernando Guilherme Perazzo Costa e Ricardo Romão Guerra, pelos ensinamentos prestados, disponibilidade do setor de avicultura e Laboratório de Histologia para análises.

A banca examinadora, composta pelos professores Fernando Guilherme Perazzo, Danila Barreiro Campos e Dermeval Araújo Furtado, agradeço pelas sugestões, e contribuições para este trabalho.

A todos os colegas que fazem parte do Laboratório de Fisiologia e Biologia Molecular da UFPB.

Aos funcionários do Centro de Tecnologia do Nordeste (CETENE), em Recife-PE, pela execução das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma com a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Pag.
Lista de tabelas	vi
Lista de figuras	vii
Lista de abreviaturas	viii
Resumo	xi
Abstract	x
1. Introdução	01
2. Referencial teórico	03
2.1. Coturnicultura	03
2.2. Desenvolvimento da mucosa intestinal	04
2.3. Transporte de nutrientes	07
3. Material e Métodos.....	09
3.1. Local	09
3.2. Aves	09
3.3. Manejo dos animais	09
3.4. Dieta experimental.....	09
3.5. Análise de desempenho	09
3.6. Análise histológica	11
3.7. Densidade de vilosidades duodenais	11
3.8. Reação em cadeia da polimerase em tempo real semi-quantitativo (sqPCR)	12
3.8.1. Colheita de tecido e extração de RNA total	12
3.8.2. Síntese do cDNA e sqPCR	13
3.9. Análises estatísticas	14
4. Resultados e discussão	15
5. Conclusões	28
6. Referências bibliográficas.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e química das rações.....	10
Tabela 2. Genes em estudo, identificação da sequência de referência no GenBank e sequência dos primers utilizados na sqPCR.....	14
Tabela 3. Médias de peso vivo (g) de codornas japonesas em função da idade.....	15
Tabela 4. Morfometria e contagem de células caliciformes do intestino delgado de codornas japonesas em função da idade.....	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Altura de vilosidade de duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em função da idade.....	17
Figura 2. Médias de altura de vilosidades (μm) do duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em diferentes idades.....	18
Figura 3. Profundidade de cripta do duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em função da idade.....	20
Figura 4. Relação vilosidade/cripta do jejuno de codornas japonesas em função da idade.....	21
Figura 5. Contagem de células caliciformes no duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em função da idade.....	22
Figura 6. Médias de densidade de vilosidades duodenais de codornas japonesas em função da idade.....	23
Figura 7. Eletromicrografias de varredura da superfície da mucosa do duodeno de codornas em diferentes idades. A. 1 dia; B. 7 dias; C. 14 dias; D. 21 dias; E. 28 dias; F. 42 dias.....	24
Figura 8. Efeito da idade sobre a expressão relativa do mRNA de SGLT1 (A) e de GLUT2 (B) no jejuno de codornas japonesas.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

AVD	Altura de vilosidade no duodeno
AVJ	Altura de vilosidade no jejuno
AVI	Altura de vilosidade no íleo
PCD	Profundidade de cripta no duodeno
PCJ	Profundidade de cripta no jejuno
PCI	Profundidade de cripta no íleo
RVCJ	Relação vilosidade: cripta no jejuno
CCD	Contagem de células caliciformes no duodeno
CCJ	Contagem de células caliciformes no jejuno
CCI	Contagem de células caliciformes no íleo

ANDRADE, M. F. S. **Identificadores de transportadores e morfometria intestinal em codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) de 1 a 49 dias de idade.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UFPB. Areia-PB. Orientadora: Prof. Dr^a. Patrícia Emília Naves Givisiez.

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a morfometria intestinal, contagem do número de células caliciformes, densidade de vilosidades duodenais, desempenho animal e identificação dos transportadores intestinais de glicose (SGLT1 e GLUT2) no jejuno de codornas japonesas de 1 a 49 dias de idade. A pesquisa foi realizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. Foram alojadas 160 codornas japonesas, alimentadas com dieta controle durante todo o período experimental. As aves foram distribuídas em oito gaiolas, com 20 aves, cada gaiola consistiu em uma unidade experimental. A cada sete dias as aves foram pesadas e onze aves foram selecionadas de cada gaiola para a colheita de amostras dos três segmentos do intestino delgado. Nas amostras preparadas para histologia e microscopia eletrônica de varredura, foram determinadas altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação vilosidade/cripta e densidade de vilosidades duodenais, respectivamente. A análise de transportadores intestinais foi realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real semi-quantitativa (sqPCR). Foi observada redução na densidade das vilosidades duodenais com a idade. A altura de vilosidades e profundidade de criptas no duodeno, jejuno e íleo apresentaram efeito quadrático ($p < 0,001$) com a idade. Na contagem de células caliciformes, foi observado efeito quadrático ($P < 0,001$) no duodeno e íleo e efeito linear crescente no jejuno ($P < 0,001$) em função das idades avaliadas. As taxas de desenvolvimento intestinal foram diferentes entre os segmentos intestinais, sendo mais intensa no duodeno. Houve desenvolvimento da mucosa até o 41º, 40º, e 45º dia, no duodeno, jejuno e íleo, respectivamente. O número de células caliciformes é maior no íleo. A expressão dos genes SGLT1 e GLUT2 no jejuno de codornas japonesas apresentaram variação em função da idade.

Palavras-chave: coturnicultura, células caliciformes, intestino delgado, transportador intestinal

ABSTRACT

This study evaluated the morphometry, morphology, intestinal villus density and the presence of glucose transporters in the small intestine of Japanese quails from hatch to 49 days of age. A hundred and sixty Japanese quails were distributed into 8 cages (20 birds/cage) and were fed corn-soybean meal diet. The birds were weighed at 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 49 days of age and 6 birds were randomly chosen for sampling. Duodenum, jejunum and ileum samples were taken and processed for light microscopy and scanning electron microscopy. Villus height, crypt depth, goblet cell counts and density of intestinal villi were assessed. Body weight increased linearly. There was a quadratic effect on villus height and crypt depth in duodenum, jejunum and ileum according to age. Goblet cell counts increased with age in the ileum. The development of the intestinal mucosa was different between segments and ages, with different intensities. The mucosa developed until 41, 40, and 45 days in the duodenum, jejunum, and ileum, respectively. This is the first report on the mRNA expression of glucose transporters (SGLT1 and GLUT2) in the jejunum of Japanese quails. SGLT1 and GLUT2 mRNA expression was affected by age.

Keywords: intestinal morphology, intestinal transporter, quail production

1. INTRODUÇÃO

A criação de codornas para fins de produção destaca-se na avicultura por ser de alta qualidade e de fácil manejo. Fatores como pequena exigência de espaço de criação, elevada vida produtiva, baixo consumo de ração, pequeno intervalo de geração, maturidade sexual precoce, alta taxa de crescimento inicial, alta taxa de postura e principalmente o rápido retorno do capital investido, favorecem a caracterização da codorna como uma ave excelente, tanto para instituições de pesquisa como para produção em diferentes regiões (Araújo et al.; Costa et al., 2007).

A coturnicultura é uma atividade alternativa para pequenos produtores. Entretanto, em função do potencial para a produção de ovos, a exploração comercial de codornas cresceu, encontrando-se em constante expansão (Murakami & Garcia, 2006).

Com os altos índices produtivos alcançados pelo setor avícola, são necessárias constantes pesquisas voltadas para a área de digestão e absorção de nutrientes. As pesquisas a fim de avaliar o efeito da nutrição sobre potenciais alterações na morfologia do trato gastrointestinal de aves após a eclosão são principalmente realizadas com frangos de corte e poedeiras. No entanto, especificamente em codornas, existe a necessidade de ampliar as pesquisas envolvendo tanto os conhecimentos básicos sobre a morfofisiologia intestinal, incluindo descrição anatomo-histológica pós-eclosão, quanto à caracterização de transportadores intestinais ao longo das diferentes fases do desenvolvimento animal.

O período pós-eclosão é considerado crítico para o para o desenvolvimento do trato gastrintestinal das aves. Nos primeiros dias após a eclosão, há um intenso desenvolvimento morfológico e funcional, com progressivo aumento na área de absorção e secreção de enzimas pancreáticas, além da rápida transição no suprimento da energia, a qual antes era fornecida por nutrientes presentes no saco vitelínico e passa a ser fornecida por uma dieta exógena, rica em carboidratos e proteínas. Observa-se também, um aumento no desenvolvimento e número dos enterócitos, responsáveis pela absorção dos nutrientes (Sklan, 2001; Maiorka et al., 2002), sendo o crescimento do intestino delgado mais rápido do que o crescimento do restante do corpo (Dibner et al., 1998). Dessa forma, quanto antes os pintainhos alcançarem sua capacidade funcional, mais cedo poderão utilizar os nutrientes presentes na dieta, crescer eficientemente e demonstrar seu potencial genético, resistir a infecções e a doenças metabólicas.

35 A fisiologia intestinal tem sido abordada por pesquisas relacionadas aos
36 transportadores intestinais, com o intuito de aprofundar o conhecimento do
37 envolvimento desses em respostas às manipulações dietéticas e na nutrição das aves, em
38 busca de melhores resultados sobre o desempenho animal. Em face do potencial das
39 codornas e de seu papel estratégico como produtoras de proteína animal para o consumo
40 humano, a compreensão dos mecanismos fisiológicos e biofísicos de transporte e
41 absorção de nutrientes é fundamental para auxiliar no manejo alimentar e nutricional
42 das aves.

43 Objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar o desenvolvimento da mucosa
44 intestinal de codornas japonesas de 1 a 49 dias de idade, através do estudo da
45 morfometria do trato gastrointestinal, quantificação de células caliciformes, densidade
46 de vilosidades duodenais e a expressão dos transportadores intestinais de glicose
47 (SGLT1 e GLUT2).

48

49

50 2. REFERENCIAL TEÓRICO

51

52 2.1. Coturnicultura

53 A coturnicultura, setor da avicultura destinado à criação de codornas para
54 produção de ovos e carne, visa à produção de proteína de origem animal a custo
55 reduzido, sendo que o sucesso da criação depende de vários fatores incluindo
56 melhoramento, controle sanitário, manejo e alimentação.

57 As codornas são originárias do norte da África, da Europa e da Ásia,
58 pertencendo à família dos Fasianídeos (*Fasianidae*), subfamília dos *Perdicionidae* e
59 Gênero *Coturnix* (Pinto et al., 2002). De acordo com Silva (2007), para fins
60 econômicos, as codornas são subdivididas geograficamente em dois grupos: o grupo
61 asiático e o grupo europeu. O primeiro é representado pelas codornas japonesas, que são
62 aves de pequeno porte e com alta produção de ovos. O segundo é composto por aves
63 melhoradas geneticamente para a produção tanto de carne como de ovos, porém o
64 último em menor quantidade quando comparados com as codornas japonesas.

65 Os primeiros dados históricos sobre a procedência da codorna selvagem
66 europeia (*Coturnix coturnix coturnix*) datam do século XII. No entanto, sugere-se que
67 esta ave foi introduzida no Japão no século XI, a partir da China, via Coréia. A criação
68 de codornas com a finalidade para produção de ovos e carne teve início em 1910, por
69 meio dos japoneses e chineses, que, através de vários cruzamentos entre espécies
70 selvagens, obtiveram a codorna japonesa (Murakami & Arika, 1998).

