



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

AMANA FERNANDES MAIA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA EM CODORNAS DE POSTURA
COM DIETA CONTENDO SUPERDOSAGEM DE FITASE SOB DIFERENTES
CONDIÇÕES TÉRMICAS**

AREIA

2023

AMANA FERNANDES MAIA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA EM CODORNAS DE POSTURA
COM DIETA CONTENDO SUPERDOSAGEM DE FITASE SOB DIFERENTES
CONDIÇÕES TÉRMICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra.

Coorientador: Profa. Dra. Felisbina Luisa Pereira Guedes Queiroga.

AREIA

2023

M217a Maia, Amana Fernandes.

Avaliação hematológica e bioquímica em codornas de postura com dieta contendo superdosagem de fitase sob diferentes condições térmicas / Amana Fernandes Maia. - Areia: UFPB/CCA, 2023.

119 f. : il.

Orientação: Ricardo Romão Guerra.

Coorientação: Felisbina Luisa P. Guedes Queiroga.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Ambiente térmico. 3. Coturnicultura. 4. Patologia clínica. I. Guerra, Ricardo Romão. II. Queiroga, Felisbina Luisa Pereira Guedes. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)



AMANA FERNANDES MAIA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA EM CODORNAS DE POSTURA
COM DIETA CONTENDO SUPERDOSAGEM DE FITASE SOB DIFERENTES
CONDIÇÕES TÉRMICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 14/07/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Orientador

Assinado por: **Ana Cristina Silvestre Ferreira**
Num. de identificação: BI08484493
Data: 2023.07.21 11:28:11 +0100

PROF^a. DRA. ANA CRISTINA SILVESTRE FERREIRA

Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro - UTAD

Examinadora

PROF^a. DRA. PATRÍCIA ARAÚJO BRANDÃO

Universidade Federal de Campina Grande – UFCG **Examinadora**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

AMANA FERNANDES MAIA – Nascida em Recife, estado de Pernambuco, em 13 de agosto de 1985. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Campina Grande (2020). No ano de 2021 ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, sob orientação do professor Dr. Ricardo Romão Guerra e coorientação da professora Dra. Felisbina Luisa Pereira Guedes Queiroga e desenvolveu sua pesquisa na área de Patologia Clínica Veterinária.

Dedico a minha família, que esteve sempre ao meu lado e que sonham meus sonhos junto comigo.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar força, saúde e determinação para encarar essa caminhada, e principalmente por colocar pessoas tão especiais no meu caminho.

Aos animais, em nome dos meus filhos de quatro patas João Lucas, Snow, Preto (in memoriam) e Belinha (in memoriam), agradeço por tudo que me ensinaram sobre o amor, pureza, lealdade e companheirismo, por serem e terem sido tão generosos comigo.

À minha mãe, Regina, minha completa gratidão por tudo que me proporcionou, e por sempre ter me dado a oportunidade de deixar o cais sabendo que tenho sempre um porto seguro se for preciso retornar.

À minha filha, Maria Clara, por ser minha companheira em todas as situações, por estar sempre aberta a novas experiências, por aceitar explorar o mundo ao meu lado e principalmente por ser compreensiva diante das dificuldades.

À minha avó, Maria Maia (in memoriam), que sempre esteve comigo. Sua história de vida é uma inspiração para mim, fazendo com que eu nunca desista dos meus sonhos, obrigada por ter sido a grande base sólida dessa família. Te amo sempre e para sempre!

Aos meus pais, Thorsten, por ser exemplo de honestidade, integridade moral, carinho e por fazer de tudo para tornar meus sonhos realidade, provando que o sangue não nos diz absolutamente nada, e Valdir, por me ensinar sobre amor ao próximo, compaixão e fortalecimento espiritual, fazendo com que a cada dia eu me torne uma pessoa melhor.

Ao professor Ricardo Guerra por ter aceito me orientar, minha gratidão, por toda paciência, apoio e por ter tornando possível a realização desse sonho.

À professora Felisbina Queiroga, minha coorientadora, pela disponibilidade, confiança, comprometimento, seriedade e acolhimento. Não sei mensurar o prazer de ter a oportunidade de trabalhar com a senhora. Obrigado por tudo!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em especial a pessoa do professor Edilson Saraiva, pelo acolhimento, orientação e colaboração para que minhas amostras chegassem até Portugal, estendo o meu agradecimento aos funcionários do programa.

À Tânia Dinis, por todos os ensinamentos, paciência, por toda ajuda no processo de análise das amostras e pela amizade e conversas, além de todo apoio na nossa chegada a Portugal.

Aos veterinários da Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, Dr. Luis Sousa e Dr. Roberto Sargo, por terem me auxiliado e tirado minhas dúvidas sempre que precisei com toda atenção e presteza.

Aos meus amigos, Arthur Luís e Maria Isabelly, por todo companheirismo, por terem segurado a barra nos dias difíceis e por terem tornado meus dias em Areia mais leves, não sei como teria sido sem vocês junto comigo. Obrigada por se fazerem presente sempre e por continuarem ao meu lado mesmo fisicamente separados, além de todo suporte com a escrita da minha dissertação.

Às minhas amigas e por muito tempo companheiras de trabalho, Mikaelle Castro e Jacira Marcia, por todo apoio, todo amor, por acreditarem e torcerem por mim. Principalmente por estarem comigo mesmo fisicamente tão distantes.

À Joana Ramalho que foi minha companheira de muitos dias no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UTAD (LPC-HVUTAD), a todo carinho, conversa e tudo que pude aprender contigo. À Grasiene Silva, pelo companheirismo, amizade, por partilhar tantas coisas boas, por ter sido um ponto de apoio longe de casa e principalmente pela ajuda no processamento das minhas amostras.

À minha eterna 2015.1 turma de formação a quem levo sempre no coração, nada disso seria igual sem eles.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN), em especial na pessoa de Jozênio, pela disponibilidade, profissionalismo e por ajudar com todas as questões burocráticas.

A Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, na pessoa do reitor Emídio Ferreira dos Santos Gomes, por ter me autorizado a estar desenvolvendo parte das

análises do meu trabalho no Hospital veterinário da instituição bem como a Direção do HVUTAD, na pessoa do seu Diretor, doutor Filipe Silva.

À banca, nas pessoas da professora doutora Ana Cristina Silvestre Ferreira por ter aceitado fazer parte da banca deste trabalho e por toda contribuição, bem como pela forma calorosa e amiga como me recebeu na qualidade de Diretora do LPC-HVUTAD e a professora Patrícia Araújo Brandão por ter aceitado o convite com a maior presteza, por ter contribuído diretamente com a minha formação acadêmica e por todo aporte com a correção da minha dissertação.

A todos os funcionários da UFPB-Campus II Areia, que nos dão suporte importante e necessário no desenvolvimento de nossas atividades, além de fazerem por muitas vezes papéis de amigos, agradecendo em especial a Sr. Josa, Sr. Ramalho do setor de avicultura por toda ajuda, orientação e boas conversas.

A todos que, minimamente, tenham contribuído direta ou indiretamente para a realização desse experimento, o mais sincero agradecimento.

Agradeço ao Capes - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil, pois o presente trabalho foi realizado com o apoio desta instituição através do financiamento da bolsa de estudos.

“Chegará um dia no qual os homens conhecerão o íntimo dos animais, e nesse dia, um crime contra um animal será considerado crime contra a humanidade.”

Leonardo Da Vinci

RESUMO

Objetivou-se com esse estudo, estabelecer os melhores níveis de fitase na dieta em diferentes temperaturas para as codornas de postura (42 dias) da linhagem (*Coturnix japônica*). A fitase tem sido utilizada na alimentação de aves domésticas como forma de aumentar a disponibilidade de minerais, como o cálcio e o fósforo que estão presentes nas moléculas de fitato dos grãos. A temperatura é outro fator de grande importância para o crescimento, desenvolvimento e produtividade das codornas, sendo o estresse térmico um obstáculo para a maximização da produção de aves poedeiras. As amostras deste estudo foram processadas logo após a coleta para os parâmetros hematológicos e confecção dos esfregaços sanguíneos; centrifugadas para obtenção do soro para o estudo bioquímico. Foram utilizados cinco grupos, com 8 animais, para cada temperatura, onde continha um grupo controle e quatro grupos com níveis diferentes de fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000FTU/Kg). Avaliou-se os seguintes parâmetros para hematologia: Hematócritos, Leucócitos, Hemoglobinas, Eritrócitos, Plaquetas, Heterófilos, Linfócitos, Eosinófilos, Basófilos, Monócitos e Neutrófilos, e a relação (H:L). Para avaliação bioquímica foram utilizados os seguintes parâmetros: GGT, ALT, AST, Fosfatase Alcalina, Fósforo, Cálcio, Ureia, CK e Ácido úrico. Resultados: a adição da enzima fitase nos níveis 1500FTU e 3000FTU proporcionaram melhores resultados em relação a concentração sanguínea de Ca e P, contribuiu para que a produtividade fosse mantida, auxiliando assim o organismo a se manter estável. No que diz respeito as enzimas hepáticas e renais houve um aumento da ureia relevante no quarto ciclo de postura e com destaque para inclusão de fitase 3000FTU no ambiente 36°C, assim como também houve um aumento da fosfatase alcalina, com número mais elevado na dieta contendo 1000FTU de fitase no ambiente 24°C. Os resultados de cálcio, esses se mantiveram todos a baixo dos valores de referências para aves, assim como o fósforo, exceto nas inclusões de 1500 e 3000FTU no ambiente de 36°C no quarto ciclo. Concluindo-se que os melhores resultados foram encontrados no ambiente de 30°C com inclusão de 1500 e 3000FTU na dieta, quanto a alterações renais e hepáticas, faz-se necessários estudos mais específicos.

Palavras-Chave: ambiente térmico; coturnicultura; patologia clínica.

ABSTRACT

The objective of this study was to establish the best levels of phytase in the diet at different temperatures for laying quails (42 days) of the lineage (*Coturnix japonica*). Phytase has been used in poultry feed as a way to increase the availability of minerals, such as calcium and phosphorus, which are present in grain phytate indications. Temperature is another factor of great importance for the growth, development and productivity of quails, with thermal stress being an obstacle to maximizing the production of laying hens. Samples from this study were processed shortly after collection for hematological parameters and blood tissue preparation; centrifuged to obtain serum for the biochemical study. Five groups were used, with 8 animals, for each temperature, which contained a control group and four groups with different levels of phytase (0, 500, 1000, 1500 and 3000FTU/Kg). The following parameters for hematology should be measured: Hematocrits, Leukocytes, Hemoglobins, Erythrocytes, Platelets, Heterophils, Lymphocytes, Eosinophils, Basophils, Monocytes and Neutrophils, and the Heterophil:Lymphocyte (H:L) ratio. For biochemical evaluation, the following parameters were used: GGT, ALT, AST, Alkaline Phosphatase, Phosphorus, Calcium, Urea, CK and Uric Acid. Results: the addition of the enzyme phytase at levels 1500FTU and 3000FTU provided better results in relation to the blood concentration of Ca and P, contributing to the flow being maintained, thus helping the organism to remain stable. With regard to liver and kidney enzymes, there was a relevant increase in urea in the fourth laying cycle, with emphasis on the inclusion of phytase 3000FTU in the 36°C environment, as well as an increase in alkaline phosphatase, with a higher number in the diet containing 1000FTU of phytase in the 24°C environment. As for the calcium results, they all remained below the reference values for birds, as well as phosphorus, except for the inclusions of 1500 and 3000FTU in the 36°C environment in the fourth cycle. Concluding that the best results were found in the environment of 30°C with the inclusion of 1500 and 3000FTU in the diet, regarding renal and hepatic alterations, more specific studies are carried out.

Keywords: thermal environment; coturniculture; clinical pathology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Relação heterófilo:linfócito de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 36°C.....44
- Figura 2.** Níveis de ALT de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 36°C.....53
- Figura 3.** Níveis de ácido úrico de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase.....56
- Figura 4.** Níveis de fósforo de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 24°C.....60

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Dietas experimentais, contendo cinco níveis de Fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000 FTU/kg) e redução nos níveis de fósforo e cálcio levando em consideração a matriz de 500 FTU da enzima, para codornas japonesas na fase de postura.....37
- Tabela 2.** Valores de referência de codornas japonesas sob diferentes temperaturas, referência calculada com as aves dos grupos controles sem fitase.....40
- Tabela 3.** Leucócitos (LEU), Eritrócitos e hemoglobina (HG) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....42
- Tabela 4.** Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Basófilos (BASO), Monócitos (MONO), e relação heterófilo:linfócito (H:L), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....46
- Tabela 5.** Valores médios de espessura de casca (EC), Produção total de ovos (PRO), Gravidade específica (GE) e Conversão por dúzia de ovos (CADZ), de codornas japonesas alimentadas com doses de fitase e submetidas a três temperaturas diferentes.....45
- Tabela 6.** Hematócritos (HT), Plaquetas (PLQ) e Neutrófilos (NEU) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....46
- Tabela 7.** Hematócritos (HT), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura..48
- Tabela 8.** Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Monócitos (MONO) e relação heterófilo:linfócito (H:L), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.....49

Tabela 9. Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Basófilos (BASO) e Neutrófilos (NEU) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.....	50
Tabela 10. Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST) e Fosfatase alcalina (FA) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....	52
Tabela 11. Fósforo (P); Cálcio (Ca); Ureia (URE) e Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....	55
Tabela 12. Gama Glutamil Transferase (GGT) e Creatinoquinase (CK) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.....	57
Tabela 13. Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.....	58
Tabela 14. Peso de Fígado (PF) relativo ao segundo e quarto ciclos de postura, de codornas japonesas alimentadas com doses de fitase e submetidas a três temperaturas diferentes (24.30 e 36°C).....	59
Tabela 15. Fósforo (P); Cálcio (Ca); Uréia (URE) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.....	61
Tabela 16. Aspartato aminotransferase (AST); Gama Glutamil Transferase (GGT); Creatinoquinase (CK); Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AU	Ácido úrico
BASO	Basófilo
Ca	Cálcio
CK	Creatinina quinase
EC	Espessura de casca
EOS	Eosinófilo
FA	Fosfatase alcalina
Fit	Fitase
GGT	Gama glutamiltransferase
H:L	Relação heterófilo/linfócito
HET	Heterófilo
HG	Hemoglobina
HT	Hematócrito
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LEU	Leucócitos
LYM	Linfócitos
MONO	Monócitos
NEU	Neutrófilos
P	Fósforo
Parâm	Parâmetro
PF	Peso do fígado
PLQ	Plaquetas
PRO	Produção total de ovos
Temp	Temperatura
URE	Ureia

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	17
CAPÍTULO I.....	18
1.INTRODUÇÃO	18
2.REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 FISIOLOGIA DA TERMORREGULAÇÃO.....	20
2.2 CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO	21
2.3HEMATOLOGIA EM AVES	23
2.4 RELAÇÃO HETEROFILO/LINFÓCITO.....	24
2.5 MARCADORES BIOQUÍMICOS.....	25
2.6 Renais.....	25
2.6.1 Ácido úrico	25
2.6.2 Ureia	26
2.7 Hepáticos.....	27
2.7.3 Creatinina quinase (CK).....	28
2.7.4 Gama glutamiltransferase (GGT).....	28
2.7.5 Fosfatase alcalina (FA).....	29
2.8 MINERAIS NA DIETA DE CODORNAS DE POSTURA	29
2.9 FÓSFORO.....	30
2.10 CÁLCIO	31
2.11 FITASE	31
3.METODOLOGIA	32
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3 CAPÍTULO I – HEMATOLOGICAL EVALUATION IN LAYING QUAIL WITH	59
4 CAPÍTULO I – BIOCHEMICAL EVALUATION IN LAYING QUAILS WITH	86
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
REFERÊNCIAS.....	112

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A coturnicultura tem se destacado como meio de produção rentável e tem se destacado dentro do setor produtivo, devido modernização da criação, ao potencial produtivo das aves e baixa exigência, como por exemplo em relação espaço de criação e por apresentarem maturidade sexual precoce, o que implica no rápido retorno financeiro. Contudo, o uso da fitase tem ganhado espaço entre as pesquisas devido a necessidade de baixar os custos dos minerais na ração, e assim ter um melhor aproveitamento com redução dos custos finais dos produtores. A fitase é uma enzima exógena que atua aumentando o aproveitamento dos minerais presentes na ração, além de atuar na melhora de ganho de peso e na digestibilidade de aminoácidos. O presente estudo teve como objetivos, estabelecer qual o nível ideal de fitase na dieta, definir qual a temperatura ideal para as codornas de postura a partir da avaliação hematológica e bioquímica, analisar possíveis alterações nos níveis de cálcio e fósforo e identificar possíveis alterações renais e hepáticas através dos marcadores bioquímicos. Sendo para tanto, o estudo realizado em três câmaras bioclimáticas, com ajustes que permitiram obter e manter constantes as temperaturas avaliadas, de 24, 30 e 36°C. Foram realizadas duas coletas de sangue para realização das análises propostas e ainda foram determinados os valores de referência para as aves sob as diferentes temperaturas. Foi avaliado também o desempenho e bem-estar das codornas.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a coturnicultura tem vivido uma nova fase, o amadorismo tem sido superado e dessa maneira está havendo uma solidificação da forma industrial de criação (LEANDRO et al., 2005). De acordo com dados do IBGE, em 2019, independente da finalidade de produção, o efetivo de codornas no Brasil foi de 17,4 milhões de animais, apresentando um aumento de 3,6% em relação a 2018. É notória a sua expansão devido a alguns fatores como o potencial das codornas para a produção de ovos, pequena exigência de espaço, baixo consumo de ração, maturidade sexual precoce, curto ciclo de produção, grande resistência a enfermidades, baixo custo inicial e o rápido retorno do capital (MOTA, 2013).