71 A produção de codornas vem aumentando de maneira considerável, desde sua
72 implantação como atividade econômica, em virtude do consumo em larga escala de
73 carne e ovos por vários países do mundo, principalmente China, Japão, Brasil, França e
74 Espanha (Minvielle, 2004). No Brasil, a criação de codornas iniciou-se por meio dos
75 imigrantes, que importaram as primeiras aves do continente europeu, na primeira
76 metade do século passado. No entanto, a coturnicultura expandiu-se mais no Brasil em
77 1989, quando uma grande empresa do setor avícola implantou o primeiro criatório na
78 região sul do país (Silva & Costa, 2009). A criação de codornas destinada à produção de
79 carne e ovos tem se desenvolvido de forma expressiva no país, sendo uma boa
80 alternativa para obtenção de produtos de alta qualidade nutricional para a população
81 (Móri et al., 2005). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística -
82 IBGE, o efetivo de codornas no Brasil em 2012 foi de 16.436.164 cabeças, registrando
83 um aumento de 5,58% em relação ao ano de 2011. A produção de ovos de codorna foi

84 de 284,97 milhões de dúzias, com aumento de 9,43% em relação ao ano anterior (IBGE,
85 2012).

86 No entanto no nosso país, o aumento da coturnicultura tem encontrado
87 dificuldades para a exploração e maximização da produção. Uma dessas dificuldades é a
88 falta de estudo do potencial produtivo sobre os principais grupos genéticos disponíveis
89 (Teixeira et al., 2013). Para a obtenção de materiais genéticos de qualidade, se faz
90 necessário a implantação de programas de melhoramento genéticos bem
91 fundamentados, embasados em parâmetros genéticos precisos (Dionello et al., 2008).

92 A indústria mundial de ovos está primariamente ligada à produção de ovos de
93 galinha. No entanto, os ovos de codorna têm obtido cada vez mais espaço no mercado
94 consumidor, seja de forma *in natura* ou em conserva. Ovos de codorna são bastante
95 nutritivos, minerais (ferro, potássio, fósforo, cobre e cloro), gordura (lipídeos,
96 fosfolipídios e esteróis), proteína (ovoalbumina, ovomucoide e ovoglobina) e vitaminas
97 (A, D, E e H, niacina, vitaminas do grupo B e vitamina C) (Fabichak, 2005).

98 O início da postura das codornas ocorre por volta de 38 a 42 dias e, apesar de
99 apresentarem ciclo reprodutivo pequeno, sua postura é regular. A taxa de produção
100 média anual é em torno de 250 a 300 ovos/ave. As fêmeas são ligeiramente mais
101 pesadas, quando comparadas aos machos, em virtude do maior desenvolvimento do
102 aparelho reprodutivo, o qual pode chegar até 10% do seu peso vivo (Albino & Barreto,
103 2003).

104

105 **2.2. Desenvolvimento da mucosa intestinal**

106 O intestino delgado é o principal órgão onde ocorre digestão e absorção de
107 nutrientes. Apesar de encontrar-se anatomicamente completo em aves logo após a
108 eclosão, a capacidade funcional de digestão e absorção de nutrientes do trato
109 gastrointestinal (TGI) ainda está imatura (Maiorka et al., 2002). Assim, quanto antes os
110 pintainhos alcançarem sua capacidade funcional, mais cedo poderá utilizar os nutrientes
111 presentes na dieta, crescer eficientemente e demonstrar seu potencial genético.

112 A maturidade do trato gastrointestinal leva ao aumento do peso do intestino
113 delgado, ocorrendo em uma velocidade maior do que o peso corporal, fato este
114 observado desde o terço final da incubação (Maiorka et al., 2000). O peso e o
115 comprimento do intestino delgado aumentam em taxas diferentes entre os seus
116 segmentos intestinais (Noy & Skan, 1999).

117 Imediatamente após a eclosão, as aves utilizam suas limitadas reservas corporais
118 para conseguir um rápido desenvolvimento físico e funcional do trato gastrintestinal, a
119 fim de desenvolver a capacidade de digerir alimentos e assimilar nutrientes (Uni &
120 Ferket, 2004). Nos primeiros dias de vida, os segmentos do TGI sofrem transição
121 metabólica e fisiológica em função da troca da alimentação dos nutrientes do saco
122 vitelínico, com alto teor gordura, para um alimento exógeno, com alto teor de
123 carboidratos e proteínas (Nitsan, 1995; Uni & Ferket, 2004).

124 O bom desempenho das aves depende da adequada obtenção de energia e
125 compostos químicos. No entanto, para que isso ocorra, o sistema digestório deve
126 apresentar características estruturais que possibilitem a ingestão e a passagem do
127 alimento pelo trato gastrointestinal, as alterações físicas e químicas do alimento e a
128 absorção dos produtos resultantes da digestão (Boleli et al., 2002). O crescimento inicial
129 da ave pode ser influenciado pela quantidade de saco vitelino residual, qualidade e
130 quantidade de alimento fornecido na dieta, água, nível de enzimas pancreáticas e
131 intestinais, área de superfície do trato gastrintestinal, transportadores de nutrientes e
132 sobretudo, pela digestibilidade dos nutrientes (Dibner et al., 1998).

133 O intestino delgado é dividido em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo. O
134 duodeno é facilmente distinguido das demais regiões do intestino pela posição do
135 pâncreas, o qual se encontra situado entre as porções ascendente e descendente da alça
136 duodenal, e por seu maior diâmetro. O jejuno é o segmento intestinal mais comprido, e
137 é marcado pela presença de pregas jejunais. O íleo é o segmento intestinal contínuo ao
138 jejuno e é delimitado posteriormente pelo ponto de ligação com cecos e cólon (Boleli et
139 al., 2002).

140 De acordo com Vieira (2002), sob o ponto de vista digestivo-absortivo, o
141 duodeno é um local de mistura de alimento com secreções digestivas e alcalinas,
142 enquanto que o jejuno é o local em que a maior parte da digestão-absorção ocorre. Após
143 a digestão de amido, os monossacarídeos livres são absorvidos por processo de
144 transporte ativo dependente de sódio, como no caso da glicose e galactose, ou então por
145 difusão facilitada, como no caso da frutose e pentose. Em relação à digestão de
146 proteínas, a hidrólise dos aminoácidos ainda se encontra incompleta no duodeno,
147 portanto, a absorção é mínima, enquanto grande parte de carreadores ou transportadores
148 de membrana estão localizados no íleo, implicando ser esse o local de maior absorção
149 de aminoácidos (Rutz, 2002).

150 A parede do lúmen intestinal é composta por pregas microscópicas denominadas
151 de vilosidades, que proporcionam aumento na superfície interna do órgão e,
152 conseqüentemente, da área de digestão e absorção (Maiorka et al., 2002). As
153 vilosidades, por sua vez, são revestidas por epitélio simples constituído por três tipos
154 celulares estruturais: enterócitos, células enteroendócrinas e células caliciformes. Os
155 enterócitos respondem pela digestão final do alimento e pelo transporte transepitelial
156 dos nutrientes a partir do lúmen e para o lúmen (Boleli et al., 2002).

157 As células enteroendócrinas são produtoras de hormônios peptídicos como a
158 gastrina, colecistoquinina, secretina e polipeptídeo inibidor gástrico, substâncias que
159 participam da digestão, absorção e utilização dos nutrientes. As células caliciformes
160 secretam glicoproteínas, que tem a função de proteger o epitélio intestinal da ação de
161 enzimas digestivas e efeitos abrasivos da digesta (Boleli et al., 2002). O muco é uma
162 glicoproteína insolúvel em água, com função protetora contra a ação mecânica que
163 ocorre durante o processo de digestão e lubrificante sobre alimentos sólidos. A camada
164 de muco tem papel importante também na proteção contra infecções, pois funciona
165 como barreira protetora que impedindo contato direto de microorganismos com as
166 células epiteliais (Maiorka, 2001).

167 O desenvolvimento da mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos
168 primários: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões
169 mitóticas sofridas por células pluripotentes localizadas na cripta e ao longo das
170 vilosidades, e perda (extrusão) de células por descamação, que ocorre naturalmente no
171 ápice dos vilos (Uni et al., 1999; Uni et al., 2000). O equilíbrio entre esses processos
172 promove o “turnover” celular, ou seja, taxa de renovação celular; quando a taxa
173 permanece constante é também estável a capacidade de digestão e de absorção intestinal
174 (Uni et al., 1998). No entanto, se houver aumento na taxa de proliferação celular
175 concomitante a ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, haverá
176 aumento no número de células e, conseqüentemente, observa-se aumento na altura e
177 densidade das vilosidades intestinais, resultando em maior taxa de absorção (Maiorka,
178 2001; Furlan et al., 2004). Por outro lado, caso ocorra aumento na taxa de extrusão,
179 haverá redução no tamanho do vilo e ocorrerá aumento na produção de células da cripta,
180 com conseqüente aumento na profundidade de cripta (Maiorka, 2001; Furlan et al.,
181 2004). A manutenção da mucosa intestinal, em condições fisiológicas normais, tem
182 custo energético elevado e estudos em perus mostram que até 60% da energia total do
183 neonato é direcionada para maturação e crescimento do tecido intestinal (Fan et al.,

184 1997). O custo é ainda mais elevado em condições de aumento da extrusão por doença
185 porque, além da redução da quantidade de substrato digerido e absorvido, há ainda o
186 custo da restauração do epitélio intestinal.

187 A manutenção da mucosa intestinal, em condições fisiológicas normais, tem
188 custo energético elevado para o frango. Segundo McBride & Kelly (1990), a
189 manutenção do epitélio intestinal e estruturas de suporte anexas corresponde a cerca de
190 20% da energia bruta consumida pelo animal, além da redução da quantidade de
191 substrato digerido e absorvido, há ainda o custo da restauração do epitélio intestinal.

192

193 **2.3. Transporte de nutrientes**

194 Os mecanismos que envolvem transporte de nutrientes em aves selvagens, ainda
195 não estão bem definidos. Estudos relacionados à absorção da glicose e aminoácidos em
196 frangos de corte indicam que ocorrem por meio de um transporte mediado por uma
197 proteína transportadora (García-Amado et al., 2005).

198 A glicose é um importante monossacarídeo na nutrição e no metabolismo das
199 aves, visto que é o açúcar de circulação sanguínea (Vieira, 2002) e a principal fonte de
200 energia para as células. Seu mecanismo de transporte transmembranar ocorre através de
201 duas famílias de proteínas transportadoras de glicose que carregam a molécula de glicose
202 pela bicamada lipídica: a família dos co-transportadores de sódio e glicose (SGLTs),
203 localizada na borda em escova dos enterócitos e responsável por transportar a glicose
204 acoplada ao sódio para o interior do enterócito, e os transportadores de glicose (GLUT),
205 presentes na membrana basolateral, responsáveis pela passagem da glicose para a
206 corrente sanguínea (Araújo & Martel, 2009).

207 O mecanismo de absorção da molécula de glicose na borda em escova dos
208 enterócitos ocorre quando há a união de dois íons sódio aos sítios de ligação do SGLT1,
209 estimulando a ligação da glicose. Ocorre uma alteração na conformação da proteína,
210 resultando na abertura do poro de membrana para o interior da célula e a liberação da
211 molécula de sódio a favor do gradiente de concentração. Logo após, ocorre outra
212 alteração conformacional da proteína, com liberação da molécula de glicose no interior
213 da célula. Os níveis de glicose aumentam no interior da célula e esta atravessa a
214 membrana basolateral dos enterócitos para a circulação sanguínea por meio da difusão
215 facilitada (Boleli et al., 2002).

216 Em frangos de corte recém-eclodidos constatou-se uma baixa absorção de
217 glicose, elevando-se com a idade do animal e o consumo de ração (Noy & Sklan, 2001).

218 A reduzida absorção de glicose observada pós-eclosão pode estar atribuída ao fato de
219 uma escassa concentração de sódio no intestino desses animais necessária para o bom
220 funcionamento dos co-transportadores de glicose (Sklan, 2003). De acordo com Noy &
221 Sklan (2000), a utilização de níveis adequados de sódio em dietas para frangos de corte
222 é fundamental para os mecanismos de absorção de glicose, uma vez que o mecanismo
223 de absorção envolve transportadores dependentes de sódio.

224 Em frangos e poedeiras, transportadores de glicose e diversos transportadores de
225 aminoácidos já foram caracterizados (Gilbert et al., 2007). No entanto, em codornas,
226 foram encontradas poucas pesquisas envolvendo os mecanismos de transporte de
227 nutrientes, nos quais apenas dois estudos foram recuperados. Em um estudo avaliando o
228 transporte de sódio, Laverty (1997) demonstra que existem vias distintas para a
229 absorção apical de sódio no cólon de codornas que são dependentes do nível de sódio
230 presente no lúmen, incluindo canais de sódio dependentes de amilorida e co-
231 transportadores de sódio com substâncias orgânicas (glicose e aminoácidos). García-
232 Amado et al. (2005) relataram a existência de co-transporte de sódio com L-alanina e D-
233 glicose no jejuno de codornas através de mudanças na corrente de curto circuito (Isc)
234 utilizando-se câmaras de Ussing. O aumento do fluxo de sódio através da membrana,
235 detectado no estudo, foi interpretado como indicação de que há dependência do sódio na
236 absorção de glicose e, portanto, que está envolvido um transportador dependente de
237 sódio como o SGLT1. Porém, não foram recuperados estudos sobre o transporte
238 intestinal de glicose em codornas japonesas em que tenha sido avaliada a expressão da
239 proteína ou do gene codificador da mesma.

240 Dessa forma, são necessários ampliar os estudos sobre a morfofisiologia
241 intestinal em codornas, incluindo pesquisas envolvendo a expressão de transportadores
242 intestinais ao longo do desenvolvimento animal, tendo em vista a importância da
243 espécie no cenário avícola brasileiro. Estes estudos iniciais poderiam garantir e
244 respaldar pesquisas mais profundas, no intuito de elucidar os efeitos de fatores
245 dietéticos e ambientais sobre a expressão de transportadores intestinais, melhorando a
246 eficiência intestinal como ferramenta para melhoria da eficiência produtiva nesta
247 espécie.

248 3. MATERIAL E MÉTODOS

249

250 3.1. Local

251 O experimento foi realizado no módulo de Avicultura do Centro Agrárias da
252 Universidade Federal da Paraíba - CCA/UFPB, Areia, Paraíba. As análises laboratoriais
253 foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Animal e Biologia Molecular -
254 CCA/UFPB, Laboratório de Histologia do Programa de Pós-Graduação em Ciência
255 Animal da UFPB e no Laboratório de Microscopia e Microanálise do Centro de
256 Tecnologias Estratégicas do Nordeste - CETENE, Recife, Pernambuco. Todos os
257 procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de
258 Animais do Centro de Biotecnologia (CEUA-CBiotec) da Universidade Federal da
259 Paraíba (Protocolo nº 3705/14). O período experimental foi de janeiro a março de 2014,
260 com uma duração de 49 dias.

261

262 3.2. Aves

263 Foram utilizadas 160 codornas japonesas de um dia de idade com peso médio
264 inicial de 6,9 gramas, distribuídas em 8 baterias de gaiolas de arame galvanizado, com
265 dimensões de 70 x 50 x 30 cm.

266

267 3.3. Manejo dos animais

268 O manejo foi realizado diariamente às 08:00h, 15:00h durante todo o período
269 experimental. O fornecimento de água e ração *ad libitum* foi por meio de comedouros e
270 bebedouros para a fase inicial, substituídos gradativamente por bebedouro tipo *nipple* e
271 comedouro tipo calha. A temperatura e ventilação foram controladas por meio do
272 manejo de cortinas presentes nas laterais do galpão. As aves foram vacinadas contra a
273 doença de Newcastle por via oral no 9º dia de criação, seguindo as recomendações do
274 fabricante e debicadas aos nove dias de idade. As aves foram vacinadas contra
275 Newcastle. O programa de luz adotado até o décimo quarto dia foi 24 horas de luz
276 (natural + artificial), sendo a luz artificial por meio de lâmpadas incandescentes de 40
277 W e, a partir do 14º dia de idade, apenas luz natural.

278

279 3.4. Dieta experimental

280 A ração experimental foi formulada de acordo com as recomendações de Silva
281 & Costa (2009).

282 **Tabela 1.** Composição percentual e química das rações
283

INGREDIENTES (%)	FASES		
	Cria (1-21 dias)	Recria (22-42 dias)	Pré-postura (43 dias a 5% de postura)
Milho 7,88%	47,369	54,585	52,023
Farelo de Soja, 45%	46,852	38,837	39,972
Oleo de soja	2,682	3,641	1,870
Calcário	1,372	1,177	4,345
Fosfato Bicálcico	0,840	0,801	0,821
Sal comum	0,557	0,557	0,560
DL-Metionina, 99%	0,135	0,145	0,152
Colina	0,070	0,070	0,070
L-Treonina, 98%	--	0,063	0,063
Premix vitamínico ¹	0,025	0,025	0,025
Premix mineral ²	0,050	0,050	0,050
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010
Antimicrobiano ⁴	0,015	0,015	0,015
Coccidiostático ⁵	0,020	0,020	--
Total	100,00	100,00	100,00
Composição calculada			
Energia metabolizável, kcal/kg	2900	3050	2800
Proteína Bruta, %	25,000	22,000	22,000
Metionina digestível, %	0,461	0,438	0,440
Metionina+Cistina Digestível, %	0,800	0,740	0,800
Lisina digestível, %	1,294	1,101	1,118
Treonina digestível, %	0,8635	0,820	0,820
Valina digestível, %	1,079	0,945	0,945
Triptofano digestível, %	0,2954	0,252	0,225
Arginina digestível, %	1,646	1,416	1,430
Isoleucina digestível, %	1,013	0,876	0,882
Leucina digestível, %	1,920	1,730	1,707
Cálcio, %	0,850	0,750	1,950
Fósforo disponível %	0,320	0,300	0,300
Potássio, %	0,994	0,869	0,870
Sódio, %	0,240	0,240	0,240

284 ¹Premix vitamínico por kg de ração: vit. A - 15.000.000 UI; vit. D3 - 1.500.000 UI; vit. E - 15.000 UI; vit. B1 - 2,0 g;
285 vit. B2 - 4,0 g; vit. B6 - 3,0 g; vit. B12 - 0,015 g; ácido nicotínico - 25 g; ácido pantotênico - 10 g; vit. K3 - 3,0 g;
286 ácido fólico - 1,0 g;

287 ²Premix mineral por kg de ração: Mn - 60 g; Fe - 80 g; Zn - 50 g; Cu - 10 g; Co - 2 g; I - 1 g; veículo q.s.p. - 500 g;

288 ³Etoxiqum - 10 g; veículo q.s.p. - 1.000 g;

289 ⁴Bacitracina de Zinco;

290 ⁵Poulcox

291

292 **3.5. Análise de desempenho**

293 Aos 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias de idade todas as aves foram
294 pesadas determinando-se os dados de peso vivo (g).

295

296 **3.6. Análise histológica**

297 Para a colheita de tecidos dos segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo), as
298 aves foram eutanasiadas com 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias de idade. Para histologia
299 de rotina, foram escolhidas, ao acaso, 4 aves de cada idade para a colheita de amostras
300 (2 cm) da porção média de cada um dos três segmentos do intestino delgado. Os tecidos
301 foram lavados com água destilada e fixados em formol a 10% por 24 horas. As amostras
302 teciduais foram desidratadas em série crescente de álcoois (70, 80, 90 e 100%)
303 diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Em seguida foi realizada a microtomia
304 semi-seriada com espessura de 5 μ m.

305 As lâminas foram coradas pelo método de ácido periódico-reativo de Schiff
306 (PAS) e analisadas em microscopia de luz. O estudo morfométrico foi realizado
307 utilizando-se o sistema analisador de imagens Image J. As variáveis estudadas foram
308 altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação vilosidade/cripta. A altura de
309 vilosidade foi determinada a partir da sua região basal que coincide com a superfície da
310 cripta até seu ápice, e a profundidade de cripta foi medida a partir da região de transição
311 vilosidade cripta até sua base. Para cada fragmento intestinal foram digitalizadas 5
312 fotomicrografias, e em cada fotomicrografia realizada uma mensuração (vilosidade e
313 cripta), perfazendo 20 mensurações por animal (4 animais x 5 mensurações) e 80 por
314 idade, para cada variável e segmento estudado. A relação vilosidade/cripta foi calculada
315 a partir da média da altura de vilosidade e profundidade de cripta.

316 Para a contagem das células caliciformes foi utilizada uma lâmina histológica
317 por animal, sendo digitalizadas 3 fotomicrografias por animal, totalizando 12
318 fotomicrografias para cada segmento intestinal em cada idade. As células caliciformes
319 foram contadas ao longo de 1000 μ m lineares de epitélio em cada fotomicrografia,
320 utilizando o sistema analisador de imagens Motic Image Plus 2.0. Foram obtidas doze
321 contagens por idade, totalizando 12000 μ m lineares, o que representou o número de
322 repetições.

323 **3.7. Densidade de vilosidades duodenais**

324 Para a avaliação da densidade de vilosidades duodenais foram utilizadas
325 imagens de microscopia eletrônica de varredura. Para o processamento dos fragmentos
326 intestinais a serem avaliados pela técnica de microscopia eletrônica de varredura, foram
327 coletadas amostras do duodeno de 2 aves. Fragmentos de até 2 cm da porção média do
328 duodeno, tiveram seu conteúdo intestinal removido com o fixador glutaraldeído 2,5%
329 mais tampão cacodilato 0,1M. As amostras foram fixadas com o mesmo fixador,
330 durante 24 horas. Em seguida, foram lavadas por três vezes consecutivas em tampão
331 cacodilato 0,1M, durante 10 minutos, para retirada de todo o fixador; posteriormente, os
332 tecidos foram pós-fixados em solução de ósmio 2% e tampão cacodilato na proporção
333 de 1:1, durante 1 hora. Posteriormente, as amostras foram novamente lavadas com o
334 mesmo tampão por duas vezes e água por duas vezes, durante dez minutos cada
335 lavagem. Em seguida, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de
336 álcool etílico (30, 50, 70, 80, 90 e 100%), 15 minutos em cada concentração, sendo que,
337 na última, as amostras foram lavadas por três vezes consecutivas, 15 minutos em cada
338 lavagem. Após obtenção do ponto crítico de secagem, utilizando CO₂, os fragmentos
339 foram metalizados em ouro e fotografados em microscópio eletrônico de varredura
340 (modelo QUANTA 200 FEG).

341 A metodologia para avaliar a densidade de vilosidade foi realizada a partir da
342 contagem do número de vilosidades existentes em cada imagem de microscopia
343 eletrônica de varredura com aumento de 400x. Para cada um dos dois fragmentos foram
344 realizadas pelo menos 3 imagens, perfazendo, pelo menos 6 imagens por idade e por
345 segmento. A área de cada uma das imagens sob o aumento de 400x foi igual de
346 482.000µm², sendo assim, os valores obtidos representam o número de vilosidade em
347 uma área de 482.000µm².