Na produção, as variáveis ambientais são de grande importância, pois a temperatura e umidade relativa do ar podem interferir de forma direta no desempenho produtivo e no bem-estar das aves. Dessa maneira o estresse provocado pelo desconforto térmico leva ao aumento dos níveis de corticosterona circulante, que irá atuar suprimindo a imunidade humoral e alterando também os valores de leucócitos circulantes em aves, ocasionando alterações na resistência a doenças e queda no crescimento e na produção de ovos (ONBASILAR, 2005).

No que diz respeito ao bem-estar, as alterações podem levar as aves a responderem com mudanças ao nível fisiológico, como a elevação da taxa cardíaca, a alta liberação de corticosterona, assim como de catecolaminas, anormalidades da adrenal e imunossupressão (NORDI et al., 2007). De acordo com MAXWELL (1993) e BORGES et al. (2003), o sistema sanguíneo é particularmente sensível às mudanças de temperatura e é considerado um importante indicador das respostas fisiológicas das aves a agentes causadores de estresse. Podem ser observadas alterações quantitativas e morfológicas nas células sanguíneas, apresentando variação nos valores de hematócrito, leucócito circulante, eritrócito e hemoglobina. A relação entre heterófilo:linfócito é um parâmetro muito eficiente para medir o grau de bem-estar em aves (GROSS & SIEGEL, 1983). Essa relação é alterada como consequência do aumento de heterófilo e diminuição de linfócito, e tem sido proposta como um índice sensível ao estresse em aves (MAXWELL, 1993; BORGES, 1997, 2001). Quando a relação H:L esta aumentada é um indicativo de estresse nas aves, e ao contrario quando está diminuída ou normal significa que as aves estão bem

adaptadas e sem incidência de estresse no organismo, e esse tem sido um parâmetro muito utilizado para essa mensuração.

Outro fator importante é a nutrição, tendo em vista que é a parte que afeta diretamente os custos de produção, devido a ração para codornas conterem mais proteína, cálcio e fósforo em sua composição do que as rações para frangos e poedeiras (SILVA et al., 2012). Sendo o fósforo o componente da ração de maior custo depois da proteína e energia (BÜNZEN et al., 2008), e também por se tratar de uma fonte não renovável e de alto poder poluente (SILVA et al., 2008b; MOREIRA et al., 2009; BORGATTI et al., 2009).

Assim, o uso da enzima fitase atua aumentando a disponibilidade do cálcio e fósforo presente nas moléculas de fitato dos grãos e dessa maneira realizar a redução do uso de cálcio e fosforo na ração, ajudando diretamente na redução de custos ao produtor (CROMWELL, 1979; CORLEY et al., 1980). Os estudos acerca desse assunto visam redução dos níveis de suplementação com fontes inorgânicas e o aumento do aproveitamento do fósforo presente nos vegetais (TORRES, 2003).

O cálcio e o fósforo, são nutrientes importantes para o desenvolvimento ósseo dos animais e o fornecimento desses minerais assegura a boa qualidade de estrutura óssea. Para os animais com habilidade de postura, são também imprescindíveis para a qualidade da casca dos ovos (CABRAL et al., 1999).

Diante disso, objetivou-se estabelecer qual o nível ideal de fitase na dieta, definir qual a temperatura ideal para as codornas de postura a partir da avaliação hematológica e bioquímica, analisar possíveis alterações nos níveis de cálcio e fósforo e identificar possíveis alterações renais e hepáticas através dos marcadores bioquímicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

As codornas (*Coturnix japonica*) são aves consideradas de produção que podem apresentar duas habilidades específicas, produção de carne e produção de ovos. São considerados animais endotérmicos, ou seja, tem habilidade de manter a temperatura corporal elevada e constante, mesmo diante de variações ambientais. Nas semanas iniciais de vida, as codornas necessitam de uma fonte de calor para que possam alcançar o conforto térmico e assim desenvolver suas capacidades, e

conforme as codornas crescem a necessidade de aquecimento diminui. Fato esse que ocorre devido ao desenvolvimento do sistema termorregulador associado a camada de penas que vai se formando e a partir dela ocorre o isolamento da superfície externa (ABREU, 2009).

A coturnicultura tem apresentado um desenvolvimento significativo, nos últimos anos, através da adequação de tecnologias de produção e dessa maneira a prática que era tida como de subsistência, passou a ocupar um espaço como atividade altamente qualificada e tecnicizada, entregando resultados prósperos aos investidores do setor (PASTORE et al., 2012). Com isso tem despertado um interesse dos produtores e também de pesquisadores devido as vantagens produtivas apresentadas. As codornas se destacam quanto a produtividade quando relacionamos a com outras aves, isso ocorre devido apresentar um início de postura precoce (40º dia de idade) e chega a produzir em média 300 ovos no primeiro ano de vida (MOURA, 2008).

No Brasil, a criação de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) tem apresentado destaque no crescimento nas regiões Sul e Sudeste, porém ainda há uma escassez de informações relacionadas a nutrição de codornas na literatura nacional (COSTA et al., 2012).

2.1 FISILOGIA DA TERMORREGULAÇÃO

A termorregulação é a capacidade que o organismo tem de manter sua temperatura corporal, dessa maneira o organismo utiliza-se de alguns mecanismos para exercer essa função. As aves não têm a capacidade de transpirar, devido à ausência de glândulas sudoríparas, sendo necessário utilizar mecanismos de dissipação de calor através do aumento da frequência respiratória. Essa forma é considerada a mais eficiente quando elas estão submetidas em ambientes de altas temperaturas (VIOLA et al., 2011).

No entanto, observa-se que fatores individuais como superfície corporal, cor, cobertura pilosa, emissividade, vaporização da pele e pulmão, condutividade térmica através de tecidos e fluxos periféricos, troca térmica por meio da água ingerida ou da excreta, influenciam diretamente os mecanismos de calor (FREITAS, 2021).

As codornas, assim como as demais aves, contam com mecanismos de dissipação de calor que são sensíveis, na tentativa da manutenção da homeotermia, esses mecanismos se apresentam de quatro formas que são a radiação, convecção, condução e evaporação pelo trato respiratório (FLORIANO, 2013), e para que cada uma delas seja ativada pelo organismo, e vai depender da variação de temperatura entre o animal e o ambiente. A condução é vista quando a troca de calor acontece de molécula a molécula, a convecção ocorre quando a dissipação acontece por meio da movimentação de massa de ar, a radiação quando a troca ocorre por emissão de ondas eletromagnéticas (BROSSI et al., 2008).

As altas temperaturas fazem com que a ave comece a ofegar, ou a hiperventilar para aumentar o resfriamento por evaporação. Quando a ofegação falha na prevenir da elevação da temperatura corporal, a ave fica letárgica, em seguida, em coma e morre (FLORIANO, 2013). Quando ocorre o aumento contínuo de temperaturas as aves tendem a deixar de lado os mecanismos sensíveis e utilizar a os mecanismos de dissipação latentes, onde a evaporação através do aumento da frequência respiratória são mais eficientes, desta forma ocorre um alto desgaste energético. Para que uma ave possa evaporar 1g de água é preciso que ocorra o gasto energético de aproximadamente 550 calorias, e para que ocorra esse gasto na maioria das vezes a ave precisa elevar as contrações musculares, porém o aumento das contrações musculares pode levar o animal a um quadro de hipertermia e o que pode levar o animal a óbito (RETELATTO et al., 2008).

2.2 CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO

Segundo Furlan (2006) a zona de conforto térmico, é a faixa de temperatura ambiente onde o gasto metabólico é mínimo e a homeotermia é mantida com o menor gasto energético. Segundo Sousa (2014), a zona de conforto térmico para codornas de corte encontra-se entre as seguintes temperaturas: 36 - 39 °C (primeira semana); 27 - 30 °C (segunda semana); 24 °C (terceira semana); 26 °C (quarta semana) e 25 °C (quinta semana) de vida, sendo que as temperaturas ambientais acima destes valores já acarretarão perdas produtivas devido ao estresse térmico por calor. Sendo necessário que estes animais se encontrem em sua zona de conforto térmico, para

que assim tenham condições de se manter e se reproduzir da forma adequada (NAZARENO et al., 2009).

É considerada zona de conforto térmico, a temperatura em que o animal não está exposto a temperaturas extremas, seja temperaturas altas ou baixas, tendo uma resposta ambiental positiva, onde tem seu desempenho otimizado (COSTA et al., 2012). A variação térmica pode influenciar diretamente o desempenho reprodutivo das aves, uma vez que todos os seus esforços vão se voltar para a realização da homeotermia e manutenção da vida, pois ocorre uma alteração do metabolismo e a maior parte da energia produzida é desviada para preservação do equilíbrio do seu bem-estar através do conforto térmico (SILVA et al., 2007). De acordo com Nascimento e Silva (2010) para redução da incidência de doenças metabólicas como a morte súbita e a ascite, que ocorrem quando há uma sobrecarga dos mecanismos de termorregulação, e esses não conseguem suprir as exigências cardiorrespiratórias do organismo, é preciso ter atenção as medidas de manejo, controle da temperatura ambiental, a quantidade de aves por área e as formulações nutricionais. Pois esses fatores podem atuar influenciando o aumento do estresse térmico das aves e causar uma diminuição do desempenho produtivo e reprodutivo destas.

Em altas temperaturas, as aves tendem a aumentar o consumo de água e em contrapartida reduzem o consumo de alimentos, e essa redução tem como consequência a redução do ganho de peso e da conversão alimentar (BAZIZ et al., 1996). Outra implicação do estresse por calor é na capacidade de digestão, ou seja, digestibilidade dos alimentos é reduzida, os nutrientes não são absorvidos adequadamente e o desempenho é diretamente afetado (VARGAS & MOTTA, 2007).

Já em temperaturas mais baixas o que ocorre é o inverso, uma vez que as aves tendem a aumentar o consumo alimentar, e desta maneira eleva a conversão alimentar. Em codornas o estresse térmico por calor pode levar a casos de necrose dos hepatócitos e esteatose hepática, isso ocorre devido a ação da corticosterona que aumenta a lipólise do tecido adiposo subcutâneo e estimula a lipogênese nos órgãos presentes na cavidade abdominal, causando sobrecarga hepática (MOHAMED et al., 2015). Segundo Safdari-Rostamabad et al. (2016), em frangos de corte, o estresse causado pelo excesso de calor faz com que tenham o peso do fígado diminuído e reduzida concentração das proteínas totais. O comportamento mediante as alterações de temperatura, são muito evidentes. Para que ocorra o aumento das trocas de calor com o ambiente as aves apresentam modificações de postura, as aves se agacham e

afastam as asas do corpo com o intuito de aumentar a superfície corporal e dessa maneira aumentam também o fluxo de calor, mas regiões periféricas do corpo que no geral não possuem cobertura de penas (crista, barbeta e pés) (MACARI & FURLAN, 2001).

2.3 HEMATOLOGIA EM AVES

A patologia clínica é uma importante ferramenta para o monitoramento, diagnóstico, tratamento e em casos pré-operatório, não só nas aves. Sabemos que os valores hematológicos podem ser influenciados por diversos fatores, como por exemplo, o estado nutricional das aves, o sexo, a estação do ano, o período produtivo e o estresse ambiental. No Brasil os estudos relacionados com os parâmetros hematológicos ainda são um pouco escassos, o que pode levar o clínico a realizar interpretações erradas de acordo com os resultados obtidos nos exames laboratoriais (SCHMIDT et al., 2007).

A hematologia estuda as doenças relacionadas ao sangue e aos órgãos hematopoiéticos, a partir dela que podemos ter acesso ao eritrograma, leucograma e a contagem de trombócitos (SCHMIDT et al., 2007). O eritrograma ou série vermelha é composto por: contagem total de eritrócitos (hemácias ou glóbulos vermelhos), o estabelecimento do hematócrito, a mensuração da hemoglobina e de índices hematimétricos, no leucograma ou série branca, são determinadas a contagem total de leucócitos e a contagem diferencial (SCHMIDT et al., 2007). E é através desses exames que podemos realizar um monitoramento adequado do estado de saúde geral dos animais, podemos avaliar a sua capacidade de defesa diante a diferentes agentes e sua capacidade de transportar oxigênio (VOIGHT, 2003).

Diferente dos mamíferos, as aves apresentam células sanguíneas nucleadas e esse é o principal fator que interfere na contagem automatizadas dessas células, outra particularidade das aves é em relação aos leucócitos, pois a aves apresenta uma célula leucocitária denominada de heterófilo, que tem características semelhantes aos neutrófilos nos mamíferos, e é devido a essas particularidades que é necessária a realização de contagem através de técnicas manuais (CAPITELLI & CROSTA, 2013).

Em aves a contagem do número total do eritrograma é realizada através da contagem manual, na câmara de Neubauer, para tal contagem é realizada a diluição

de parte da amostra com diluentes que contem corante, e para a contagem diferencial é realizado um esfregaço sanguíneo sem anticoagulantes (CAMPBELL, 1994). Para a determinação do hematócrito é utilizada a técnica de micro-hematócrito (ROSÁRIO et al., 2000). Para avaliação da concentração de hemoglobina é utilizada a análise espectrofotométrica com cianometahemoglobina a 540nm, a amostra precisa passar por centrifugação após a lise dos eritrócitos para retirar os núcleos livres (WAKENELL, 2010). Ainda não há na literatura valores de referência específicos para codornas, dessa maneira utiliza-se aos valores de referência para aves em geral e que são muito escassos. Os valores que são bem definidos para aves são os valores de hematócrito que variam entre 35 a 55%. Valores inferiores a 35% são indicativos de anemia, e superiores a 55% sugerem desidratação ou Policitemia (CAMPBELL, 1994). Estudos mostram que os parâmetros podem variar de acordo com o sexo e a idade das aves (SCHMIDT et al., 2007).

Dentro da hematologia a contagem de leucócitos é uma avaliação de extremamente importante para avaliação da sanidade dos animais. Parâmetros como a morfologia e o número total de leucócitos, podem sofrer variação de acordo com o sexo e a idade das aves (SCHMIDT et al., 2007). A contagem total de leucócitos é realizada em conjunto com a contagem total de eritrócitos e assim como no eritrograma a contagem diferencial se faz através da leitura do esfregaço sanguíneo sem anticoagulante e corado com os corantes hematológicos (CÂNDIDO, 2008). A leitura do esfregaço sanguíneo é muito importante para observar a morfologia celular, pois através dessa que se pode ter uma maior segurança quanto ao estado de saúde das aves. E é na contagem diferencial que se observa: os heterófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos, avaliação dos trombócitos também é realizada através do esfregaço (CÂNDIDO, 2008).

2.4 RELAÇÃO HETEROFILO/LINFÓCITO

Os heterófilos são a segunda classe celular mais numerosa na grande maioria das aves, e seu aumento na circulação está diretamente ligado a episódios de estresse. Uma vez que a relação heterofilo/linfócito é alterada, e como consequência ocorre o aumento dos heterofilos e a diminuição dos linfócitos, esta relação tem sido proposta como um índice de mensuração muito sensível do estresse em aves

(MAXWELL, 1993; BORGES, 1997, 2001). Em galinhas, a relação heterofilo/linfócito tem sido um eficiente parâmetro na mensuração do grau de bem-estar (GROSS & SIEGEL, 1983). Há uma classificação da relação heterofilo/linfócito que varia de 0,2 a 0,8, onde 0,2 indica um grau leve de estresse, o 0,5 indica um estresse de intermediário a moderado e valores de 0,8 ou superiores indicam alto nível de estresse (GROSS & SIEGEL, 1983).

2.5 MARCADORES BIOQUÍMICOS

Os valores do intervalo de referência, ainda não estão bem definidos para muitos parâmetros e espécies (DONELEY, 2015; TANG et al., 2013). Para codornas não há valores de referência determinados, há alguns estudos onde há uma média de valores, contudo esses estudos foram realizados em condições específicas. E dessa forma não devem ser usados como valor de referência para o presente estudo.

Havendo muitos fatores que podem influenciar: como o laboratório, o anticoagulante, o aparelho e a técnica utilizados, a região geográfica de procedência dos animais, as condições climáticas, a estação do ano, a idade e a alimentação, entre outros. Por tanto é usual que esses valores variem de acordo com a experiência clínica de cada profissional. E é importante que se realize um banco de dados com os resultados de amostras dos animais saudáveis que são atendidos por motivos não patológicos (THRALL et al., 2004).

2.6 RENAIIS

2.6.1 ÁCIDO ÚRICO

A principal forma de excreção de componentes nitrogenados nas aves é o ácido úrico (HOCHLEITHNER, 1994; THRALL et al., 2004). Cerca de 80% a 90% do ácido úrico, em aves saudáveis é secretado de forma ativa nos túbulos contornados proximais (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Como apresenta um mecanismo de secreção ativa, não há interferência em casos de desidratação, exceto os casos graves nos quais a baixa taxa de filtração glomerular interrompe a circulação do ácido úrico através dos túbulos (HARR, 2002; CAPITELLI & CROSTA, 2013).

Em aves carnívoras, os valores de referência para o ácido úrico são mais altos, assim como na ocasião pós-prandial (HARR, 2002; THRALL et al., 2004). As concentrações dele podem variar de acordo com a idade e o tipo de alimentação, então no geral as aves mais jovens apresentam valores menores do que as adultas (HOCHLEITHNER, 1994; ALONSO-ALVEREZ, 2005; CAPITELLI & CROSTA, 2013). A capacidade compensatória em relação aos problemas renais pode variar entre as espécies, e seu aumento é evidente quando há um comprometimento superior a 70%, apresentando concentrações superiores a 15 mg/dL (HOCHLEITHNER, 1994).

Em casos de restrição alimentar, onde ocorre uma mobilização de reservas, essa mudança no catabolismo de proteínas estruturais, foram relacionadas com a elevação dos níveis de ácido úrico (RAJMAN et al., 2006). Alguns animais podem apresentar valores normais mesmo havendo um comprometimento renal. Um exemplo são as aves que apresentam poliúria ou polidipsia com nefropatia, podem ter um aumento na filtração da urina fazendo com que a capacidade secretora esteja diminuída (CAPITELLI & CROSTA, 2013). A presença de hipouricemia em aves é muito raro e podem estar ligados diretamente a danos hepáticos severos e com isso a ave pode apresentar uma diminuição na produção de ácido úrico, porém havendo um problema hepático e renal em conjunto os valores de ácido úrico podem estar dentro dos valores normais para a espécie (HOCHLEITHNER, 1994).

2.6.2 UREIA

A ureia tem origem no catabolismo de proteínas que são produzidas no fígado e que são excretadas através da filtração glomerular. Quando o animal se encontra em estados de hidratação normais a reabsorção da ureia pelos túbulos pode ser considerada nula, e conseqüentemente seus níveis sanguíneos são muito baixos, algumas vezes nem são detectados em testes laboratoriais. Contudo quando o animal se encontra em estado de desidratação, a ureia é reabsorvida quase que na sua totalidade. Quanto aos valores de referência eles variam entre aves não carnívoras (5 mg/dL) e carnívoras (10 mg/dL) (HOCHLEITHNER, 1994; HARR, 2002; THRALL et al., 2004; CAPITELLI & CROSTA, 2013). Seus valores são melhores avaliados em conjunto com o ácido úrico, e através destes valores obtendo uma razão, o que vai permitir a diferenciação entre desidratação, patologias renais e efeitos pós-prandiais, sendo dessa maneira um indicador da taxa de filtração glomerular. E esta razão vai

se apresentar aumentada em casos de falha renal com filtração reduzida (THRALL et al., 2004; CAPITELLI & CROSTA, 2013).

2.7 HEPÁTICOS

2.7.1 ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT)

Nas aves, a enzima ALT está presente predominantemente no citosol dos hepatócitos, assim como das células musculares (HARR, 2002; JAENSCH, 2000). A impossibilidade de monitorar as reações desta enzima faz com que o seu método de análise se baseie no acoplamento de reações catalizadas por desidrogenases (HOCHLEITHNER, 1994). Podem ocorrer falsas elevações de ALT quando há hemólise, pois essa enzima tem uma elevada atividade nas hemácias (LEARD et al., 1990). Comumente as taxas elevadas de ALT são relacionadas à lesão hepática ou muscular (HARR et al., 2002; GRUNKEMEYER, 2010). Nas aves a ALT tem atividade em múltiplos tecidos e dessa forma a sua elevação pode ser de difícil interpretação (JAENSCH, 2000; GRUNKEMEYER, 2010). A ALT na maior parte das espécies de aves apresenta valores reduzidos quando comparada a outras, com valores séricos variando de 19 a 50 U I /L (LUMEIJ, 2008; CAMPBELL, 1994).

2.7.2 ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)

A atividade do AST está presente em alguns tecidos, porém os que mais se destacam são o fígado e o músculo (GRUNKEMEYER, 2010; CAPITELLI & CROSTA, 2013). A AST assim como a ALT tem função de catalizar a transaminação de L-aspartato e 2-oxoglutarato a oxalacetato e glutamato e, como na ALT, também precisa do cofator PP para atuar (EVANS, 1996). E por se assemelhar a ALT, tem seus métodos de determinação parecidos, onde são utilizadas reações acopladas (HOCHLEITHNER, 1994). A AST não é um marcador específico para dano hepatocelular nem para lesões a nível muscular, porém nos psitacídeos, ela se apresenta sempre aumentada quando há dano hepático de qualquer que seja a etiologia (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Sobretudo quando analisada em conjunto com outros testes, como por exemplo a creatinina quinase, que pode apresentar informações relevantes e auxiliar na diferenciação entre um dano hepático e um dano

muscular (JAENSCH, 2000; GRUNKEMEYER, 2010). De maneira geral, nas aves a atividade normal da AST é inferior a 275 UI/L (THRALL et al., 2004).

2.7.3 CREATININA QUINASE (CK)

Na musculatura a CK catalisa a conversão de ATP e a creatina, para creatina fosforilada, que serve como fosfato de alta energia para a atividade muscular (RAJMAN et al., 2006). Os valores normais de CK variam de 100 a 500 UI/L. Especialmente em aves de rapina, quando ocorre estresse devido a atividade muscular durante a contenção para coleta, pode fazer com que haja uma elevação dos valores da CK (THRALL et al., 2004). A CK é importante na determinação da interpretação da atividade da AST, definindo se é um dano de aspecto muscular ou hepatocelular. Porém não pode ser descartada a hipótese do animal apresentar dano muscular conjuntamente com o hepatocelular preexistente. A CK pode apresentar variabilidade decorrente de causas fisiológicas, apesar disso ela não é afetada por gênero ou idade das aves (HOCHLEITHNER, 1994).

2.7.4 Gama glutamiltransferase (GGT)

A GGT em aves é específica dos epitélios biliar e renal, da mesma maneira que ocorre em cães e gatos (HARR, 2002; GRUNKEMEYER, 2010). A GGT tem como função catalisar a transferência de grupos gamma-carboxila do glutamato até um peptídeo (GONÇALVES et al., 2013). Os valores de referência podem variar dependendo do autor, para os papagaios pertencente ao gênero Amazona, em condições normais, o valor de GGT elevado varia de 10 a 16 U/L (HARR, 2002). Já em muitas outras espécies de aves, saudas, está enzima pode ter atividade abaixo dos níveis de sensibilidade de muitos testes (HOCHLEITHNER, 1994). Embora a GGT seja considerada um marcador com pouca sensibilidade e inconsistente quando se fala em doença hepática nas aves, foi verificada atividade no plasma na maioria dos pombos aos quais tiveram danos hepáticos induzidos (HARR, 2002). Os valores de GGT variam de 0 a 10 UI/L, em animais saudáveis, e esses valores de referência podem variar dependendo da metodologia utilizada (LUMEIJ, 2008).

2.7.5 Fosfatase alcalina (FA)

A comparação de resultados entre laboratórios é difícil, pois existem muitos métodos para se realizar a determinação da atividade desta enzima (HOCHLEITHNER, 1994). Sua função está diretamente relacionada ao fornecimento de energia para troca de íons através das membranas celulares (HOCHLEITHNER, 1994). Sua função está associada com o metabolismo do cálcio e do fósforo, e a FA pode ser o ponto chave para a regulação do crescimento das aves, pois tem participação nas atividades dos condrócitos e dos osteoblastos (RAJMAN et al., 2006). Os maiores níveis são observados na atividade dos osteoblastos (ALONSO-ALVAREZ, 2005). Os níveis de FA encontradas no fígado de algumas espécies de aves são muito baixas (RAJMAN et al., 2006), porém alguns autores citam as doenças hepáticas como causa do aumento dos níveis de FA (HOCHLEITHNER, 1994).

2.8 MINERAIS NA DIETA DE CODORNAS DE POSTURA

Os minerais estão presentes na composição corporal das aves, representando de 3 a 4% do peso vivo delas (BERTECHINI, 2012), os mesmos estão envolvidos em algumas vias metabólicas e exercem funções relacionadas ao crescimento e a reprodução. E a importância dos minerais vai além da manutenção da vida, pois aparece diretamente ligado ao crescimento da produtividade do animal (PINTO et al., 2012). Os minerais são divididos em micro e macrominerais, possuem diversas funções e muitas vezes podem apresentar mais de uma função e seu consumo excessivo pode desencadear toxicidade (BÉRTOLI, 2010).

Os microminerais são: ferro (indispensável para a constituição da hemoglobina), cobre (essencial na hematopoese), cobalto (geralmente é encontrado ligado às proteínas), iodo (a sua função está ligada ao hormônio da tireoide), manganês (essencial para o desenvolvimento da matriz orgânica do osso), zinco (envolvido nos processos de crescimento e desenvolvimento, reprodução, imunidade, proteção, antioxidante e estabilidade das membranas), selênio (carência resulta no retardamento do crescimento), molibdênio (participa de vários complexos enzimáticos

e atua no catabolismo das bases púricas) e flúor (apresenta funções inibidoras sobre ações enzimáticas) (ANDRIGUETTO et al., 1990).

Os macrominerais são: cálcio, fósforo, potássio (atua na regulação da pressão osmótica e no balanço ácido-base, na condução dos impulsos nervosos e na excitabilidade muscular), magnésio (exerce função estrutural), sódio (importante na regulação do equilíbrio ácido-base e na regulação da pressão osmótica do organismo), cloro (desempenha o papel fundamental na manutenção da homeostasia eletroquímica) e enxofre (importante para os hormônios que são sintetizados pela metionina) (ANDRIGUETTO et al., 1990; MORRISON, 1966).

2.9 FÓSFORO

O fósforo está presente nos ossos como um dos seus maiores constituintes, além disso tem uma importância relevante em relação ao armazenamento e liberação de energia, assim como no metabolismo ácido básico (HOCHLEITHNER, 1994). A excreção renal é a principal forma de regulação da concentração de fósforo nas aves, variando de 5 a 7 g/L, em condições normais (THRALL et al., 2004). É comum animais mais jovens apresentarem valores de fósforo superiores em relação aos adultos (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Outro fator que pode elevar os níveis de fósforo no organismo das aves é a dieta em que as sementes são utilizadas de forma exclusiva. De acordo com o National Research Council (NRC) os níveis adequados de P para codornas em postura é de 2,5% de Ca e 0,4% de P, para dietas contendo 2.900 kcal EM/kg e 20% de proteína bruta.

Em fêmeas em período de postura, não foi identificada a elevação dos níveis de fósforo, ao contrário do que acontece com o cálcio (HOCHLEITHNER, 1994). Fósforo e cálcio não são dependentes um do outro, porém a ausência ou o excesso de um deles pode prejudicar diretamente a utilização ou absorção do outro (DUNBAR et al., 2005). A elevação dos níveis de fósforo, hiperfosfatemia, pode estar relacionado com artefato de análise, pelo fato de que a hemólise e a não separação dos componentes celulares pode fazer com que ocorra a liberação de fósforo intracelular (CAPITELLI & CROSTA, 2013). De maneira geral o valor deste parâmetro é baixo, e podem ser muitas as causas da sua variação (HOCHLEITHNER, 1994).

2.10 CÁLCIO

O cálcio é um mineral presente em grande quantidade no corpo, está presente na formação dos ossos e das cascas dos ovos e é importante para muitas reações bioquímicas do corpo (DE MATOS, 2008). Em aves, os níveis de cálcio podem atingir valores superiores aos dos mamíferos, em condições normais pode chegar a 30 g/L (THRALL et al., 2004). O aumento dos níveis de cálcio está ligado a fase reprodutiva das fêmeas, que é a fase em que o cálcio é transportado para o ovário através do estímulo dos estrógenos (HARR, 2002; DUNBAR et al., 2005). A diminuição do cálcio circulante (< 8 mg/dL) se dá devido a alguns aspectos como, falha na nutrição (deficiência de vitamina D3, excesso de fósforo na dieta), alcalose, hipoalbuminemia, anormalidades reprodutivas um exemplo dela é a postura crônica (DE MATOS, 2008; CAPITELLI & CROSTA, 2013), as terapias com glicocorticoides ou quando o animal é portador de uma forma particular de hiperparatireoidismo, onde o cálcio não é liberado de forma correta dos ossos (HOCHLEITHNER, 1994).