348

349 **3.8. Reação em cadeia da polimerase em tempo real semi-quantitativo (sqPCR)**

350 **3.8.1. Colheita de tecido e extração do RNA total**

351 Aos 1, 14, 21, 28, 35 dias de idade, 3 aves de cada idade foram abatidas por
352 deslocamento cervical e amostras do jejuno de aproximadamente 3 cm foram colhidas
353 em duplicatas. Os tecidos foram abertos longitudinalmente, separados e lavados em
354 solução salina (NaCl), em seguida foi realizada a coleta do raspado da mucosa do
355 fragmento com o auxílio de uma lâmina de bisturi. O conteúdo de 20 a 30 mg de
356 raspado foi colocado em microtubos de 1,5 mL e armazenados a -80 °C até o isolamento
357 do RNA.

358 O RNA total foi extraído por meio do Illustra RNAspin Mini RNA Isolation Kit
359 (GE Healthcare), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração e a
360 qualidade do RNA foram estimados através do espectrofotômetro NanoDrop 2000
361 (Thermo Scientific, Wilmington, DE), através da absorbância a 260/280 e 260/230.

362

363 **3.8.2. Síntese do cDNA e sqPCR**

364 O RNA total foi utilizado para a síntese do cDNA por meio da reação de
365 transcrição reversa (RT), utilizando-se o kit Affinity Script qPCR cDNA synthesis
366 (Agilent Technologies), de acordo com as recomendações do fabricante. O método de
367 PCR em tempo real foi realizado utilizando o kit de PCR Brilliant III Ultra-Fast
368 SYBR® QPCR Master Mix (Agilent Technologies) e o termociclador Stratagene
369 Mx3005P (Agilent Technologies).

370 Foi utilizado um volume de 5 µl do cDNA proveniente da RT, ao qual
371 acrescentou-se os seguintes componentes: 10 µl do 2xSYBR Green QPCR Master mix;
372 4 µl de cada primer; 0,3 µl do corante de referência diluído; 0,7 µl de água destilada e
373 deionizada, com um volume final da reação de 20 µl. A reação em cadeia da polimerase
374 foi realizada sob as seguintes condições: 95 °C por 3 min (1 ciclo), 95 ° C durante 15 s,
375 e 60 ° C durante 20 segundos (40 ciclos), 95 ° C por 1 min, 55 °C durante 30 segundos,
376 e 95 ° C durante 30 segundos (1 ciclo). Foram utilizados os iniciadores para os genes
377 SGLT1, GLUT2 e beta-actina descritos para frangos de corte, apresentados na Tabela 2.
378 A abundância relativa do mRNA de SGLT1 e de GLUT2 foi determinada usando o
379 método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (Pfaffl, 2001), os valores de Ct de cada amostra foi padronizada para o
380 mRNA de β -actina.

381

382

383 **Tabela 2.** Genes em estudo, identificação da sequência de referência no GenBank e
 384 sequência dos primers utilizados na sqPCR.

385

Gene (Nome)	GenBank ID	Primer Direto/ Primer Reverso
SGLT1 (co-transportador de sódio e glicose)	XM_415247	5' GCCATGGCCAGGGCTTA 3' / 5' CAATAACCTGATCTGTGCACCAGTA 3'
GLUT2 (proteína transportadora de glicose 2)	Z22932	5' CACACTATGGGCGCATGCT 3' / 5' ATTGTCCCTGGAGGTGTTGGTG 3'
β -actina	x00182.1	5' ACCACTGGCATTGTTCATGGACTCT 3' / 5' TCCTTGATGTCACGGACGATTTC 3'

386

387 3.9. Análise estatística

388 Os resultados de morfometria intestinal foram submetidos à análise de variância
 389 pelo PROC GLM (General Linear Models) do programa Statistical Analysis System
 390 (SAS Institute, 2011). Posteriormente, os efeitos das idades foram estimados por meio
 391 de análise das variáveis pelo modelo de regressão. Altura de vilosidades entre
 392 segmentos intestinais por idade foram submetidos à análise de variância e as médias
 393 comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, os dados de
 394 vilosidade duodenal por área utilizando-se o Teste de Mann-Whitney através do
 395 programa GraphPad Prism 5.0. Os dados de sqPCR foram avaliados por análise
 396 descritiva.

397

398

399 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

400

401 Os resultados referentes ao peso vivo das aves nas diferentes fases estão
 402 apresentados na Tabela 3. O peso vivo aumentou ($P < 0,001$) de forma linear crescente
 403 nas diferentes idades de criação (Tabela 3).

404

405 **Tabela 3.** Médias de peso vivo (g) de codornas japonesas em função da idade.

PARÂMETRO	IDADES (dias)									CV%	ER	P
	1	7	14	21	28	35	42	49				
Peso (g)	6,91	26,10	56,03	89,08	115,58	129,49	141,00	145,29	2,47	L*	0,001	

406 $Y = 3,0765x + 12,927$ ($R^2 = 0,9512$); CV= coeficiente de variação; L*=linear; R^2 =coeficiente de determinação
 407 P=significância.

408

409 O peso vivo das aves nas respectivas fases de criação está dentro do esperado;
 410 numericamente, as aves quadruplicaram seu peso corpóreo em uma semana. Segundo
 411 Silva & Costa (2009), codornas japonesas apresentam pesos vivos aproximados de 5,
 412 17, 36 e 64, 88 e 105 g, respectivamente, aos um, cinco, dez, quinze, vinte e dois e trinta
 413 e um dias de idade. Sugere-se esta diferença no peso das aves em razão da variabilidade
 414 genética existente e métodos de criação.

415 Os resultados referentes às médias da morfometria intestinal e contagem de
 416 células caliciformes encontram-se na Tabela 4. Houve aumento da altura das
 417 vilosidades, profundidade de cripta e na contagem do número de células caliciformes no
 418 intestino delgado de codornas japonesas com a idade (Tabela 4).

419

420

421 **Tabela 4.** Morfometria e contagem de células caliciformes do intestino delgado de
422 codornas japonesas em função da idade.

423

Variáveis	Idade (dias)							CV%	ER	P
	7	14	21	28	35	42	49			
Altura de vilosidade (µm)										
¹ Duodeno	561,81	595,46	757,02	800,72	846,33	901,43	858,27	7,09	Q*	0,001
² Jejuno	416,07	459,27	511,37	544,75	561,69	568,16	578,99	6,42	Q*	0,001
³ Íleo	271,88	303,94	352,51	363,50	382,74	407,78	414,42	10,16	Q*	0,001
Profundidade de Cripta (µm)										
⁴ Duodeno	46,31	54,70	57,64	57,82	61,93	60,02	60,85	8,21	Q*	0,001
⁵ Jejuno	36,39	48,45	52,314	52,86	53,27	52,16	52,68	9,51	Q*	0,001
⁶ Íleo	32,75	35,19	38,31	44,40	45,97	47,01	48,34	7,14	Q*	0,001
Relação Vilosidade:Cripta										
Duodeno	12,21	10,928	13,23	13,93	13,87	14,34	14,18	14,46	NS	0,001
⁷ Jejuno	11,52	9,56	9,86	10,42	10,57	10,98	11,06	11,43	Q*	0,001
Íleo	8,33	8,64	9,25	8,20	8,36	11,40	8,61	12,17	NS	0,001
Células Caliciformes (n)										
⁸ Duodeno	34,08	42,5	42,75	50,5	42,67	58,25	47,00	16,54	Q*	0,001
⁹ Jejuno	47,00	51,42	50,33	64,83	53,17	86,17	58,17	23,86	L*	0,001
¹⁰ Íleo	48,25	50,25	57,00	69,83	69,08	79,08	77,92	12,56	Q*	0,001

424 $1\hat{Y}=298,48+28,294x-0,3441x^2$ ($R^2=0,9626$); $2\hat{Y}=287,96+14,355x-0,1774x^2$ ($R^2=0,9658$); $3\hat{Y}=181,62+10,035x-$
425 $0,1112x^2$ ($R^2=0,9661$); $4\hat{Y}=40,931+1,0363x-0,0132x^2$ ($R^2=0,9319$); $5\hat{Y}=29,719+1,4191x-0,0201x^2$ ($R^2=$
426 $0,8905$); $6\hat{Y}=26,99+0,7382x-0,0061x^2$ ($R^2=0,9713$); $7\hat{Y}=233,59-2,482x+0,0482x^2$ ($R^2=0,471$); $8\hat{Y}=21,707+$
427 $1,5329x-0,02x^2$ ($R^2=0,8214$); $9\hat{Y}=25,327+2,0333x-0,0248x^2$ ($R^2=0,6697$); $10\hat{Y}=30,522+1,7308x-0,0153x^2$ ($R^2=$
428 $0,9561$); CV= coeficiente de variação; Q*=quadrático; L*= linear; NS = não significativo; R^2 = coeficiente de
429 determinação; P= significância.

430

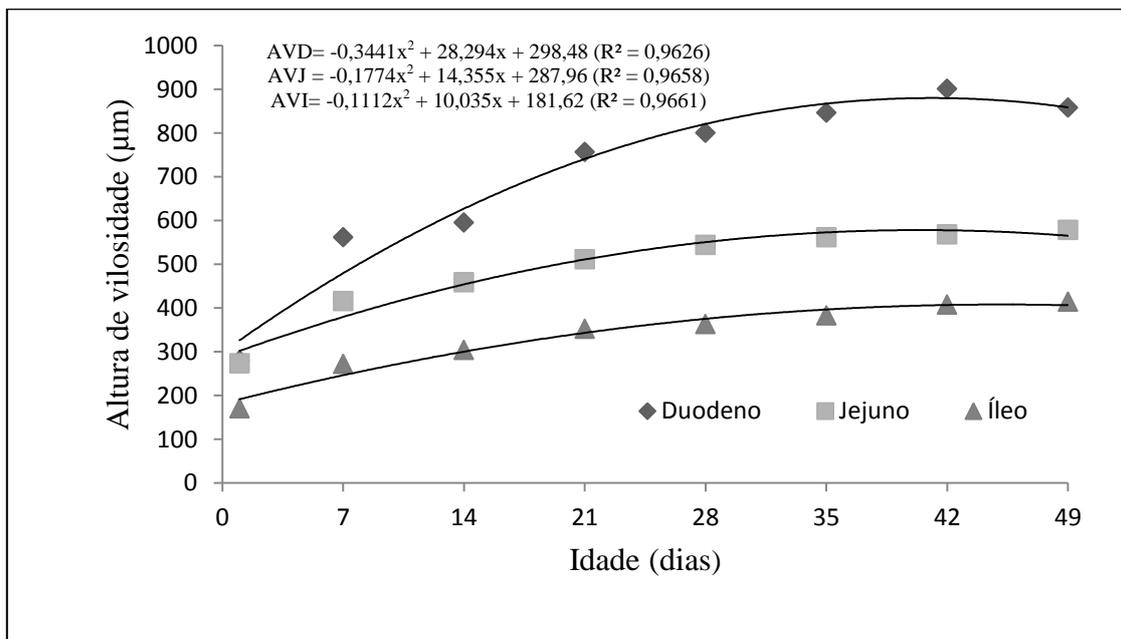
431 À eclosão, os enterócitos e as vilosidades encontram-se pouco desenvolvidas e
432 poucas criptas são observadas, porém estas estruturas aumentam em quantidade e
433 tamanho, proliferam-rapidamente nos primeiros dias pós-eclosão em frangos de corte
434 (Geyra et al., 2001), dados corroborados pelos encontrados no presente estudo. O
435 desenvolvimento e maturação intestinal pós-eclosão foram estudadas por diversos
436 autores (Uni et al, 1995., Uni et al., 1998., Uni et al., 1999) devido à importância
437 econômica para aves comerciais, como também a pesquisas voltadas para a nutrição.