Segundo Silva (2009) os valores adequados de Ca para codornas de postura varia entre 2,95 a 3,20%. Já nos casos de deficiência severa de cálcio, a mobilização do cálcio é realizada com o auxílio do paratormônio, que faz com que os níveis de cálcio no organismo se mantenham dentro dos níveis mínimos (HOCHLEITHNER, 1994; DE MATOS, 2008). Um fator que pode fazer com que os níveis de cálcio diminuam nas amostras é o uso da heparina, pois ela atua quelando o cálcio, podendo reduzir os valores do cálcio iônico em 0,01 mmol/L (CASTAÑEDA, BURITICÁ-GAVIRIA & CRUZ, 2012).

2.11 FITASE

A fitase é uma enzima exógena que tem sido utilizada como forma de aumentar a disponibilidade de minerais, em especial o fósforo (JENDZA et al., 2005). Quanto a sua origem, há diversas fontes de fitase, porém do ponto de vista comercial as consideradas mais promissoras são as microbianas, podendo ser de origem bacteriana (*Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*), fúngicas (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. E *Talaromyces thermophilus*) e de leveduras (*Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha*) (PANDEY et al., 2001). É preciso entender que os aditivos enzimáticos

não tem uma função do ponto de vista nutricional, no entanto, eles atuam no processo digestivo, fazendo com que haja uma maior digestibilidade dos nutrientes que estão presentes nas dietas (CAMPESTRINI et al., 2005).

Quando a fitase não está presente na alimentação, vai haver dificuldade no aproveitamento do fósforo, e dessa maneira é necessário que se realize a suplementação inorgânica de fósforo e assim temos uma elevação do custo de produção (KIM et al., 2006). Recentes estudos esclarecem os mecanismos utilizados pela fitase para influenciar a digestibilidade de aminoácidos, energia e minerais, sendo grande parte dessas melhorias, em especial os efeitos sobre as proteínas, estando relacionado com a diminuição dos efeitos do fitato no organismo (COWIESON, 2008).

Para poedeiras a adição de fitase exógena na dieta, tem atuado na melhora do ganho de peso, na retenção de minerais e na digestibilidade dos aminoácidos (AUGSPURGER et al., 2003; COWIESON, 2008; ADEOLA, 2003). Foi observada a eficácia da fitase bacteriana com suplementações de 500, 1.000 e 2.000 FTU/kg e níveis reduzidos de P (2.2 g/kg P disponível) em experimento com frango de corte, onde concluíram que os tratamentos com fitase reduziram a quantidade de ácido fítico, assim como, diminuíram a retenção de P (OLUKOSI et al., 2013). De acordo com estudos realizados com frangos de corte que receberam uma superdosagem de fitase (1.500FTU/kg) na dieta até os 49 dias de vida, os animais obtiveram uma evolução relacionada com o crescimento, o desempenho e a taxa de conversão alimentar quando comparando com aves que receberam dietas adequadas ou com diminuição na quantidade de P (WALK et al., 2013).

3. METODOLOGIA

O experimento foi realizado nas câmaras climáticas da Unidade de Pesquisa em Bioclimatologia, Comportamento e Bem-estar Animal, do Departamento de Zootecnia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, em Areia - PB. O protocolo experimental nº 3695120121 foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Foram utilizados um total de 720 codornas japonesas em fase de produção (42 dias), distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial

5x3, foram alojadas 8 aves por gaiola e cada tratamento contou com 6 repetições. Foram inseridos cinco níveis de fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000FTU) na dieta e as codornas foram submetidas a três faixas de temperatura (24, 30 e 36°C), representando faixas de termoneutralidade e de estresse térmico. Para cada faixa de temperatura, foram analisadas 8 aves de cada um dos 15 tratamentos, totalizando 120 aves. O experimento foi dividido em cinco ciclos de 21 dias, com as codornas em fase de produção, para esta avaliação foram utilizados o segundo (aves com 84 dias) e o quarto ciclo (aves com 126 dias).

As codornas foram alojadas em três câmaras bioclimáticas, com ajustes que permitiram obter e manter as temperaturas avaliadas no estudo, 24, 30 e 36°C. As salas possuíam dimensões de 5,40 m de comprimento por 3,83 m de largura. Cada câmara contou com gaiolas de arame galvanizado, com as dimensões de 47 x 23,5 x 16 cm (comprimento x largura x altura), providas de comedouros tipo calha e bebedouros tipo “*nipple*” adequados à fase de desenvolvimento dos animais. Os comedouros foram abastecidos com as rações experimentais duas vezes ao dia, às 7:00 e às 16:00 horas. Durante o período experimental, as aves receberam ração *ad libitum*.

A temperatura das salas foi controlada por meio de aquecedores acoplados a um termostato elétrico e por meio da utilização de ar-condicionado, dotado de controle automático de temperatura. A renovação e movimentação do ar foram efetuadas por exaustores axiais de parede. As temperaturas e umidades relativas do ar, de cada ensaio experimental, foram monitoradas por termo-higrômetros digitais de máxima e mínima, pela manhã e ao final da tarde. Os sensores de temperatura foram fixados ao nível do centro de massa dos animais, caracterizando o microclima local.

As dietas foram formuladas segundo a recomendação das Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011), variando apenas a suplementação de fitase (Tabela 1). Todas as dietas foram formuladas considerando a redução nos níveis de cálcio e fósforo, avaliando o que a matriz da enzima disponibiliza com 500FTU (0,165% Ca - 0,150% P). Levando em consideração o desenho experimental, as dietas experimentais foram formuladas atendendo as recomendações sugeridas por Rostagno et al. (2011), contudo, com redução do nível de Ca e P com base na valorização enzimática da fitase avaliada na dose de 500FTU/kg, o que corresponde a 0.165% de Ca e de 0.15% de P. A dieta basal não foi suplementada com fitase. As

demais foram suplementadas com 500, 1000 e 3000FTU/kg de ração, em modo on top, em substituição ao inerte.

Tabela 1 - Dietas experimentais, contendo cinco níveis de Fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000 FTU/kg) e redução nos níveis de fósforo e cálcio levando em consideração a matriz de 500 FTU da enzima, para codornas japonesas na fase de postura

Tratamentos		T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Milho Grão - 7,88%	kg	59,720	59,720	59,720	59,720	59,720
Soja Farelo 45,22%	kg	30,518	30,518	30,518	30,518	30,518
Óleo de Soja	kg	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667
DL-Metionina	kg	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398
L-Lisina HCL	kg	0,265	0,265	0,265	0,265	0,265
L-Treonina	kg	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
Calcário	kg	7,437	7,437	7,437	7,437	7,437
Fosfato Bicálcio 18,5%	kg	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sal	kg	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345
Premix Mineral ¹	kg	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix Vitaminico ²	kg	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Colina	kg	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
Antioxidante ³	kg	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Inerte	kg	0,060	0,050	0,040	0,030	0,000
Fitase	kg	0,000	0,010	0,020	0,030	0,060
Total	kg	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
		T1	T2	T3	T4	T5
Nutrientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Fitase	FTU/kg	0	500	1000	1500	3000
Energia Metabolizável	kcal/kg	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000
Proteína Bruta	%	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000
Metionina Dig. Aves	%	0,647	0,647	0,647	0,647	0,647
Met+Cis. Dig. Aves	%	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908
Lisina Dig. Aves	%	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107
Treonina Dig. Aves	%	0,675	0,675	0,675	0,675	0,675
Triptofano Dig. Aves	%	0,207	0,207	0,207	0,207	0,207
Valina Dig. Aves	%	0,798	0,798	0,798	0,798	0,798
Cálcio	%	2,993	2,993	2,993	2,993	2,993
Fósforo Total	%	0,394	0,394	0,394	0,394	0,394
Fósforo Disponível	%	0,177	0,177	0,177	0,177	0,177
Potássio	%	0,732	0,732	0,732	0,732	0,732
Sódio	%	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Cloro	%	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319
Número de Mogin	mEq/kg	164,590	164,590	164,590	164,590	164,590

¹Premix Vitaminico (concentração/kg de produto): Vit. A - 15 mil UI, Vit. D3 - 1,500,000 UI. Vit. E - 15000; Vit.B1 - 2,0 g, Vit. B2 - 4,0 g Vit. B6 - 3,0 g, Vit. B12 - 0015 g, ácido nicotínico - 25 g, ácido pantoténico - 10 g; Vit.K3 - 3,0 g,

ácido fólico - 1.0 g; ²Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn - 60 g, Fe - 80 g, Zn - 50 g, Cu - 10 g, Co - 2 g, I - 1 g e Se - 250 mg; ³Antioxidante = BHT = 100 g/ton; Quantidade suficiente para 1000 g de veículos.

Para as coletas foi realizado um jejum de 6 horas e foram coletadas amostras de sangue (1ml), por punção da jugular com agulha de 13 x 0,4 mm, na seringa continha EDTA. As amostras foram individualmente armazenadas em tubos de ensaio para as análises hematológicas. Para a contagem e diferencial leucocitário foram utilizados esfregaços sanguíneos, que foram produzidos no momento seguinte a coleta de cada ave. Para a avaliação dos parâmetros bioquímicos foram coletadas amostras de sangue (1ml), através de punção da jugular com agulha de 13 x 0,4 mm, para essa coleta a seringa não continha anticoagulante. O sangue foi armazenado em tubo seco que após 30 minutos de descanso foram centrifugadas a 3.500 rpm durante 1 minuto para obtenção do soro, esses foram armazenados em Ependorfs e congelados para posterior análise.

As análises bioquímicas, assim como, a coloração e leitura das lâminas, foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro. Para as determinações bioquímicas foram utilizados Kits comerciais disponíveis para uso no equipamento analisador para bioquímica clínica respons[®]920 - DiaSys Diagnostic Systems, que utiliza a Colorimetria e Ensaio imunoturbidimétrico. E para a determinação mais uniforme desses parâmetros, foram realizados todos os dias controles de qualidade e calibração do equipamento analisador e dos reagentes, assim como foram utilizados os mesmos lotes de reagentes no intuito de que não houvesse interferência. Os esfregaços sanguíneos foram corados com a colorações de rotina, Dift-Quick que permitiu a contagem diferencial de leucocitose e análise de eventuais alterações morfológicas.

A contagem total de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, assim como o total de hematócritos foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba, Campus Areia. Para contagem de eritrócitos, leucócitos e trombócitos foi utilizando o sistema Unopette, o método Natt & Herrick, (1952), com solução de azul de toluidina a 0,01%, que é uma das técnicas mais utilizadas para contagem total em câmara de Neubauer, neste método há dificuldade de diferenciar os pequenos linfócitos dos trombócitos (BERNARDINO, 2016). Devido a esse fator se faz necessária a realização da contagem diferencial em esfregaço. Para a determinação do hematócrito foi realizada a técnica de micro-hematócrito como descrito em Rosário et al. (2000).

Para o cálculo da relação H:T, foram utilizados o número total de linfócitos e heterófilos de cada tratamento, dentro de cada ambiente. Calculada através da divisão do número de linfócitos pelo número de heterófilos, o resultado foi expresso como forma de valor decimal.

Para o cálculo dos intervalos de referência e seu intervalo de confiança limites value (90%), foi utilizado o software Reference Value Advisor V 2.1, que é um conjunto gratuito de instruções para calcular o IR com o Microsoft Excel (GEFFRÉ et al., 2011). É importante ter em mente diversos fatores podem influenciar os valores hematológicos, tais como a raça, o tipo de alimentação, a temperatura, a forma de coleta e técnica de avaliação, entre outros aspectos.

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico R versão 4.2, e para as variáveis que apresentaram diferença estatística foram submetidas a análise de regressão para determinação do melhor nível de fitase e teste de Tukey a 5% de significância para as temperaturas das câmaras.

3.1 Variáveis zootécnicas

Aos 15 dias que antecederam o início do experimento foi identificado parcelas completas de 8 animais e diariamente foi feito o registro do total de ovos produzido para obtenção das médias de produção, após tal procedimento as aves foram distribuídas de acordo com a produtividade média e longo em seguida as parcelas foram pesadas e identificadas por tratamento e repetição.

As variáveis de desempenho e qualidade de ovos avaliadas foram: Produção (%), conversão por dúzia de ovo (kg/dz), porcentagem (%) espessura de casca (mm) e gravidade específica (g/cm³).

O período de avaliação de desempenho foi dividido em cinco períodos de 21 dias. Ao final de cada período foram coletadas as sobras das rações de cada parcela para o cálculo do consumo de ração. A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia (8:00 e 15:00 horas) e anotadas em ficha de frequência de postura e mortalidade para correção dos dados. A produção dos ovos em porcentagem foi calculada dividindo-se a quantidade de ovos totalizados por repetição pelo número de aves, corrigidos pela mortalidade quando houve.

Os ovos dos últimos três dias de cada período foram pesados individualmente para a obtenção do peso médio dos ovos. A conversão por dúzia de ovos foi calculada

pela relação entre o consumo de ração dividida pela produção, sendo esse resultado multiplicado por doze.

A espessura da casca foi medida com o auxílio de um micrômetro digital com precisão de 0,1 mm na linha mediana do ovo, essa análise foi realizada após as cascas dos ovos serem secas em estufa de 55°C.

Para avaliar a gravidade específica foram feitas imersões dos ovos em diferentes soluções salinas com os devidos ajustes para um volume de 25 litros de água com densidades que variam de 1,060 a 1,100 com intervalo de 0,0025 g/cm³.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi realizado o cálculo do intervalo de referência para as codornas utilizando a aves do tratamento controle (0FTU), para cada uma das temperaturas (24°, 30° e 36°) e esses dados foram utilizados para a avaliação dos parâmetros hematológicos analisados (Tabela 2).

Tabela 2. Valores de referência de codornas japonesas sob diferentes temperaturas, referência calculada com as aves dos grupos controles sem fitase.

Parâmetros	24°C	30°C	36°C
HT (%)	30.9 - 49.5	29.0 - 42.6	28.7 - 45.7
LEU (mm ³)	2.800 - 24.200	6.800 - 20.500	8.900 - 25.700
HG (g/dL)	5.0 - 10.4	5.6 - 9.4	5.5 - 10.3
Eritrócitos (mm ³)	505.200 - 995.500	390.000 - 1.114,000	255.000 - 1.095,000
PLQ (mm ³)	8.000 - 46.900	7.700 - 45.500	8.600 - 24.400
HET (%)	18.9 - 43.4	31.3 - 47.0	36.6 - 59.8
LYM (%)	42.1 - 65.7	21.2 - 52.0	18.3 - 40.1
EOS (%)	< 2.8	< 4.1	< 5.2
BASO (%)	*	< 3.1	8.0 - 29.8
MONO (%)	< 4.5	0.2 - 28.9	0.0 - 15.6
NEU (%)	3.3 - 34.1	1.7 - 23.9	8.2 - 34.1

O método estatístico foi uma análise do software Reference Value Advisor V 2.1, para Hematócritos (HT), Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET), Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Basófilos (BASO), Monócitos (MONO), Neutrófilos (NEU) e relação heterófilo:linfócito (H:L). *Não foi possível calcular o valor devido ao baixo número de células.