438 Os resultados histológicos indicam máximo desenvolvimento das vilosidades
439 intestinais por volta da sexta semana de vida, com tendência a estabilização com o
440 avançar da idade, sendo, portanto um fator importante para melhor aproveitamento dos
441 nutrientes presentes na dieta nesta fase. Segundo Geyra et al. (2001), uma das principais
442 modificações no desenvolvimento da mucosa das aves pós- eclosão é descrita
443 inicialmente pelo fato de que as células presentes nas vilosidades possuem alta
444 capacidade mitótica, a qual é reduzida com o passar da idade da ave. Esse processo de
445 mitose celular desempenha importante função na hiperplasia pós-eclosão, enquanto que

446 a redução dessa atividade mitótica das células observadas nas vilosidades com o passar
447 da idade é compensada através do crescimento em tamanho e largura das criptas.

448 Os dados referentes à altura dos vilos estão apresentados na Figura 1, na análise
449 de regressão observou-se efeito quadrático ($P < 0,001$) para os valores de altura de
450 vilosidades em todos os segmentos do intestino delgado.

451



452

453 **Figura 1.** Altura de vilosidade do duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em
454 função da idade

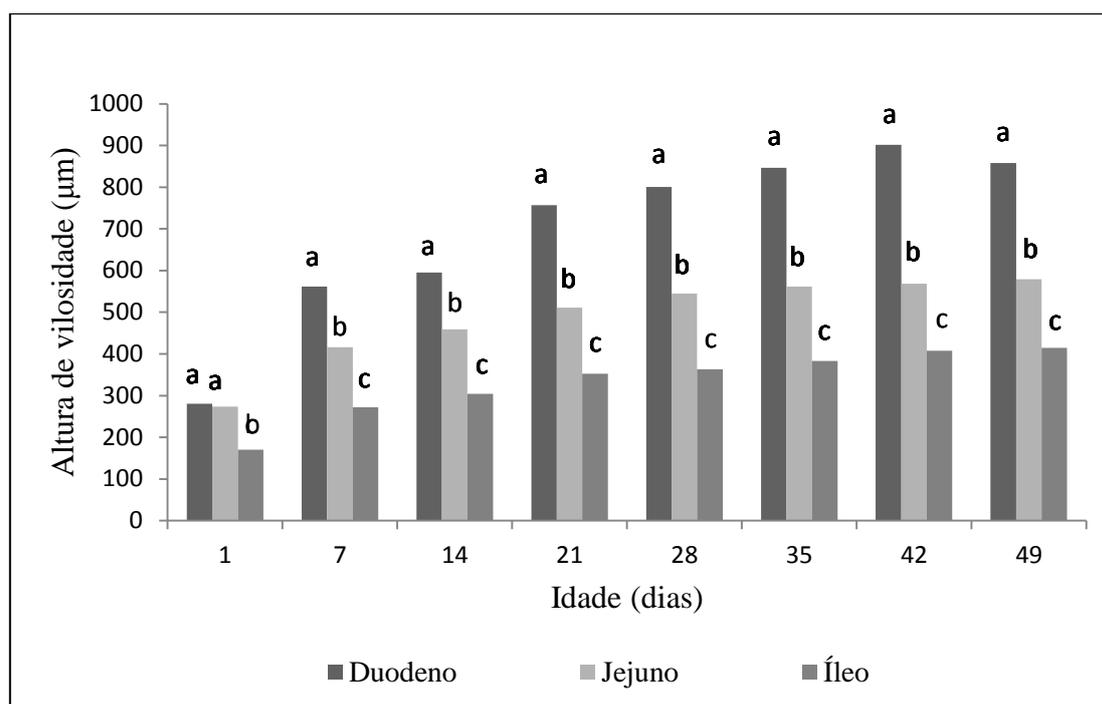
455

456 Uni et al. (1998), ao avaliarem o desenvolvimento pós-eclosão da mucosa do
457 intestino delgado de frangos de corte, constataram que o desenvolvimento completo das
458 vilosidades duodenais ocorreu até os sete dias de idade; enquanto que os vilos do jejuno
459 e íleo, continuou até aos 14 dias. Esses achados diferem dos resultados obtidos neste
460 estudo, nos quais indicam que o desenvolvimento do duodeno está completo aos 41 dias
461 pós-eclosão, enquanto foi observado um crescimento das vilosidades no jejuno e íleo até
462 40 e 45 dias, respectivamente, após esta idade tendem a estabilização, com provável
463 equilíbrio na taxa de renovação celular (Tabela 4 e Figura 2). Murakami et al. (2007)
464 observaram que o desenvolvimento do duodeno completou-se aos 21 dias e houve
465 crescimento gradual do jejuno e íleo até os 41 dias, dados observados em frangos de
466 corte.

467

468 Os dados referentes à média da altura dos vilos entre os segmentos do intestino
delgado estão apresentados na Figura 2.

469



470

471 **Figura 2.** Médias de altura de vilosidades (μm) do duodeno, jejuno e íleo de codornas
 472 japonesas em diferentes idades. Letras minúsculas iguais indicam ausência de
 473 significância ao nível de 5% (teste Tukey) entre segmentos na mesma idade.

474

475 O estudo morfométrico dos segmentos intestinais indicou maior
 476 desenvolvimento das vilosidades duodenais, seguido por jejuno e íleo, indicando
 477 diferença entre a altura das vilosidades entre os três segmentos do intestino delgado em
 478 aves a partir dos 7 dias de idade (Figura 2). Ao comparar os três segmentos, pode-se
 479 observar maior desenvolvimento da vilosidade do duodeno em relação ao íleo, o que
 480 está em consonância com os resultados obtidos por Uni (1999), Kondo (2003) e
 481 Sakamoto (2005) em frangos de corte. Esse maior desenvolvimento pode ser atribuído,
 482 segundo Maiorka et al. (2002), ao fato de ser o duodeno o segmento de mais rápida
 483 renovação celular e, ainda, por ser o primeiro segmento do intestino delgado a receber
 484 estímulos físicos, químicos e hormonais desencadeados pela presença da dieta no
 485 lúmen.

486

487 No presente estudo, as aves foram mantidas em situação de termoneutralidade
 488 recebendo ração *ad libitum* durante toda o período experimental. A presença do
 489 alimento no intestino atua como efeito trófico para o desenvolvimento da mucosa
 490 intestinal e em ambiente com temperaturas elevadas às aves reduzem o consumo de
 ração, prejudicando também a morfologia intestinal (Maiorka, 2001). Na presença de

491 nutrientes a capacidade de absorção do segmento será diretamente proporcional ao
492 tamanho dos vilos e área de superfície disponível para a absorção (Macari, 1999).
493 Assim, aves expostas a estresse como o jejum por um longo período e temperaturas
494 elevadas no ambiente de criação apresentarão mudanças na composição e quantidade do
495 muco e alterações bruscas na morfometria intestinal.

496 Foi observado efeito quadrático ($P < 0,001$) para os valores de profundidade de
497 cripta em todos os segmentos do intestino delgado (Figura 3), sendo o ponto máximo
498 para a profundidade de cripta aos 39, 35 e 49 dias para duodeno, jejuno e íleo,
499 respectivamente. Embora as criptas intestinais sejam pequenas e rudimentares e
500 somente uma cripta por vilo seja observada à eclosão, o número destas estruturas
501 aumenta rapidamente logo após a eclosão em frangos de corte (Uni et al., 1995; Noy &
502 Sklan, 1997; Uni et al., 1999; Geyra et al., 2001).

503 Uni et al. (1995) verificaram aumento da profundidade da cripta até os 10 dias
504 de idade em poedeiras leves (Lohmann), mas isso não ocorreu no íleo de frangos de
505 corte (Arbor Acres). Vale ressaltar que os animais foram avaliados até os 10 dias de
506 idade e não foi feita a análise de regressão, portanto, não há estimativa de crescimento
507 posterior.

508

509

510

511

512

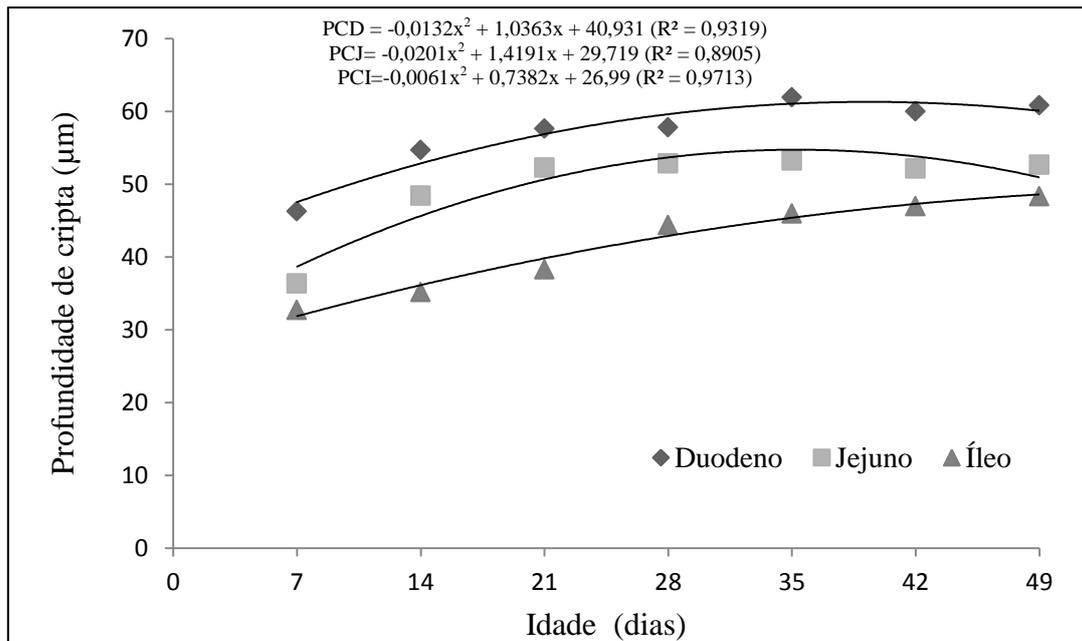
513

514

515

516

517



518

519 **Figura 3.** Profundidade de cripta do duodeno, jejuno e íleo de codornas japonesas em
 520 função da idade.

521

522 Não houve efeito significativo ($P > 0,001$) da idade sobre a relação
 523 vilosidade/cripta do duodeno e do íleo (Tabela 4). No jejuno, a relação vilosidade/cripta
 524 apresentou efeito quadrático ($P < 0,001$), estimando-se menor relação com 14 dias de
 525 idade (Figura 4).

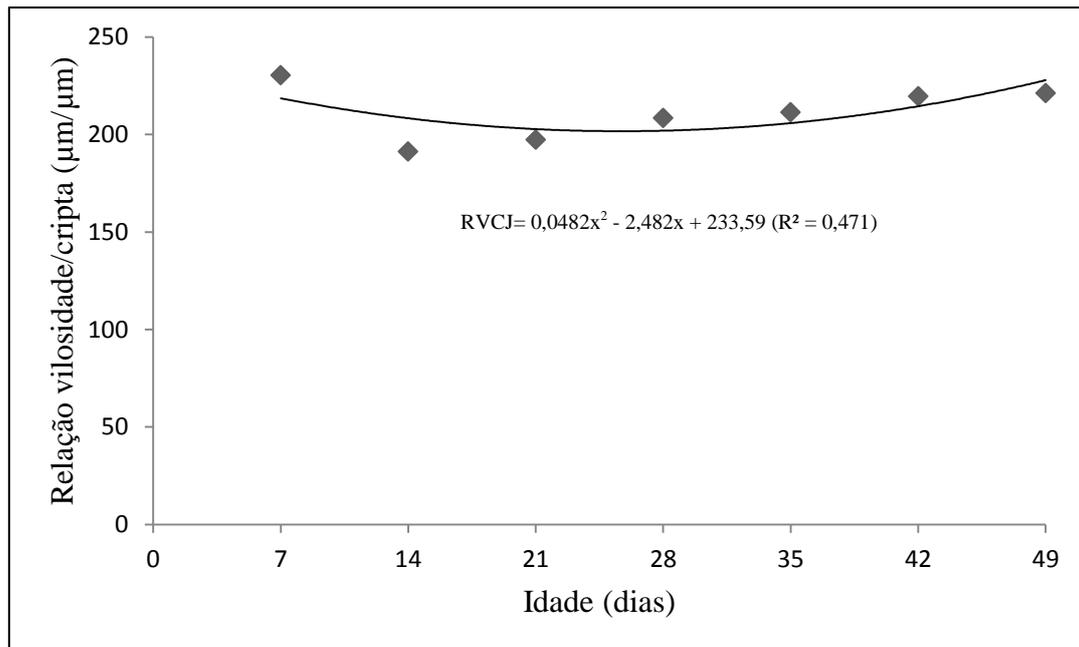
526 A relação desejável entre vilosidades e criptas intestinais ocorre quando as
 527 vilosidades se apresentam altas e as criptas rasas, ou seja, quanto maior relação altura de
 528 vilosidade/profundidade de cripta, melhor será a absorção de nutrientes e menores serão
 529 as perdas energéticas com a renovação celular (Li, 1991; Nabuus, 1995).