De acordo com os resultados para o hemograma das aves durante o segundo ciclo de postura, pode-se observar interação significativa entre os níveis de fitase e os

ambientes térmicos para valores de Leucócitos, Hemoglobina, Hemácias, Linfócitos, Basófilos, Monócitos e para relação Heterófilo:Linfócito ($p < 0,05$).

Foi observado efeito significativo para Leucócitos entre as temperaturas avaliadas no maior nível de inclusão da fitase (3000 FTU), onde a menor valor de leucócitos esteve presente na temperatura de 36°. Sendo a temperatura uma possível causa da diminuição da imunidade das codornas. A menor taxa de leucócitos circulantes foi observado no menor nível de inclusão de fitase (500FTU), no ambiente térmico de 30°C. Apesar da maioria dos parâmetros estarem dentro dos valores de referência obtidos neste estudo, exceto LEU (ambiente 24°C, fitase 1500FTU), eritrócitos (ambiente 24°C, fitase 1500/3000FTU e 30°C e fitase 3000FTU) e HG (ambiente 30°C e fitase 500FTU),

Podemos observar que as aves apresentaram comportamentos diferentes para ambientes térmicos e tratamentos específicos, pode-se notar que no ambiente térmico de 24°C para o tratamento 1500FTU/kg de fitase (Tabela 3), os valores de leucócitos (33.333 mm^3) estão significativamente acima do valor de referência ($2.800 - 24.200 \text{ mm}^3$). Com tudo, apesar dos leucócitos estarem acima dos valores de referência, podemos perceber que as aves não apresentaram estresse térmico quando se relaciona ao cálculo da relação heterófilo:linfócito.

No entanto, nas temperaturas mais altas podemos perceber que os animais apresentaram leucograma de estresse, com destaque para o ambiente de 36°C, na qual as aves apresentaram números maiores de heterófilos circulantes.

Os níveis de HG diferiram significativamente apenas nas codornas que foram alimentadas com a dieta contendo a adição de 500FTU, sendo os maiores valores médios para hemoglobina apresentados pelas aves que estiveram no ambiente térmico de 30°C.

Tabela 3. Leucócitos (LEU), Eritrócitos e hemoglobina (HG) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp *Fit
		0	500	1000	1500	3000						
LEU (mm^3)	24°C	15.437A	14.250A	13.500A	33.333A	22.895A	19.883	L*0,00	3,00	<.00	0,00	<.00
	30°C	11.000B	9.541B	13.583A	11.041B	19.812A	12.995	L*0,00				

LYM (%)	24°C	46,75A	46,50A	44,60A	45,00A	47,30A	46,03	NS				
	30°C	31,17B	35,08B	34,00B	35,08B	34,10B	33,89	Q*0,05	7,48	<.00	0,14	0,02
	36°C	25,60C	28,80C	28,83C	25,60C	24,67C	26,70	NS				
	Média	34,51	36,79	35,81	35,23	35,36						
EOS (%)	24°C	0,58A	0,08B	0,92AB	1,50A	0,33A	0,68	L*				
	30°C	2,25A	2,58A	2,00A	1,25A	0,83A	1,78	L*	NS	0,00	0,00	0,00
	36°C	2,25A	1,67A	0,50B	0,17B	0,50A	1,02	L*				
	Média	1,69	1,44	1,14	0,97	0,56						
BASO (%)	24°C	0,00B	0,08B	0,33A	0,75A	0,25B	0,28					
	30°C	1,67A	1,75A	1,17A	0,75A	0,83A	1,23	L*	NS	0,00	0,00	0,00
	36°C	1,25A	1,00A	0,50A	0,08B	0,17B	0,60					
	Média	0,97	0,94	0,67	0,53	0,42						
MONO (%)	24°C	1,92B	1,83AB	2,67A	1,42B	1,67A	1,90					
	30°C	10,67A	7,75A	6,50A	6,33A	3,00A	6,85	NS	NS	0,00	0,70	0,02
	36°C	7,00AB	1,00B	2,83A	3,08AB	2,83A	3,35					
	Média	6,53	3,53	4,00	3,61	2,50						
HET (%)	24°C	36,50	38,83	37,58	36,13	37,42	37,29C					
	30°C	37,00	40,00	42,00	41,92	41,80	40,54B	NS	6,73	<.00	0,00	0,05
	36°C	48,92	53,40	53,50	55,10	57,60	53,70A					
	Média	40,81	44,08	44,36	44,38	45,61						
H:L	24°C	0,78C	0,84B	0,85C	0,80C	0,79C	0,81	NS				
	30°C	1,21B	1,15B	1,24B	1,20B	1,22B	1,20	NS	11,97	<.00	0,03	0,00
	36°C	1,93A	1,90A	1,87A	2,16A	2,34A	2,04	L*<.00				
	Média	1,31	1,29	1,32	1,38	1,45						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Comportamento semelhante ocorreu com a presença de EOS, BASO e MONO, onde pode-se verificar que o ambiente de 30°C proporcionou os maiores valores médios em relação aos demais ambientes térmicos avaliados neste estudo ($p < 0,05$), independente do aumento da fitase. Quanto a HET, podemos observar que os maiores valores foram encontrados no ambiente de 36°, o que está diretamente ligado ao fato de que os HET circulantes aumentam como consequência da exposição ao estresse.

Houve interação significativa na relação H:L, onde pode-se observar que as aves alojadas no ambiente térmico de 24°C apresentaram uma menor relação H:L, independente dos níveis de fitase. Dados que corroboram com os valores de EC, onde na temperatura de 24°C as aves apresentaram uma melhor espessura de casca, porém o melhor desempenho relacionado a produção total de ovos foi melhor nas aves que estavam a no ambiente 30°C (Tabela 5).

EC (mm)	24°C	0,43A	0,41A	0,41A	0,40B	0,41A	0,41	3,60	0,12	0,03	<0.00
	30°C	0,40B	0,39A	0,41A	0,40B	0,41A	0,40				
	36°C	0,39b	0,40A	0,39A	0,44A	0,41A	0,41				
	Média	0,41	0,40	0,40	0,41	0,41					
	Efeito	NS									
PRO (%)	24°C	66,01	66,75	68,07	70,07	65,36	67,25B	11,67	<0.00	0,76	0,93
	30°C	80,55	76,30	82,28	80,74	77,12	79,40A				
	36°C	66,38	64,94	64,31	61,51	62,57	63,94B				
	Média	70,98	69,33	71,55	70,77	68,35					
	Efeito	NS									
GE, mg/cm ³	24°C	1,08	1,08	1,07	1,08	1,08	1,08	1,02	0,44	0,75	0,22
	30°C	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08				
	36°C	1,07	1,08	1,08	1,08	1,08	1,07				
	Média	1,07	1,08	1,07	1,08	1,08					
	Efeito	NS									
CADZ, Kg/dúzia	24°C	0,36	0,36	0,36	0,35	0,38	0,36A	13,81	<.00	0,71	0,79
	30°C	0,30	0,32	0,30	0,31	0,31	0,31B				
	36°C	0,28	0,32	0,33	0,34	0,32	0,32B				
	Média	0,32	0,33	0,33	0,33	0,34					
	Efeito	NS									

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para variável PRO, os melhores valores se encontram no ambiente de 30°C, sendo a inclusão de 1000FTU a que obteve melhor resposta. Quanto a GE não houve variação significativa para ambiente ou nível de fitase incluída na dieta. Para CADZ, destaca-se o ambiente de 24° e a inclusão de 3000FTU/kg, que foi resultado mais alto para o parâmetro. Dessa maneira acredite-se que a dose de 3000FTU atuou diminuindo os efeitos deletérios causados pelo estresse por calor e consequentemente liberou uma maior quantidade de P e Ca o que promoveu uma melhor qualidade da casca de ovo.

A relação H:L é utilizada para avaliação de estresse em aves, portanto quanto maior essa relação, mais provável da ave estar em estresse, e se torna mais confiável quando avaliada em conjunto com os valores de MONO. Uma vez que em situações de estresse em aves, ocorre um aumento dos monócitos e também dos eosinófilos circulantes, e concomitantemente as aves apresentam leucopenia e linfopenia, dessa maneira apresentam uma maior susceptibilidade a doenças (MARCHINI et al., 2011). Alguns estudos com frangos determinam que a relação H:L foi mais confiável para

avaliar o estresse fisiológico do que a mensuração dos corticosteróides (GROSS e SIEGEL, 1983).

Os demais parâmetros, HT, PLQ e NEU, se mantiveram dentro dos valores de referência e não apresentaram diferença significativa no que diz respeito a ambiente e temperatura (Tabela 6).

Tabela 6. Hematócritos (HT), Plaquetas (PLQ) e Neutrófilos (NEU) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
HT (%)	24°C	37,30	36,83	34,00	36,75	37,58	36,49	L*0,04	6,02	0,06	0,02	0,15
	30°C	35,25	37,58	35,25	37,30	38,33	36,74					
	36°C	36,90	36,83	37,90	39,67	37,83	37,83					
	Média	36,48	37,08	35,72	37,90	37,92						
PLQ (mm ³)	24°C	18.833	24.666	19.666	29.750	19.583	22.500A	L*0,02	2,96	0,04	0,01	0,06
	30°C	24.666	20.416	16.166	26.416	30.416	23.616A					
	36°C	15.666	20.000	17.583	18.916	23.416	19.116A					
	Média	19.722	21.694	17.805	25.027	24.472						
NEU (%)	24°C	15,75	13,75	14,83	13,90	13,30	14,31	L*0,01	11,21	0,17	0,03	0,50
	30°C	15,13	13,50	14,33	14,50	13,17	14,12					
	36°C	12,75	13,40	14,25	14,70	12,40	13,50					
	Média	14,54	13,55	14,47	14,37	12,96						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quanto aos resultados hematológicos referentes ao quarto ciclo de postura, podemos observar que houve efeito significativo ($p < 0,05$) para HT, Eritrócitos, LYM, EOS e MONO.

Houve efeito significativo para os valores médios de HT nos ambientes avaliados neste estudo, sendo os menores valores médios ($p < 0,05$) encontrados nas aves que foram alojadas nos ambientes considerados de estresse por calor (30°C e 36°C), mesmo estando dentro do intervalo de referência, essa diminuição pode estar relacionada com a presença de policromasia observada nos eritrócitos (Tabela 7). Os maiores valores médios foram do ambiente de 24°C, onde as aves estavam expostas

ao ambiente de termoneutralidade. Os valores de HT para os dois ciclos apresentaram baixa variação entre si.

As codornas que foram alimentadas com dietas com maiores níveis de fitase (1500 e 3000FTU/Kg) não apresentaram diferença para eritrócitos entre si, independente do ambiente térmico. Entretanto, a diferença entre os dois ciclos foi bastante significativa para todos os tratamentos e temperaturas. Os valores se apresentaram acima do intervalo de referência, e mais elevados no quarto ciclo em relação ao segundo. Devido a alta sensibilidade do sistema sanguíneo frente as mudanças de temperatura, este se torna um importante indicador das respostas fisiológicas da ave mediante a agentes estressores (BORGES et al., 2003).

A alteração na quantidade de eritrócitos entre os dois ciclos de postura pode caracterizar uma adaptação das aves às temperaturas do experimento, uma vez que quanto maior o número de eritrócitos, maior é o transporte de oxigênio. Os eritrócitos possuem um tempo de vida mais curto comparado ao dos mamíferos, portanto a eritropoiese é mais intensa, sendo controlada pelos níveis de eritropoietina, que é produzida nos rins, através dos estímulos de oxigênio sanguíneo e níveis de hormônios estrogênicos e androgênicos (VILA, 2013).

As aves que receberam dieta com a inclusão de 1000FTU apresentaram efeito significativo, sendo os ambientes de 24°C e de 30°C, os que proporcionaram menores valores de plaquetas, entretanto nesse mesmo tratamento podemos observar que na temperatura de 36° as aves apresentaram o maior valor de plaquetas.

Tabela 7. Hematócritos (HT), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
HT (%)	24°C	38,25	41,90	40,40	41,80	40,13	40,49A	NS	6,72	0,01	0,12	0,73
	30°C	37,40	38,50	38,67	38,50	38,00	38,21B					
	36°C	38,00	40,40	37,90	38,60	40,33	39,05AB					
	Média	37,88	40,27	38,99	39,63	39,49						
ERIT (mm ³)	24°C	1.177A	1.314A	1.275AB	1.379A	1.212A	1.272	NS	1,78	0,07	0,27	0,04
	30°C	1.221A	1.079A	1.087B	1.257A	1.333A	1.195					
	36°C	1.074A	1.266A	2.079A	1.367A	1.335A	1.424					
	Média	1.157	1.220	1.480	1.334	1.294						

PLQ (mm ³)	24°C	28.166A	23.000A	21.333AB	20.000A	23.583A	23.216	Q*0,03				
	30°C	19.500AB	16.416AB	17.750B	18.916A	23.833A	19.283	L*0,05	2,70	0,01	0,04	0,00
	36°C	14.583B	14.333B	29.666A	22.416A	19.100A	20.020	Q*0,00				
	Média	20.750	17.916	22.916	20.444	22.172						
HET (%)	24°C	33,30	31,92	31,42	30,83	34,33	32,36C					
	30°C	40,58	41,75	44,00	45,83	44,42	43,32B	NS	8,38	<.00	0,53	0,28
	36°C	48,92	49,10	49,70	48,50	49,42	49,10A					
	Média	40,933	40,922	41,706	41,722	42,722						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O valor de HET, assim como no segundo ciclo de postura seguem aumentados na temperatura de 36°, contudo o valor no quarto ciclo apresentou menores valores em relação ao segundo ciclo. Esses valores podem estar ligados diretamente ligados a adaptação dessas aves aos ambientes em que elas se encontram.

O ambiente de conforto térmico (24°C) refletiu em maiores valores médios de LYM, independente dos níveis da enzima fitase incluídos na dieta (Tabela 8). Em contraponto, houve uma redução nestes valores no ambiente de maior temperatura. Com a diminuição do número de LYM, o sistema imune se torna deficiente, deixando as aves mais suscetíveis às doenças (MARCHINI et al., 2011). As temperaturas ambientais elevadas podem desencadear alterações fisiológicas e comportamentais, o que pode resultar na redução da taxa de crescimento, no consumo e aproveitamento da ração, no aumento da ingestão de água, taquicardia, taquipneia, imunossupressão e alterações hematológicas (EL-KHOLY et al., 2017).

As aves alimentadas com superdosagens de fitase (1500 e 3000FTU) apresentaram diferenças significativas para a presença de EOS entre si. Ao serem alimentadas com a dieta contendo 1500FTU à temperatura de 36°C, houve uma diminuição dessas células, e comportamento contrário ocorreu nas aves que receberam o maior nível de fitase (3000FTU/Kg) na dieta. Como podemos observar os valores se encontram dentro dos valores de referência, não sendo clinicamente significantes.

Tabela 8. Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Monócitos (MONO) e relação heterófilo:linfócito (H:L), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
LYM (%)	24°C	53,10A	52,92A	56,67A	56,00A	52,30A	54,20	Q*0,01	7,95	<.00	0,03	0,04
	30°C	41,50B	43,83B	41,58B	38,70B	38,67B	40,86	L*0,02				
	36°C	31,33C	30,67C	27,92C	26,67C	26,80C	28,68	L*0,01				
	Média	41,98	42,47	42,06	40,46	39,26						
EOS (%)	24°C	1,00A	1,00A	0,75A	0,87A	0,62B	0,85	L*	NS	0,00	0,00	0,00
	30°C	1,37A	0,87A	0,87A	1,50A	2,12A	1,35	L*				
	36°C	0,75A	0,43A	0,62A	0,00B	1,00AB	0,56	L*				
	Média	1,04	0,77	0,75	0,79	1,25						
MONO (%)	24°C	1,25B	1,50AB	1,00A	1,62B	2,25A	1,52	L*	NS	0,00	0,01	0,00
	30°C	2,62A	1,62A	1,12A	1,75A	1,50A	1,72	L*				
	36°C	1,00B	1,29B	0,75A	1,50B	1,62A	1,23	L*				
	Média	1,62	1,47	0,96	1,62	1,79						
H:L	24°C	0,63	0,61	0,56	0,55	0,67	0,60C	NS	13,2	<.00	0,00	0,11
	30°C	0,99	0,96	1,06	1,2	1,15	1,07B					
	36°C	1,59	1,58	1,79	1,82	1,85	1,73A					
	Média	1,07	1,05	1,13	1,19	1,22						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os maiores valores para MONO foram verificados nos ambientes de 30°C (0FTU/Kg) e 24°C (3000FTU/kg). No entanto, entre as temperaturas não houveram diferenças significativas, porém no que diz respeito a inclusão de fitase na dieta o valor mais baixo esteve presente na inclusão de 1000FTU/Kg e o maior em 3000FTU/Kg. Sabe-se que sob condições de estresse, as aves tem sua hematopoiese comprometida, e que devido a isso ocorre um aumento de EOS e MONO circulantes devido à leucopenia e linfopenia (FRANZINI et al., 2022). Desta forma, observamos que ocorreu um aumento de MONO no segundo ciclo em relação ao quarto, acreditamos que devido as aves estarem com o organismo mais adaptado às temperaturas em que estavam sendo submetidas.

A relação H:L teve efeito significativo para as temperaturas avaliadas ($< 0,05$), no quarto ciclo a maior relação H:L foi verificada na maior temperatura (36°C), enquanto os menores valores foram observados no ambiente de conforto térmico (24°C). Dessa forma podemos verificar que os maiores níveis de estresse foram observados nas temperaturas mais elevadas, consideradas temperaturas fora da faixa de conforto térmico. Esses dados corroboram o estudo de Silveira et al. (2011), onde os maiores valores da relação H:L estão relacionadas das temperaturas que se

apresentam fora da faixa de conforto térmico para codornas. Contudo os valores da relação H:L caíram no quarto ciclo em relação ao segundo, caracterizando uma possível diminuição do estresse térmico ao longo dos dias devido a adaptação das codornas as temperaturas que se encontram fora da faixa de termorregularidade.

Para os demais parâmetros, LEU, HG, BASO e NEU, não houve alteração significativa entre os tratamentos e os ambientes dentro deste presente ciclo (Tabela 9). E quando comparamos entre os dois podemos observar que em relação a LEU e a BASO, houve uma diminuição entre o segundo e o quarto ciclos, e em relação a HG e NEU houve um discreto aumento no quarto ciclo em relação ao segundo.

Tabela 9. Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Basófilos (BASO) e Neutrófilos (NEU) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
LEU (mm ³)	24°C	11.125	8.708	7.333	9.666	12.416	9.850	Q*0,01	3,51	0,96	0,00	0,23
	30°C	12.833	10.125	8.166	9.666	8.916	9.941					
	36°C	13.625	8.875	8.416	11.291	7.900	10.021					
	Média	12.527	9.236	7.972	10.208	9.744						
HG (g/dL)	24°C	8,22	8,26	7,92	8,56	8,12	8,21	NS	7,80	0,76	0,15	0,89
	30°C	7,80	8,27	8,19	8,63	8,37	8,25					
	36°C	8,03	8,18	8,36	8,51	8,63	8,34					
	Média	8,01	8,24	8,16	8,57	8,37						
BASO (%)	24°C	0,00	0,37	0,12	0,12	0,00	0,12A	NS	NS	0,89	0,96	0,94
	30°C	0,50	0,37	0,25	0,37	0,12	0,32A					
	36°C	0,12	0,57	0,25	0,25	0,12	0,26A					
	Média	0,21A	0,44A	0,21A	0,25A	0,08A						
NEU (%)	24°C	10,00	14,83	12,33	11,67	12,33	12,23C	NS	14,16	<.00	0,67	0,07
	30°C	15,30	14,13	14,13	14,17	15,5	14,64B					
	36°C	16,75	14,50	16,88	17,17	17,67	16,59A					
	Média	14,02	14,49	14,44	14,33	15,17						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quanto as análises bioquímicas, as mesmas nos proporcionaram avaliar as condições de saúde renal, hepática, assim como, a possível sobrecarga que os órgãos dos animais poderiam ter recebido com o impacto do estresse térmico. Em adição também avaliar se houve minimização dos efeitos do estresse térmico com o uso da

fitase. Sendo sempre importante que essas análises sejam realizadas em conjunto, uma vez que para aves algumas enzimas mensuradas não são específicas.

Foi observado para a segundo ciclo de postura, efeito significativo para Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST); Fosfatase alcalina (FA), Fósforo (P) e Cálcio (Ca), e níveis de ureia (URE) e ácido úrico (AU).

Houve efeito significativo para as concentrações de ALT entre os níveis de fitase avaliados ($p=0,0293$), assim como, pode-se verificar interação significativa entre os níveis de fitase e temperaturas ($p=0,0116$).

Ao desdobrar a interação entre níveis de fitase e temperaturas para os valores de ALT, observou-se que, as codornas que receberam as dietas com inclusão de fitase apresentaram comportamentos semelhantes para as concentrações de ALT no sangue, sendo superiores aos animais que receberam a dieta basal, sem inclusão da enzima (Tabela 10).

Tabela 10. Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST) e Fosfatase alcalina (FA) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
ALT (U/L)	24°C	2,20B	3,85A	3,48A	2,70A	2,40A	2,92	NS	26,78	0,07	0,03	0,01
	30°C	1,10B	3,68A	2,82A	2,74A	2,43A	2,55					
	36°C	4,03A	3,23A	2,80A	2,51A	3,39A	3,19					
	Média	2,44	3,58	3,03	2,65	2,74						
AST (U/L)	24°C	264,98	218,01	272,18	238,37	247,89	248,29B	NS	20,89	0,04	0,86	0,12
	30°C	243,66	277,03	307,25	302,99	289,82	284,15A					
	36°C	278,52	303,87	223,48	306,93	278,17	278,19AB					
	Média	262,39	266,3	267,64	282,76	271,96						
FA (U/L)	24°C	260,58	303,78	262,70	260,06	303,94	278,21B	L*0,04	27,98	0,00	0,01	0,91
	30°C	199,14	300,55	212,14	223,83	321,68	251,47B					
	36°C	284,58	392,63	314,48	354,89	369,83	343,28A					
	Média	248,10	332,32	263,11	279,59	331,82						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

As codornas alimentadas com a dieta basal, apresentaram valores semelhantes aos demais grupos estudados apenas quando estiveram, exceto para as que foram submetidas ao ambiente de 36°C, que apresentaram os maiores valores da

enzima para este ciclo. Embora tenha ocorrido variação entre os tratamentos nessas temperaturas, os valores de ALT se mantiveram abaixo dos valores normais de referência para as aves (CARPENTER; MARION, 2018), a qual varia de 5 – 11U/l, para aves não carnívoras e de caráter não migratório. Contudo em diversas espécies de aves, a ALT pode apresentar níveis normais de atividade abaixo do limiar de sensibilidade de alguns analisadores (HOCHLEITHNER, 1994). Dessa forma, a baixa atividade de ALT no organismo das aves pode ser de caráter fisiológico.

Foi verificado efeito quadrático nos níveis de ALT ($R^2=0,99$) entre os grupos estudados dentro da temperatura de 36°C, conforme apresentado na Figura 2.

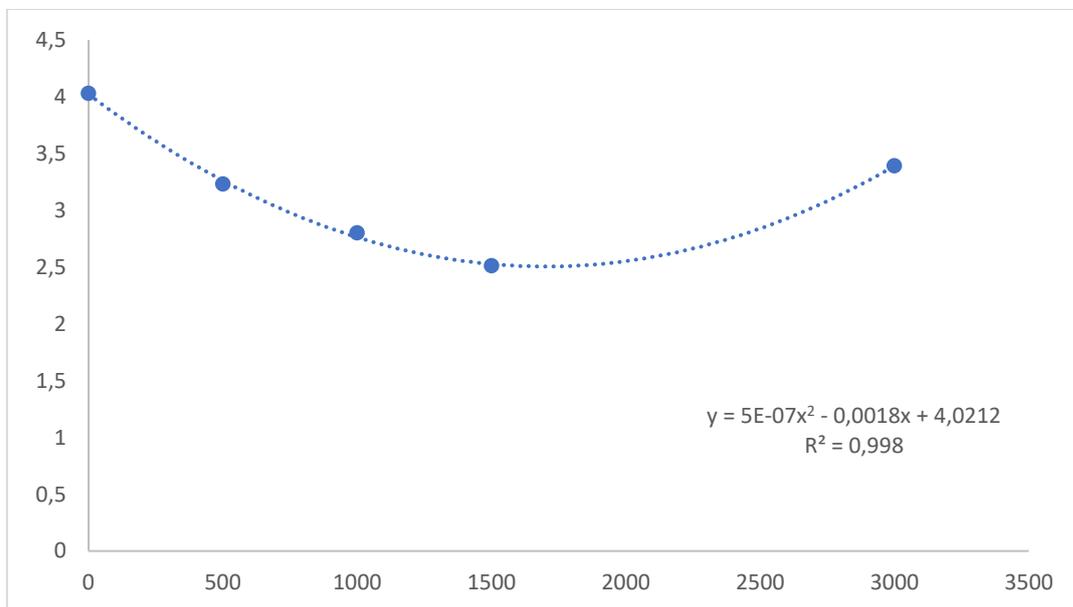


Figura 2. Níveis de ALT de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 36°C

As concentrações de AST apresentaram efeitos significativos dentro dos ambientes avaliados ($p=0,0370$), onde verificou-se que as aves do ambiente de 30°C apresentaram médias superiores aos animais dos ambientes de 24° e 36°C. Em geral, a média da AST se manteve dentro dos valores normais de referência para as aves, que é < 275 UI/l (THRALL et al., 2004). Os valores para temperatura de 30°C mantiveram-se acima dos valores de referência, exceto para o grupo basal. No ambiente de 36°C apenas no tratamento 1000FTU/Kg o valor de AST se manteve dentro dos valores de referência, e no ambiente de 24°C todos os valores se encontram dentro dos valores normais para a espécie. A atividade da AST de forma geral é pouco específica para problemas hepáticos (GRUNKEMEYER, 2010). Sendo

assim, necessária a avaliação juntamente com outras enzimas (ALT e GGT) e sua comparação com a CK é necessária para avaliar se a atividade tem origem hepática ou muscular. No presente estudo, a CK se manteve dentro dos valores normais, e assim podemos descartar que a elevação da AST nas aves deste estudo seja de origem muscular.

Para a FA foram observados maiores valores nas temperaturas mais elevadas, sendo a menor inclusão de fitase (500FTU) no ambiente de 36°C, que apresentou o valor mais elevado, podendo a fitase ter atuado como hepatoprotetora. Entretanto todos esses valores se encontram dentro dos valores de referência para aves. E para análise de eficiência do funcionamento adequado do fígado é preciso se observar os demais valores em conjunto, tais valores apesar da variação entre tratamentos e temperaturas se encontram dentro dos valores de referência para aves, de acordo com Thrall et al. (2004).

As concentrações de P e Ca diferiram significativamente entre os ambientes avaliados. Foi verificada uma maior concentração de Ca na corrente sanguínea das aves que estiveram alojadas no ambiente de 24°C ($p=0,0001$), sendo considerado um ambiente de conforto térmico para estes animais na fase de produção (Tabela 11). Da mesma forma, pode-se observar um comportamento semelhante para a concentração média de P ($p=0,0024$) que também foi superior nas aves que se encontravam em situações condizentes com o conforto térmico. Na temperatura de 24°C, o valor do P encontra-se dentro dos valores de referência, 5 a 7 g/L (THRALL et al., 2004), e os demais estão abaixo do limite mínimo.

O Ca se manteve próximo dos valores mínimos de referência, 20 a 30 mg/dl (THRALL et al., 2004), na temperatura de 24°C. Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos com poedeiras que foram submetidas a estresse térmico, onde foi encontrada diminuição das concentrações plasmáticas de P, em animais que foram expostos a temperatura de 34°, sendo provável a ocorrência de estresse térmico severo (WOLFENSON et al., 1987, AIT-BOULAHSEN et al., 1993, USAYRAN et al., 2001, PERSIA et al., 2003). De acordo com os dados do presente estudo, a temperatura de 36°C influenciou negativamente as aves no quesito de produção de ovos (Tabela3).

Houve efeito significativo na interação entre fitase e ambiente para as concentrações de ureia (URE) e ácido úrico (AU) ($p<0,05$). Pode-se observar que o nível de URE no sangue foi menor no grupo que recebeu a dieta contendo a maior

dosagem da enzima fitase (3000 FTU), quando estas estavam alojadas no ambiente de conforto térmico (24°C), apresentando uma queda linear na concentração desse metabólito no sangue à medida que se elevou os níveis da enzima na dieta (Figura 3). Nesse mesmo tratamento, nas demais temperaturas os resultados se apresentaram acima dos valores de referência para aves.

Tabela 11. Fósforo (P); Cálcio (Ca); Ureia (URE) e Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
P (mg/dl)	24°C	5,20	5,05	5,22	5,71	5,29	5,29A	NS	19,38	0,00	0,82	0,83
	30°C	4,61	4,54	4,38	4,16	4,84	4,50B					
	36°C	4,92	4,47	3,91	4,22	4,20	4,34B					
	Média	4,91	4,68	4,50	4,70	4,77						
Ca (mg/dl)	24°C	19,18	18,12	18,5	21,45	19,88	19,42A	NS	12,00	0,00	0,19	0,17
	30°C	18,73	16,05	17,62	19,01	16,34	17,55B					
	36°C	17,28	16,68	16,92	15,65	17,40	16,78B					
	Média	18,40	16,95	17,68	18,70	17,87						
URE (mg/dl)	24°C	4,36A	5,44A	4,38A	3,70A	3,35B	4,25	L*0,01	17,39	0,00	<.00	0,00
	30°C	4,46A	5,28A	2,65B	3,49A	5,83AB	4,34	Q*<.00				
	36°C	5,00A	5,83A	3,80A	3,55A	7,25A	5,09	Q*<.00				
	Média	4,60	5,52	3,61	3,58	5,48						
AU (mg/dl)	24°C	3,49A	2,78A	3,99A	3,87A	3,24A	3,47	NS	20,14	0,00	0,15	0,01
	30°C	3,28A	2,75A	2,41B	3,14A	3,25A	2,97	NS				
	36°C	4,04A	3,60A	3,93A	3,01A	3,23A	3,56	L*0,05				
	Média	3,60	3,04	3,44	3,34	3,24						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dessa maneira podemos perceber que a maior inclusão de fitase (3000FTU), colaborou positivamente para a manutenção do funcionamento renal adequado, uma vez que os valores de AU também se mantiveram dentro da faixa normal para a espécie. E embora tenha ocorrido a interação entre fitase e ambiente, os valores de concentração de AU, para todos os tratamentos e todos os ambientes se mantiveram dentro dos valores de referência, que é < 13 mg/dl (THRALL et al., 2004).