530

531

532

533



534

535 **Figura 4.** Relação vilosidade/cripta do jejuno de codornas japonesas em função da
536 idade.

537

538 Os dados referentes ao número de células caliciformes nos três segmentos do
539 intestino delgado de codornas estão representados na Figura 5. O número de células
540 caliciformes no duodeno e íleo apresentou efeito quadrático ($P < 0,001$) e efeito linear
541 crescente no jejuno ($P < 0,001$) nas diferentes idades avaliadas (Figura 5).

542 Neste estudo houve aumento do número de células caliciformes entre os
543 segmentos intestinais. O número de células caliciformes aumentou até 38 dias, no
544 duodeno. O íleo foi apresentado maior número destas células, corroborando estudos
545 anteriores em frangos de corte (Uni et al., 2003). Talvez por este segmento estar mais
546 próximo do ceco e este por sua vez ser a região mais colonizada por microrganismos e
547 muitos deles patogênicos, e o muco ser uma barreira de defesa do organismo.

548

549

550

551

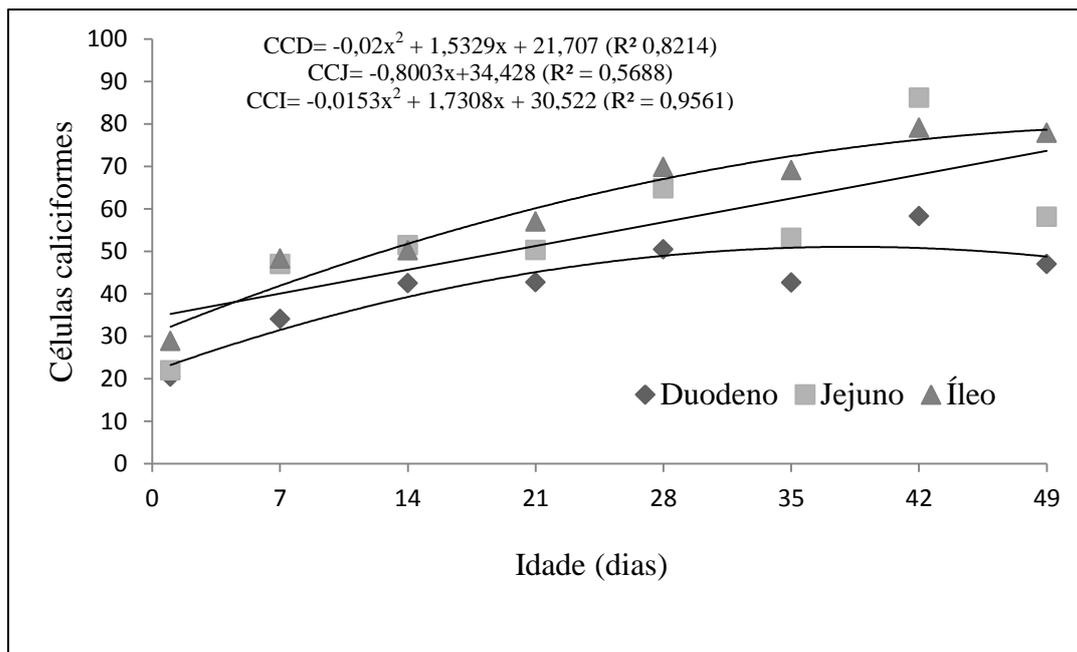
552

553

554

555

556



557

558 **Figura 5.** Contagem de células caliciformes no duodeno, jejuno e íleo de codornas
 559 japonesas em função da idade.

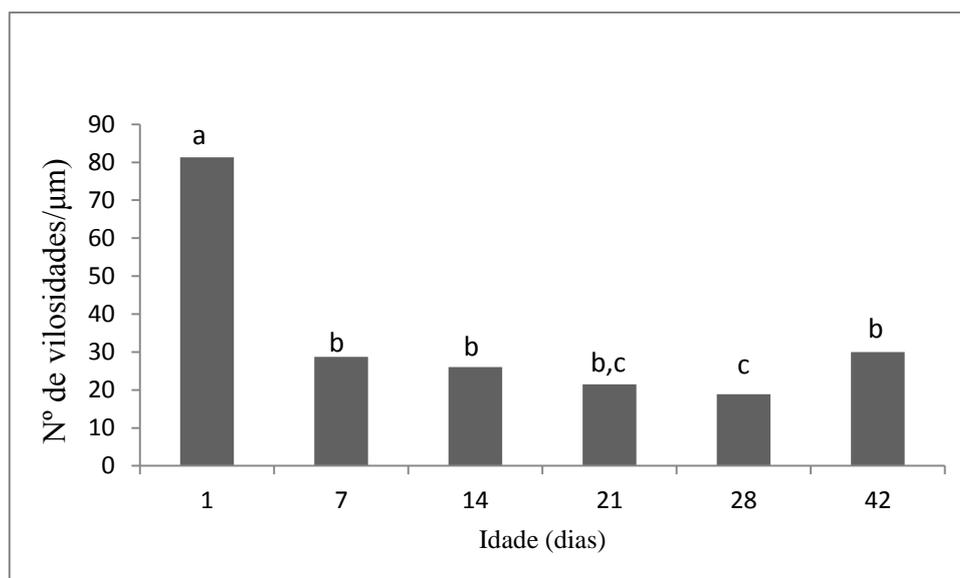
560

561 Uni et al. (2003) avaliaram as células epiteliais durante o terço final da
 562 incubação e 7 dias pós-eclosão para determinação dos tipos de células caliciformes
 563 presentes no intestino delgado de frangos. Os autores observaram um rápido aumento
 564 no número de células caliciformes por área, no duodeno, no entanto, o aumento da
 565 densidade das células caliciformes foi maior no jejuno e íleo, chegando a 50% e 150%
 566 no jejuno e íleo respectivamente no final da incubação e continuando pós-eclosão.
 567 Segundo os autores, camada de muco é um componente estrutural do trato
 568 gastrointestinal, possui a função de proteção, lubrificação e transporte entre o conteúdo
 569 luminal e celular, dessa forma, a ontogenia das células caliciformes é uma parte
 570 importante dos estudos no desenvolvimento intestinal.

571 De acordo com Ozaydin & Celik (2012) o número de células caliciformes
 572 aumenta no sentido distal dos segmentos intestinais, esses dados são corroborados com
 573 o presente estudo.

574 Os resultados de densidade de vilos no duodeno aos 1, 7, 14, 21, 28 e 42 dias
 575 dias de idade estão apresentados na Figura 6.

576



577

578 **Figura 6.** Médias de densidade de vilosidades duodenais de codornas japonesas em
 579 função da idade. Letras minúsculas iguais indicam ausência de significância ao nível de
 580 5% (teste Tukey) entre segmentos na mesma idade.

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

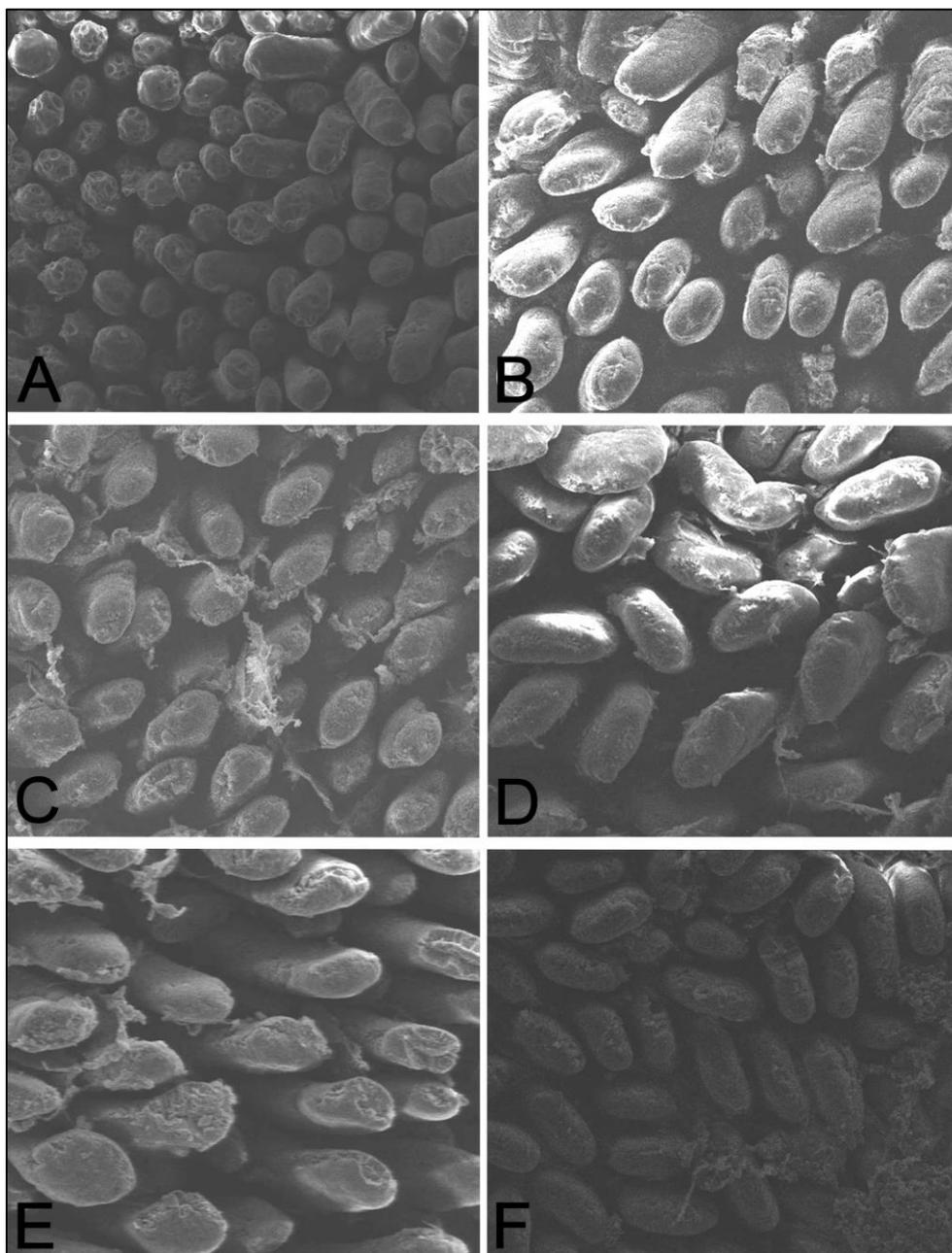
600

Observou-se que as aves com um dia de idade apresentaram maior densidade de vilosidades ($p < 0,005$). Foi observado que densidade de vilosidades é maior momentos pós-eclosão, diminuindo posteriormente. Isso é supostamente devido a um processo de proliferação muito intenso, caracterizado por hiperplasia celular e não hipertrofia celular, conforme descrito em frangos e poedeiras (Uni et al., 1996). Pode-se sugerir que, a partir de 7 dias de idade, as aves já apresentavam um número definido de vilosidades por área do intestino delgado. Yamauchi e Isshiki (1991) relataram que a densidade de vilosidades é diferente nas várias porções intestinais (duodeno, jejuno e íleo) e o número vilosidades/área é reduzido em função da idade, sendo observado uma maior redução em frangos de corte do que em poedeiras. Apesar de ocorrer diminuição no número de vilosidades do primeiro ao 30º dia de idade em aves, há aumento nas dimensões das vilosidades duodenais, o que compensaria a capacidade de absorção. Aparentemente, o mesmo padrão de frangos de corte foi apresentado nas codornas do presente estudo.

Estudos anteriores referentes à morfologia macro e microscópica do intestino delgado de codornas japonesas apresentaram dados descritivos (Ahmad et al., 2012) ou se referem à fase de produção (Lemos et al., 2013). O presente estudo contribui no sentido de apresentar dados referentes à histomorfometria dos segmentos do intestino delgado de codornas japonesas desde a eclosão até 49 dias de idade.

601 Na Figura 7 estão apresentadas eletromicrografias do duodeno de codornas em
602 diferentes idades.

603



604

605

606 **Figura 7.** Eletromicrografias de varredura da superfície da mucosa do duodeno de
607 codornas em diferentes idades. A. 1 dia; B. 7 dias; C. 14 dias; D. 21 dias; E. 28 dias; F.
608 42 dias.

609

610 Observou-se que, no primeiro dia após a eclosão, as vilosidades intestinais do
611 duodeno das aves apresentaram-se uniformes, com algumas vilosidades apresentando
612 superfície apical lisa, no entanto outras com presença de poros. Yamauchi e Isshiki

613 (1991) avaliaram partes de vilosidades e revelaram superfícies lisas e outras com vários
614 poros de células caliciformes e fendas. A partir dos 7 dias as vilosidades apresentaram-
615 se mais esparsas e com o formato de folha.

616 O resultado referente à expressão de SGLT1 E GLUT2 no jejuno codornas aos 1,
617 14, 21, 28 e 35 dias de idade estão apresentados na Figura 8. Nota-se que a expressão
618 relativa de SGLT1 é bem maior que a expressão relativa de GLUT2, exceto com 1 e 28
619 dias de idade.

620 Foram encontradas diferenças na expressão de mRNA do gene SGLT1 e GLUT2
621 entre as idades avaliadas. Observou-se aumento expressivo na abundância do mRNA
622 dos dois genes até os 14 dias de idade, declinando aos 21 dias e apresentando tendência
623 ao aumento até aos 35 dias.

624 Para dar suporte ao seu crescimento, as aves necessitam adquirir rápida
625 capacidade de absorver nutrientes externos (Jin et al., 1998). De acordo com
626 Sulistiyanto et al. (1999), em frangos, logo após a eclosão, a captação de glicose é
627 baixa, aumentando gradativamente com a idade da ave, sugerindo que o transporte pode
628 ser um fator limitante na assimilação de glicose durante o período pós-eclosão. Segundo
629 Christensen (2009), a mudança brusca de uma dieta rica em lipídeos (saco da gema)
630 para uma dieta rica em carboidrato e proteína (dieta exógena) requer uma mudança
631 drástica e rápida do metabolismo digestivo, que deve ocorrer em cerca de 24 horas. De
632 fato, a capacidade de digestão e absorção do alimento rico em glicose aparentemente
633 está completa 48 horas após a eclosão em outras aves domésticas, incluindo a função
634 das dissacaridases e dos transportadores de glicose, assim como ocorre aumento da
635 massa intestinal concomitante ao aumento da ingestão de alimento (Noy & Sklan, 1996,
636 Uni et al., 1999a). Gilbert et al. (2007) mostraram, utilizando PCR em tempo real
637 quantitativa (qPCR), que a expressão de SGLT1 e GLUT2 aumentou linearmente com a
638 idade em frangos de corte, sugerindo que a capacidade de assimilação de glicose
639 aumenta até os 14 dias após a eclosão, que foi a última idade avaliada. Além disso, a
640 expressão de todos os transportadores foi maior no jejuno, sugerindo que esse seja o
641 maior sítio de absorção de glicose. Finalmente, a expressão de SGLT1 foi maior do que
642 de outros transportadores de glicose estudados, incluindo o GLUT2, indicando que esta
643 seja a via principal de assimilação de glicose no intestino delgado de frangos.

644 Os dados aqui apresentados corroboram essas sugestões, com aumento rápido na
645 expressão do mRNA dos transportadores de glicose até os 14 dias e diminuição
646 posteriormente, o que pode estar refletindo o aumento na capacidade de absorção da

647 glicose nas duas primeiras semanas e ajuste nos níveis posteriormente. O mecanismo
648 de transporte paracelular de glicose é o predominante em aves silvestres e no cólon de
649 frangos de corte (García-Amado et al., 2005, Braun & Sweazea, 2008), enquanto o
650 mecanismo mediado por proteínas transportadoras (SGLT1 e GLUT2) é semelhante ao
651 mecanismo encontrado em mamíferos e foi demonstrado em outras aves de produção,
652 como poedeiras e frangos de corte (Braun & Sweazea, 2008). Os dados da pesquisa
653 sugerem a existência do transporte facilitado por proteínas carreadoras, mas não há
654 possibilidade de uma avaliação conclusiva sobre a funcionalidade de tais proteínas.
655 Trabalhos anteriores em codornas sobre o transporte intestinal de aminoácidos
656 conjugado ao sódio, dependente de proteínas transportadoras, demonstraram evidências
657 da existência das proteínas através da avaliação da função utilizando câmaras de Ussing
658 e da inibição sua inibição através de drogas como florizina (Lavery et al., 1997, García-
659 Amado et al., 2005), mas estes não demonstraram a presença de proteínas
660 transportadoras, mRNAs ou dos genes codificadores, pois não foram empregadas
661 técnicas imunohistoquímicas ou de detecção de ácidos nucleicos.

662 Os resultados sugerem a continuidade de pesquisas que envolvam o estudo da
663 ontogenia morfológica e fisiológica da mucosa intestinal de codornas desde a
664 incubação, incluindo identificação mais precisa dos processos responsáveis pelo
665 desenvolvimento da mucosa, da atividade enzimática do pâncreas e intestino, do
666 transporte de nutrientes, e das barreiras imunes intestinais primárias. O trato
667 gastrointestinal representa um sistema crucial para o bom desempenho das aves, não
668 somente pelo seu papel na obtenção adequada de energia e compostos químicos pelo
669 organismo, mas também como barreira à invasão por microrganismos.

670

671

672

673

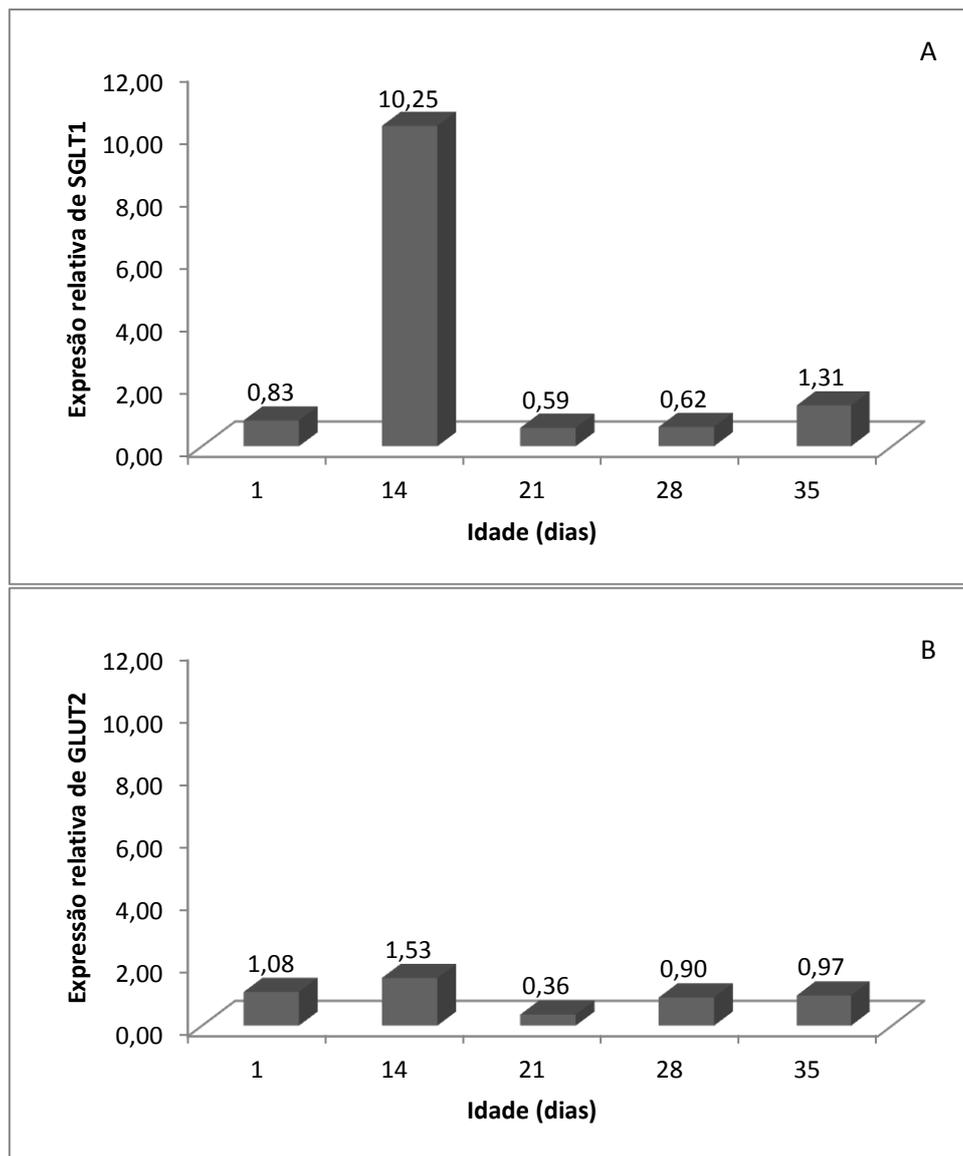
674

675

676

677

678



679

680

681 **Figura 8.** Efeito da idade sobre a expressão relativa do mRNA de SGLT1 (A) e de
682 GLUT2 (B) no jejuno de codornas japonesas.

683

684

685

686

687

688

689

690 **5. CONCLUSÕES**

691 Ocorreu desenvolvimento da mucosa até o 41º, 40º, e 45º dia, no duodeno, jejuno e
692 íleo, respectivamente. A maior densidade de vilos duodenais foi observada em aves na
693 primeira semana pós-eclosão.

694 As taxas de desenvolvimento intestinal foram diferentes entre o duodeno, jejuno e
695 íleo sendo mais intensa no duodeno.

696 O número de células caliciformes no duodeno, jejuno e íleo aumentou com a
697 idade, havendo maior quantidade no íleo.