Ao observar os ambientes considerados de estresse térmico por calor; no ambiente de 30°C as codornas apresentaram menor concentração de ureia no

sangue, quando receberam a dieta contendo a adição de 1000FTU da enzima. Por outro lado, no ambiente de 36°C, os grupos 0 e 500 FTU proporcionaram valores semelhantes para as concentrações de URE. O tratamento com 3000 FTU proporcionou o maior valor de URE em relação a todos os ambientes, e os três grupos se apresentaram acima dos valores de referência, que é de 0 a 5 mg/dl (THRALL et al., 2004). Já os grupos 1000 e 1500 FTU obtiveram os menores valores de URE em todos os ambientes térmicos.

A elevação dos valores de URE pode representar um estado de desidratação do animal, no presente estudo a maioria dos valores de concentração da URE que se apresentaram acima dos valores de referência estão presentes em ambiente de desconforto térmico por calor, o que pode justificar esses valores, uma vez que as concentrações de AU estão todas dentro da normalidade e assim podemos descartar injúrias renais.

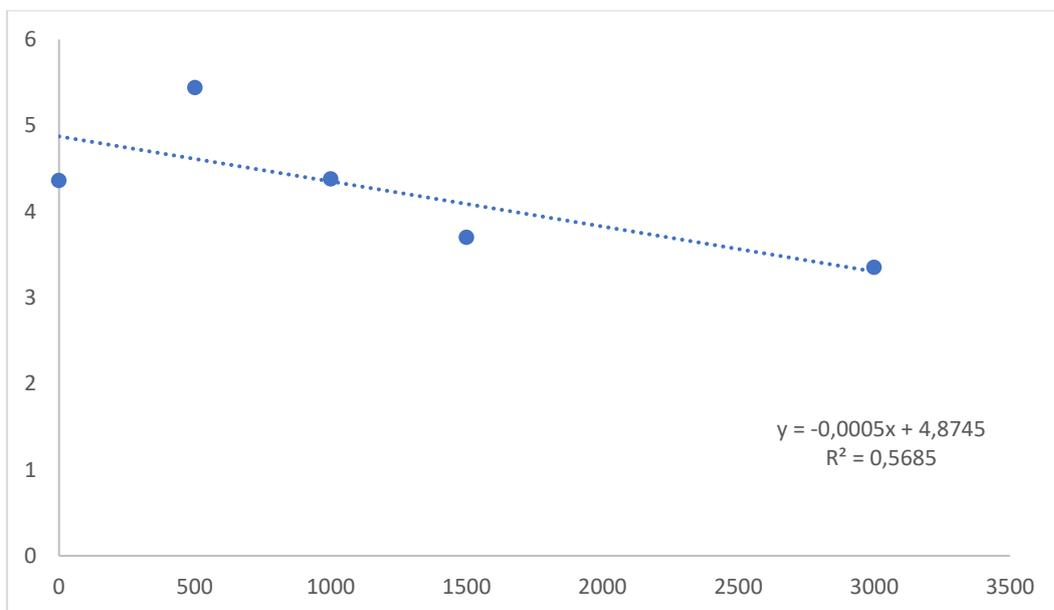


Figura 3. Níveis de ácido úrico de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase.

As concentrações de AU só foram menores nos grupos que receberam a dieta contendo a inclusão de 1000FTU da enzima fitase, e submetidas ao ambiente de 30°C.

Os demais parâmetros, GGT e CK, se mantiveram dentro dos valores de referência, não apresentaram interferência em relação a ambiente ou tratamento neste segundo ciclo, que fossem clinicamente significativas (Tabela 12). Relativo ao

CK, os valores que se encontram dentro dos valores normais para a espécie, descartam qual quer possibilidade que o aumento das demais enzimas seja de origem muscular.

Tabela 12. Gama Glutamil Transferase (GGT) e Creatinoquinase (CK) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
GGT (U/L)	24°C	0,37	1,38	3,34	5,22	0,58	2,18	NS	305,88	0,85	0,28	0,60
	30°C	0,67	4,12	1,10	0,37	0,66	1,38					
	36°C	0,67	7,3	1,10	0,52	0,41	1,99					
	Média	0,57	4,27	1,85	2,03	0,55						
CK (U/L)	24°C	770,70	564,40	748,63	539,40	660,50	656,73	NS	26,61	0,93	0,05	0,37
	30°C	741,58	740,18	748,33	485,15	674,20	677,89					
	36°C	521,23	683,23	755,66	567,65	799,59	665,47					
	Média	677,84	662,6	750,88	530,73	711,43						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No quarto ciclo de postura, foi observado efeito significativo para ALT, FA, P e Ca, e níveis de URE, CK e AU.

Houve interação significativa entre os níveis de fitase e temperaturas ($p=0,0297$) para as concentrações de ALT, onde foi verificado que as aves que receberam a dieta contendo a maior dosagem da enzima e alojadas na temperatura de 36°C apresentaram menores valores médios, quando comparadas aos demais grupos avaliados. Assim como no segundo ciclo de postura os valores se mantiveram a baixo dos valores de referência (Tabela 13).

Destaca-se a diminuição da concentração de ALT entre coletas, uma vez que os valores entre os tratamentos e temperaturas baixaram significativamente, podendo levar a hipótese de uma possível sobrecarga crônica no fígado das codornas, uma vez que a diminuição dessa enzima pode estar ligada a baixa atividade hepática, observa-se que nesse ciclo nos tratamentos 0 e 3000 FTU houveram menores variações. A maior variação observada foi no tratamento 1000 FTU.

Os níveis de FA foram menores ($p < 0,0001$) nas aves que receberam dieta contendo 1000 e 1500 FTU, quando expostas a temperatura de 30°C, e quando receberam a dieta de 1000FTU no ambiente de 36°C, demonstrando que esses grupos apresentaram comportamento semelhante dentro deste ciclo.

Tabela 13. Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp* Fit
		0	500	1000	1500	3000						
ALT (U/L)	24°C	1,88A	1,48A	1,50A	1,55A	2,05A	1,69	NS				
	30°C	2,20A	3,10A	1,54A	1,60A	2,55A	2,20	Q*0,02	32,87	0,04	0,32	0,03
	36°C	1,93A	1,82A	1,76A	2,30A	1,13B	1,79	NS				
	Média	2	2,13	1,6	1,82	1,91						
FA (U/L)	24°C	1.844,34A	822,20A	2.032,60A	1.942,41A	755,63A	1.479,43	NS				
	30°C	656,03A	1.373,55A	646,67B	611,91B	1.622,04A	982,04	NS	51,24	0,03	0,31	<.00
	36°C	757,96A	1.676,02A	940,44B	1.788,21A	632,43A	1.159,01	Q*0,01				
	Média	1.086,11	1.290,59	1.206,57	1.447,51	1.003,37						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Podemos observar que as concentrações de FA foram superiores neste ciclo quando comparados ao segundo ciclo, reforçando a ideia de que a origem dessa elevação seja hepática, uma vez que as aves apresentaram um menor peso do fígado nas temperaturas mais altas para esse mesmo ciclo de coletas, e a redução de peso de fígado já foi relatada em alguns estudos onde as aves foram submetidas a temperaturas altas. Santos (2012) observou redução do peso do fígado e do coração em codornas criadas sob estresse térmico por calor, e Oliveira Neto et al. (2000) observaram redução gradativa no peso de órgãos em aves que foram mantidas em temperaturas elevadas para a espécie.

É importante salientar que o estudo realizado dentro do mesmo projeto avaliou o peso do fígado dessas aves e foi observado a diminuição do peso do fígado das mesmas aves tanto no segundo ciclo de postura quanto no quarto (Tabela 14). Essa redução no peso do fígado pode estar relacionada com a redução da ingestão de alimento consequentemente à redução da taxa metabólica dessas aves devido a

ocorrência de estresse térmico. Esse fato corrobora estudo onde foi observado a redução do peso do fígado (8,5%), em frangos de corte suplementados com de fitase microbiana com níveis diferentes de fósforo (VIVEROS et al., 2002). E no presente estudo os maiores valores médios relativos ao PF foram observados no ambiente de 30°C.

Tabela 14. Peso de Fígado (PF) relativo ao segundo e quarto ciclos de postura, de codornas japonesas alimentadas com doses de fitase e submetidas a três temperaturas diferentes (24, 30 e 36°C).

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	CV, %	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000					
PF (%) Segundo ciclo	24°C	2,57	2,51	2,30	2,71	2,52	2,52	14,29	0,50	0,03	0,06
	30°C	2,71	2,62	2,46	2,45	2,75	2,60				
	36°C	2,77	2,71	2,44	2,11	2,51	2,51				
	Média	2,68	2,61	2,40	2,42	2,60					
	Efeito	Q*0,0037									
PF (%) Quarto ciclo	24°C	2,76AB	2,01B	2,41A	2,43A	2,65AB	2,45	7,50	<.00	0,34	0,01
	30°C	3,01A	2,81A	2,37A	2,33A	3,02A	2,71				
	36°C	2,15B	2,43AB	2,19A	2,17A	2,11B	2,21				
	Média	2,64	2,418	2,19	2,31	2,59					
	Efeito	NS									

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Houve uma redução nas concentrações de P nas codornas alojadas no ambiente de 24°C, ao receberem a dieta com a maior dosagem da fitase. No entanto, observou-se um aumento linear ($p < 0,0001$) na concentração deste mineral à medida que se aumentava os níveis de fitase na dieta, no ambiente de 36°C (Figura 4). Portanto a diminuição do fósforo circulante, juntamente com a elevação dos valores de URE (Tabela 15) pode levar a um quadro de doença renal, no presente estudo não foi avaliado o rim através de ultrassonografia ou necropsia, e para tal conclusão seriam necessários estudos detalhados quando a condição renal. Os valores do P para o quarto ciclo encontram-se abaixo dos valores de referência determinados para as aves, porém podemos observar na que os valores relativos ao ambiente de 36°C relacionados aos tratamentos de 1500 FTU/kg e 3000 FTU/kg, mantiveram-se dentro

dos valores de referência, o que corrobora com a média de espessura da casca do ovo que se apresentaram melhores nessas mesmas condições.

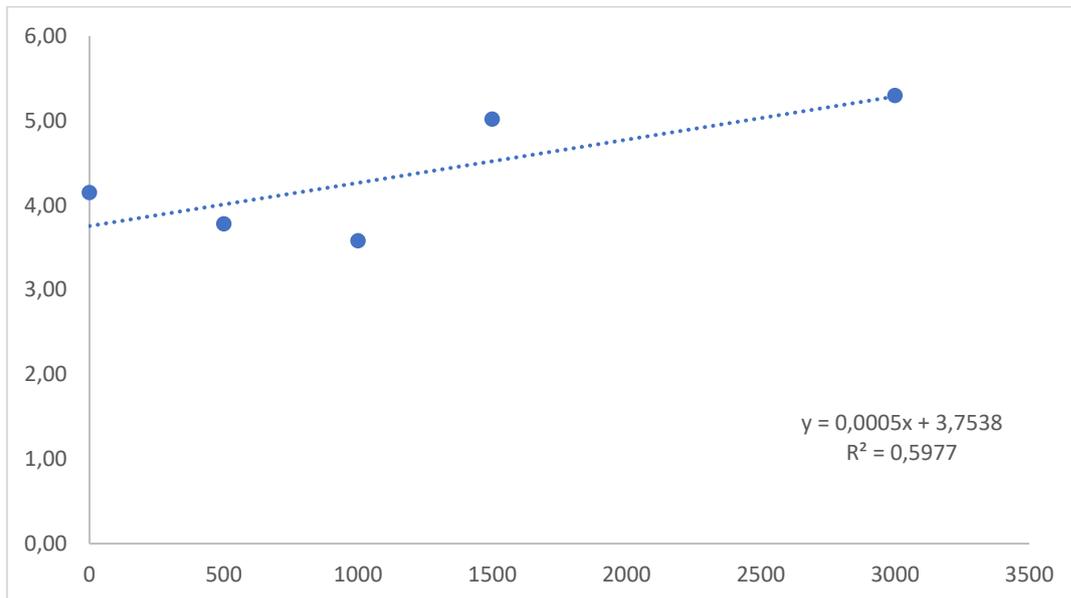


Figura 4. Níveis de fósforo de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 24°C

Pode-se observar, que o uso da suplementação de fitase (1000 e 1500FTU) aumentou ($p=0,0001$) as concentrações de Ca circulante nas codornas quando alojadas no ambiente de estresse por calor a 36°C. E dessa maneira podemos ressaltar que nesse caso a fitase reverteu os efeitos deletérios do calor sobre a absorção do cálcio. Uma vez que o aumento da temperatura ambiente, consequentemente eleva a necessidade de cálcio para poedeiras (PLAVNIK, 2003). Em contrapartida, no ambiente de 30°C foi o maior nível de inclusão da fitase que proporcionou maior concentração de Ca no sangue, mostrando que a fitase contribuiu de forma significativa para a manutenção das concentrações de Ca, quando as aves se encontram fora das temperaturas consideradas de conforto térmico. Sobretudo todos os valores se mantiveram a baixo dos valores de referência para aves (THRALL, 2004), assim como, no segundo ciclo de postura. Apesar da queda de Ca o ambiente de 36°C, com dose de 1500 FTU de fitase, obteve-se nesse tratamento, o melhor desempenho relacionado a espessura de casca do ovo, assim essa dosagem se destaca para uma melhor qualidade de produção de ovos em aves submetidas a estresse térmico. Diante dos resultados de Ca, podemos dizer que o uso da fitase diminuiu os possíveis efeitos deletérios do estresse térmico das

codornas, onde algumas concentrações proporcionaram um melhor resultado, os melhores desempenhos foram para 3000FTU no ambiente de 30°C e 1500FTU para o ambiente de 36°C.

Tabela 15. Fósforo (P); Cálcio (Ca); Uréia (URE) de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp* Fit
		0	500	1000	1500	3000						
P (mg/dl)	24°C	3,65A	3,96A	3,99B	5,06A	3,90B	4,11	Q*0,00	13,55	0,26	0,00	<.00
	30°C	4,81A	3,43A	4,87A	4,13A	4,53BA	4,35	NS				
	36°C	4,15A	3,78A	3,58B	5,02A	5,30A	4,37	L*<.00				
	Média	4,20	3,72	4,14	4,74	4,57						
Ca (mg/dl)	24°C	10,83BA	9,59A	12,41A	11,49BA	10,50B	10,96	NS	19,23	0,03	0,08	<.00
	30°C	13,41A	12,97A	10,04A	8,87B	17,98A	12,65	Q*<.00				
	36°C	10,27B	11,32A	11,40A	13,61A	11,03B	11,52	Q*0,03				
	Média	11,50	11,29	11,28	11,32	13,17						
URE (mg/dl)	24°C	5,67A	6,63A	3,55A	7,00A	8,01A	6,17	Q*0,00	13,90	0,04	<.00	<.00
	30°C	5,26A	3,44B	5,03A	6,64A	7,69A	5,61	L*<.00				
	36°C	5,58A	6,21A	3,57A	6,63A	8,14A	6,02	Q*0,00				
	Média	5,50	5,42	4,05	6,76	7,94						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A menor concentração de URE foi observada ($p < 0,0001$) apenas no grupo de aves que foram alimentadas com dietas contendo a dose de fitase recomendada pela indústria (500FTU), aves essas submetidas ao ambiente de 30°C. Os demais valores para esse ciclo se encontram acima dos valores de referência.