698 Ocorreu variações na expressão do gene SGLT1 e GLUT2 entre os estágios de
699 desenvolvimento avaliados.

700

701

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 702
703
704 AHMAD, J.M.; MAMDE, C.S.; PATIL, V.S. et al. Gross anatomical study of small
705 intestine in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Indian Journal of**
706 **Veterinary Anatomy**, v. 24, p. 82-83, 2012.
- 707
708 ALBINO, L.F.T.; BARRETO, S.L.T. **Criação de codornas para produção de ovos e**
709 **carne**, Viçosa: Aprenda Fácil, 239p, 2003.
- 710
711 ARAÚJO, M. S.; BARRETO, S. L. T.; DONZELE, J. L.; Níveis de cromo orgânico na
712 dieta de codornas japonesas mantidas em estresse por calor na fase de postura.
713 **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 584-588, 2007.
- 714
715 ARAÚJO, J.R.; MARTEL, F. Regulação da absorção intestinal de glicose. **Arquivos de**
716 **Medicina**, v. 23, p. 35-43, 2009.
- 717
718 BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório In:
719 MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a**
720 **frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, cap. 5, p. 75-95, 2002.
- 721
722 BRAUN, E.J., SWEAZEA, K. L. Glucose regulation in birds. **Comparative**
723 **Biochemistry and Physiology**, v. 151B, p. 1-9, 2008.
- 724
725 BUENO, R.; ALBUQUERQUE, R.; MURAROLLI, V.D.A. et al. Efeito da influência
726 de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. **Brazilian**
Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 49, p. 111-115, 2012.
- 727
728 CHRISTENSEN, V.L. Development during the first seven days post-hatching. **Avian**
Biology Research, v. 2, p. 27-33, 2009.
- 729
730 COSTA, C. H. R.; BARRETO, S. L. T.; MOURA, W. C. O. Níveis de fósforo e cálcio
731 em dietas para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**,
732 Viçosa, v. 36, p. 2037-2046, 2007.
- 733
734 DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D.; KITCHELL, M.L. et al. Early feeding and the
735 development of the immune system. **Journal of Applied Poultry Research**,
736 Savoy, v.7, p. 425-436, 1998.
- 737
738 DIONELLO, N.J.L.; CORREA, G.S.S.; SILVA, M.A. et al. Estimativas da trajetória
739 genética do crescimento de codornas de corte utilizando modelos de regressão
740 aleatória. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2,
741 p. 454-460, 2008.
- 742
743 FABICHAK, I. **Codorna: criação, instalação, manejo**. São Paulo: Nobel. p. 11-75,
744 2005.
- 745
746 FAN, Y.k.; CROOM, J.; CHRISTENSEN, V.L. et al. Jejunal glucose uptake and
747 oxygen consumption in turkey poult selected for rapid growth. **Poultry Science**, v.
748 76, p. 1738-1745, 1997.
- 749

- 750 FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de
751 prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: **5º Simpósio Técnico**
752 **de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição**, Balneário Camboriú. 2004.
753
- 754 GARCÍA-AMADO, M.A.; DEL CASTILLO, J.R., EGEE PEREZ, M. et al. Intestinal
755 D-glucose and L-alanine transport in Japanese quail (*Coturnix coturnix*). **Poultry**
756 **Science**, v. 84, p. 947-950, 2005.
757
- 758 GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in
759 the posthatch chick. **Poultry Science**, v. 80, p. 776-782, 2001.
760
- 761 GILBERT, E.R.; LI, H.; EMMERSON, D.A. et al. Developmental regulation of nutrient
762 transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers.
763 **Poultry Science**, v. 86, p. 1739–1753, 2007.
764
- 765 IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Comunicação Social. Disponível
766 em:<[http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/](http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2012/ppm2012.pdf)
767 [2012/ppm2012.pdf](http://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2012/ppm2012.pdf)>. Acessado em: 15 de set de 2014.
768
- 769 JIN, S. H.; CORLESS, A.; SELL, J. L. Digestive system development in post-hatch
770 poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, p. 335-345, 1998.
771
- 772 KONDO, N. Estudo das características morfológicas de diferentes regiões do intestino
773 delgado e índices zootécnicos em quatro linhagens de frangos de corte. **Tese**
774 (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
775 Botucatu, 107p, 2003.
776
- 777 LAVERTY, G. Transport characteristics of the colonic epithelium of the Japanese quail
778 (*Coturnix coturnix*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.118A, p.
779 261–263, 1997.
780
- 781 LEMOS, M.J.; CALIXTO, L.F.L.; NASCIMENTO, A.A. Morfologia do epitélio
782 intestinal de codornas japonesas alimentadas com parede celular da
783 *Saccharomyces cerevisiae*. **Ciência Rural**, v. 43, p. 2221-2227, 2013.
- 784 LI, D.F. Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth
785 performance in early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 4062–
786 4069, 1991.
- 787 MACARI, M. **Fisiologia do sistema digestivo das aves**. **Aves e Ovos**, São Paulo, v.
788 15, p. 2-20, 1999.
789
- 790 MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: Conferência Apinco de Ciência
791 e Tecnologia Avícolas, 2001, Santos, São Paulo. **Anais...**Campinas: FACTA, v. 2,
792 p. 141-151, 2001.
793
- 794 MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A.V.F. et al. Desenvolvimento do Trato
795 Gastrointestinal de Embriões Oriundos de Matrizes Pesadas de 30 e 60 Semanas
796 de idade. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, p. 141-148, 2000.
797

- 798 MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e Reparo da Mucosa
799 Intestinal In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed.) **Fisiologia**
800 **Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP,
801 p.113-123, 2002.
- 802 MCBRIDE, B. W; KELLY, J. M., Energy cost of absorption and metabolism in the
803 ruminant gastrointestinal tract and liver: A review. **Journal Animal Science**, v.
804 68, p. 2997-3010, 1990.
- 805
806 MINVIELLE, F. The future of Japanese quail for research and production. **World's**
807 **Poultry Science Journal**, v. 60, p. 500-507, 2004.
- 808
809 MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; PAVAN, A.C. et al. Desempenho e rendimento de carcaça
810 de quatro grupos genéticos de codornas para produção de carne. **Revista**
811 **Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 870-876, 2005.
- 812
813 MURAKAMI, A.E.; ARIKI, J. **Produção de codornas japonesas**. Jaboticabal: Funep,
814 1998.
- 815
816 MURAKAMI, A.E; GARCIA, E.A. Novas tecnologias no sistema de produção de
817 codornas. In: Congresso latino-americano de nutrição animal. São Paulo.
818 **Anais...**São Paulo: CBNA, 2006.
- 819
820 MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M. I.; NATALI, M.R.M. et al. Supplementation of
821 Glutamine and Vitamin E on the Morphometry of the Intestinal Mucosa in Broiler
822 Chickens. **Poultry Science**, v. 86 p. 488–495, 2007.
- 823
824 NABUUS, M.J.A. Microbiological, structural and function changes of the small
825 intestine of pigs at weaning. **Pigs News and Information**, Oxfordshire, v. 16,
p.93-97, 1995.
- 826
827 NITSAN, Z. The development of digestive tract in posthatched chick. In: European
828 Symposium on Poultry Nutrition, 10, 1995, Antalya. **Proceedings...**Antalya:
829 European Poultry Science Association, p. 21-28, 1995.
- 830
831 NOY, Y., SKLAN, D. Uptake capacity in vitro for glucose and methionine and in situ
832 for oleic acid in proximal small intestine of posthatch chick. **Poultry Science**, v. 75,
833 p. 998– 1002, 1996.
- 834
835 NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development poultry. **Journal of Applied Poultry**
836 **Research**, v. 6, p. 344-354, 1997.
- 837
838 NOY, Y.; SKLAN, D. Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, v.
839 78, p. 1750-1756, 1999.
- 840
841 NOY, Y.; SKLAN, D. Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch
chicks. **Poultry Science**, v.79, p.1306–1310, 2000.
- 842
843 NOY, Y.; SKLAN, D. Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick,
Poultry Science, v.80, p.1490–1495, 2001.

- 844
845 PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-
846 PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 29, p. 2002-2007, 2001.
- 847 PINTO, R.; FERREIRA, A.S.; ALBINO, L.F.T. et al. Níveis de Proteína e Energia para
848 Codornas Japonesas em Postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 1761-
849 1770, 2002.
- 850 RESENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; McMANUS, C. et al. Desempenho produtivo
851 de biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis
852 de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.
853 26, p. 353-358, 2004.
- 854
855 RUTZ, F. Proteínas: Digestão e Absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.;
856 GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. Ed.
857 Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.135-141, 2002.
- 858
859 SAKAMOTO, M.I. Influência da glutamina e vitamina E sobre o desempenho, resposta
860 imunológica e morfometria intestinal de frangos de corte. 2005. Dissertação
861 **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Estadual de Maringá,
862 Maringá, 70p, 2005.
- 863
864 SAS. **SAS/STAT 9.3 User's Guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2011, 8621 p.
- 865
866 SILVA, J. H. V. Tabela de exigência nutricional para codornas – **Composição de**
867 **alimentos e manejo produtivo**. 2ª ed. DAP/CCHSA/UFPB, Bananeiras. 200p,
868 2007.
- 869
870 SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabela para codornas japonesas e europeias**. 2.ed.
871 **Jaboticabal**, SP: FUNEP, 110p. 2009
- 872 SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World's Poultry Science**
873 **Journal**, v. 57, p. 415–427, 2001.
- 874
875 SKLAN, D. Fat and carbohydrate use in posthatch chicks. **Poultry Science**, v.82,
876 p.117–122, 2003.
- 877
878 SULISTIYANTO, B.; AKIBA, Y.; SATO, K. Energy utilisation of carbohydrate, fat
879 and protein sources in newly hatched broiler chicks. **British Poultry Science**, v. 40,
880 p. 653–659, 1999.
- 881
882 TEIXEIRA, B. B.; EUCLYDESI, R. F.; TEIXEIRA, R. B. et al. Herdabilidade de
883 características de produção e postura em matrizes de codornas de corte. **Ciência**
884 **Rural**, v. 43, p. 361-365.
- 885
886 UNI, Z. Functional development of the small intestine in domestic birds: cellular and
887 molecular aspects. **Poultry and Avian Biology Reviews**, v. 10, p. 167-179, 1999.
- 888
889 UNI, Z.; FERKET, R.P. Methods for early nutrition and their potential. **Poultry**
890 **Science**, v. 60, p. 101-111, 2004.

- 891
892 UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch changes in morphology and function of the
893 small intestines in heavy and light strain chicks. **Poultry Science**, v. 74, p. 1622-
894 1629, 1995.
- 895
896 UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Developmental parameters of the small intestines in
897 heavy and light strain chicks preand post-hatch. **British Poultry Science**, v. 36, p.
898 63–71, 1996.
- 899
900 UNI, Z.; GANOT, S; SKLAN, D. Post-hatch development of mucosal function in the
901 broiler small intestine. **Poultry Science**, v. 77, p. 75-82, 1998.
- 902
903 UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development of small intestinal function in
904 the poult. **Poultry Science**, v. 78, p. 215-222, 1999.
- 905
906 UNI, Z. , ZAIGER, G.; GAL-GARBER , O. et al. Vitamin A deficiency interferes with
907 proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. **British**
908 **Poultry Science**, v. 41, p. 410-415, 2000.
- 909
910 UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre- and posthatch development of goblet Cells
911 in the broiler small Intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v.
82, p. 320-327, 2003.
- 912
913 VIEIRA, S. L. Carboidratos: Digestão e Absorção. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.;
914 GONZALES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. Ed.
915 Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 125-133, 2002.
- 916
917 YAMAUCHI, K. E.; ISSHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the
918 intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days
919 of age. **British Poultry Science**, v. 32, p. 67-78, 1991.
- 920
921