Os valores de AST se mantiveram acima dos valores de referência em ambos os ciclos; já na temperatura de 24°C, no segundo ciclo, os valores se mantiveram dentro do intervalo determinado para aves, e no segundo ciclo esse valor elevou e ultrapassou o limite superior do valor de referência (Tabela 16). A AST é uma enzima que está presente em múltiplos órgãos, em especial no fígado no músculo (GRUNKEMEYER, 2010; CAPITELLI & CROSTA, 2013), e a sua função varia de acordo com as diferentes espécies de aves, sendo a presença da AST também relatada no coração, cérebro e rins (HOCHLEITHNER, 1994).

Tabela 16. Aspartato aminotransferase (AST); Gama Glutamil Transferase (GGT); Creatinoquinase (CK); Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp* Fit
		0	500	1000	1500	3000						
AST (U/L)	24°C	273,66	258,77	304,03	267,21	322,00	285,13	NS	19,52	0,92	0,40	0,95
	30°C	267,63	276,56	304,35	294,44	294,68	287,53					
	36°C	269,76	300,50	304,54	286,90	296,10	291,56					
	Média	270,35	278,61	304,30	282,85	304,26						
GGT (U/L)	24°C	1,67A	2,50A	2,00A	3,10A	1,90A	2,23	Q*0,01	23,86	0,18	0,04	0,02
	30°C	2,08A	2,20A	1,75A	2,18A	1,30A	1,90	NS				
	36°C	2,10A	2,08A	1,43A	1,77A	2,50A	1,97	Q*0,01				
	Média	1,95	2,26	1,72	2,35	1,90						
CK (U/L)	24°C	443,11A	619,30A	482,41A	509,50B	421,09B	495,08	NS	24,34	0,02	0,23	0,01
	30°C	701,43A	510,05A	400,70A	802,83A	714,60A	625,92	NS				
	36°C	524,06A	644,38A	585,98A	533,12B	577,02BA	572,91	NS				
	Média	556,20	591,24	489,70	615,15	570,90						
AU (mg/dl)	24°C	2,93	3,85	3,52	2,96	3,70	3,39	L*0,01	17,12	0,44	0,01	0,23
	30°C	3,01	3,66	3,29	3,48	3,85	3,46					
	36°C	3,77	3,38	3,46	3,20	4,19	3,60					
	Média	3,24	3,63	3,42	3,21	3,91						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As demais enzimas, GGT CK e AU, se mantiveram dentro dos valores de referência normais para a espécie, de acordo com THRALL (2004). E entre os dois ciclos foi possível observar que houve um aumento discreto no quarto ciclo em relação ao segundo para as três enzimas, porém não tem um significado clínico específico.

**3 CAPÍTULO II – HEMATOLOGICAL EVALUATION IN LAYING QUAIL WITH DIET
CONTAINING DIFFERENT LEVEL OF PHYTASE UNDER DIFFERENT
THERMAL CONDITIONS¹**

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE CODORNAS DE POSTURA COM DIETAS
CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE FITASE EM DIFERENTES CONDIÇÕES
TÉRMICAS**

Amana Fernandes Maia¹ Luiz Arthur dos Anjos Lima Edilson Paes Saraiva

Felisbina Luisa Pereira Guedes Queiroga Fernando Guilherme Perrazo Costa

Ana Cristina Silvestre Ferreira Roberto Sargo Ricardo Romão Guerra

RESUMO

Objetivou-se, no presente estudo, estabelecer os melhores níveis de fitase na dieta em diferentes temperaturas para as codornas de postura da linhagem (*Coturnix japonica*), através da avaliação hematológica, para avaliação da imunidade, nível de estresse térmico e estudo das demais células sanguíneas. Estudos com a inclusão de fitase na alimentação das aves vem sendo desenvolvidos, com o intuito de aumentar a disponibilidade dos minerais presentes nas dietas e consequentemente diminuir os custos finais do produtor, mantendo um bom desempenho produtivo. Neste estudo foram utilizados um total de 720 codornas japonesas em fase de produção, foram utilizados cinco níveis de fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000FTU) e três faixas de temperatura (24, 30 e 36°C), representando faixas de termoneutralidade e de estresse térmico, para cada faixa de temperatura, foram analisadas 8 aves de cada um dos 15 tratamentos, totalizando 120 aves. O experimento foi dividido em cinco ciclos de 21 dias, para esta avaliação

¹ Artigo submetido à revista Ciência Animal

foram utilizados o segundo e o quarto ciclo. As amostras deste estudo foram processadas logo após a coleta para os parâmetros hematológicos e confecção dos esfregaços sanguíneos. Foram avaliados os seguintes parâmetros para hematologia: Hematócritos, Leucócitos, Hemoglobinas, Eritrócitos, Plaquetas, Heterófilos, Linfócitos, Eosinófilos, Basófilos, Monócitos e Neutrófilos, e calculada a relação Heterófilo:Linfócito (H:L). De acordo com os resultados as aves foram influenciadas pela temperatura em relação ao estresse térmico, estando bem destacado na elevação da relação H:L nas temperaturas fora da faixa de termoneutralidade, a alteração da imunidade os parâmetros se mantiveram dentro dos valores normais do intervalo de referência, exceto para os leucócitos com nível de 1500FTU e sob temperatura de 24°C onde estes estavam acima dos valores do intervalo de referência. As aves que estavam no ambiente de 36°C e com nível de fitase de 1500FTU/Kg apresentaram o maior valor de EC, dessa maneira acredite-se que essa dose de fitase atuou diminuindo os efeitos deletérios causados pelo estresse por calor, possibilitando, melhor qualidade da casca de ovo. Conclui-se que a fitase amenizou as possíveis alterações produtivas e manteve homeostase satisfatória, e mantendo uma boa produtividade das aves do presente estudo.

Palavras-Chave: estresse térmico; coturnicultura; patologia clínica.

ABSTRACT

The aim of this study was to establish the best levels of phytase in the diet at different temperatures for laying quails of the lineage (*Coturnix japonica*), through hematological evaluation, to evaluate immunity, level of thermal stress and study of other blood cells. Studies with the inclusion of phytase in poultry feed have been developed, with the aim of increasing the availability of minerals present in the diets and consequently reducing the final costs of the producer, maintaining a good productive performance. In this study, a total of 720 Japanese quails in the production phase were used, five levels of phytase (0, 500, 1000, 1500 and

3000FTU) and three temperature ranges (24, 30 and 36°C) were used, representing ranges of thermoneutrality and thermal stress, for each temperature range, 8 birds from each of the 15 treatments were analyzed, totaling 120 birds. The experiment was divided into five cycles of 21 days, for this evaluation the second and fourth cycles were used. Samples from this study were processed shortly after collection for hematological parameters and preparation of blood smears. The following hematology parameters were evaluated: Hematocrits, Leukocytes, Hemoglobins, Erythrocytes, Platelets, Heterophils, Lymphocytes, Eosinophils, Basophils, Monocytes and Neutrophils, and the Heterophil:Lymphocyte (H:L) ratio was calculated. According to the results, the birds were influenced by the temperature in relation to the thermal stress, being well highlighted in the elevation of the H:L ratio in the temperatures outside the thermoneutrality range, the alteration of the immunity the parameters remained within the normal values of the reference interval, except for the leukocytes with a level of 1500FTU and under a temperature of 24°C where these were above the values of the reference interval. Birds that were in an environment of 36°C and with a phytase level of 1500FTU/Kg had the highest EC value, so it is believed that this dose of phytase acted by reducing the deleterious effects caused by heat stress, allowing better eggshell quality. It is concluded that phytase mitigated the possible productive alterations and maintained satisfactory homeostasis, maintaining good productivity of the birds in the present study.

Keywords: heat stress; coturniculture; clinical pathology.

1. INTRODUÇÃO

A criação de codornas, coturnicultura, tem se destacado como meio de produção rentável e tem obtido destaque no setor produtivo, devido a modernização da criação, ao potencial produtivo das aves e baixa exigência, como por exemplo em relação espaço de criação e por apresentarem maturidade sexual precoce, o que implica no rápido retorno financeiro. É

necessário que se tenha também um cuidado com o bem estar dessas aves, uma vez que isso implica diretamente na produtividade (MOTA, 2013). São considerados animais endotérmicos ou homeotérmicas, ou seja, tem habilidade de manter a temperatura corporal constante, mesmo diante de variações ambientais.

A temperatura e a umidade relativa de ar, estão diretamente ligadas ao bem estar das aves, e são variáveis que podem interferir diretamente sobre o desempenho produtivo das aves. Em decorrência do estresse térmico, a ave pode apresentar um aumento dos níveis de corticosterona circulante, fazendo com que a imunidade humoral seja suprimida e conseqüentemente ocorre uma alteração a nível leucocitário, levando a ave a uma maior suscetibilidade a doenças e a uma queda no crescimento e na produção de ovos (ONBASILAR, 2005).

A fitase é uma enzima exógena que tem sido utilizada como alternativa para aumentar a disponibilidade de minerais, em especial o fósforo (JENDZA et al., 2005). Do ponto de vista comercial as microbianas são consideradas mais promissoras, porém elas podem ser de origem bacteriana (*Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*), fúngicas (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* e *Talaromyces thermophilus*) e de leveduras (*Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha*) (PANDEY et al., 2001). Os aditivos enzimáticos não tem uma função do ponto de vista nutricional, porém, atuam no processo digestivo, fazendo com que a digestibilidade dos nutrientes que estão presentes nas dietas seja mais eficaz (CAMPESTRINI et al., 2005).

O exame hematológico tem uma importante atribuição para o diagnóstico de enfermidade em aves, através do hemograma que se tem informações do estado geral em que o paciente se encontra e permite que o veterinário possa se orientar na investigação da etiologia e patogenia das mais diversas doenças (HARRIS, 2010). Maxwell (1993) e Borges et al. (2003), afirmam que o sistema sanguíneo é especialmente sensível às mudanças de temperatura e é um

importante indicador das respostas a nível fisiológicas das aves referente a agentes causadores de estresse. Alterações quantitativas e morfológicas podem ser observadas nas células sanguíneas, apresentando mudança nos valores de hematócrito, leucócito circulante, eritrócito e hemoglobina. A relação entre heterófilo:linfócito (H:L) é um parâmetro muito eficaz na mensuração do grau de bem-estar em aves (GROSS & SIEGEL, 1983). A alteração dessa relação que tem como consequência do aumento de heterófilo e diminuição de linfócito, tem sido proposta como uma variável sensível ao estresse em aves (MAXWELL, 1993; BORGES, 1997, 2001). Portanto quando a relação H:L está elevada, esta é considerada um indicativo de estresse em aves, e quando se encontra diminuída ou normal é um indicativo de que as aves se encontram bem adaptadas e sem incidência de estresse no organismo, por se mostrar eficiente esse parâmetro tem sido muito utilizado. E o estresse térmico está diretamente ligado a produção e qualidade dos ovos.

Sendo assim, objetivou-se estabelecer os níveis fitase na dieta de codornas de postura; definir a temperatura ideal de criação; analisar os exames hematológicos e identificar o estresse térmico através da relação heterófilo:linfócito.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas câmaras climáticas da Unidade de Pesquisa em Bioclimatologia, Comportamento e Bem-estar Animal, do Departamento de Zootecnia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, em Areia - PB. O protocolo experimental nº 3695120121 foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Foram utilizados um total de 720 codornas japonesas em fase de produção (42 dias), distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x3, foram alojadas 8 aves por gaiola e cada tratamento contou com 6 repetições. Foram inseridos cinco níveis de fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000FTU) na dieta e as codornas foram submetidas a três

faixas de temperatura (24, 30 e 36°C), representando faixas de termoneutralidade e de estresse térmico. Para cada faixa de temperatura, foram analisadas 8 aves de cada um dos 15 tratamentos, totalizando 120 aves. O experimento foi dividido em cinco ciclos de 21 dias, com as codornas em fase de produção, para esta avaliação foram utilizados o segundo (aves com 84 dias) e o quarto ciclo (aves com 126 dias).

As codornas foram alojadas em três câmaras bioclimáticas, com ajustes que permitiram obter e manter as temperaturas avaliadas no estudo, 24, 30 e 36°C. As salas possuíam dimensões de 5,40 m de comprimento por 3,83 m de largura. Cada câmara contou com gaiolas de arame galvanizado, com as dimensões de 47 × 23,5 × 16 cm (comprimento × largura × altura), providas de comedouros tipo calha e bebedouros tipo “*nipple*” adequados à fase de desenvolvimento dos animais. Os comedouros foram abastecidos com as rações experimentais duas vezes ao dia, às 7:00 e às 16:00 horas. Durante o período experimental, as aves receberam ração *ad libitum*.

A temperatura das salas foi controlada por meio de aquecedores acoplados a um termostato elétrico e por meio da utilização de ar-condicionado, dotado de controle automático de temperatura. A renovação e movimentação do ar foram efetuadas por exaustores axiais de parede. As temperaturas e umidades relativas do ar, de cada ensaio experimental, foram monitoradas por termo-higrômetros digitais de máxima e mínima, pela manhã e ao final da tarde. Os sensores de temperatura foram fixados ao nível do centro de massa dos animais, caracterizando o microclima local.

As dietas foram formuladas segundo a recomendação das Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011), variando apenas a suplementação de fitase (Tabela 1). Todas as dietas foram formuladas considerando a redução nos níveis de cálcio e fósforo, avaliando o que a matriz da enzima disponibiliza com 500FTU (0,165% Ca - 0,150% P). Levando em consideração o desenho experimental, as dietas experimentais foram formuladas atendendo as

recomendações sugeridas por Rostagno et al. (2011), contudo, com redução do nível de Ca e P com base na valorização enzimática da fitase avaliada na dose de 500FTU/kg, o que corresponde a 0.165% de Ca e de 0.15% de P. A dieta basal não foi suplementada com fitase. As demais foram suplementadas com 500, 1000 e 3000FTU/kg de ração, em modo on top, em substituição ao inerte.

Para as coletas foi realizado um jejum de 6 horas e foram coletadas amostras de sangue (1ml), por punção da jugular com agulha de 13 x 0,4 mm, na seringa continha EDTA. As amostras foram individualmente armazenadas em tubos de ensaio para as análises hematológicas. Para a contagem e diferencial leucocitário foram utilizados esfregaços sanguíneos, que foram produzidos no momento seguinte a coleta de cada ave.

A leitura das lâminas, foi realizada no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro. Os esfregaços sanguíneos foram corados com a colorações de rotina, Dift-Quick que permitiu a contagem diferencial de leucocitose e análise de eventuais alterações morfológicas.

A contagem total de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, assim como o total de hematócritos foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba, Campus Areia. Para contagem de eritrócitos, leucócitos e trombócitos foi utilizando o sistema Unopette, o método Natt & Herrick, (1952), com solução de azul de toluidina a 0,01%, que é uma das técnicas mais utilizadas para contagem total em câmara de Neubauer, neste método há dificuldade de diferenciar os pequenos linfócitos dos trombócitos (BERNARDINO, 2016). Devido a esse fator se faz necessária a realização da contagem diferencial em esfregaço. Para a determinação do hematócrito foi realizada a técnica de micro-hematócrito como descrito em Rosário et al. (2000).

Para o cálculo da relação H:T, foram utilizados o número total de linfócitos e heterófilos de cada tratamento, dentro de cada ambiente. Calculada através da divisão do número de linfócitos pelo número de heterófilos, o resultado foi expresso como forma de valor decimal.

Para o cálculo dos intervalos de referência e seu intervalo de confiança limites value (90%), foi utilizado o software Reference Value Advisor V 2.1, que é um conjunto gratuito de instruções para calcular o IR com o Microsoft Excel (GEFFRÉ et al., 2011). É importante ter em mente diversos fatores podem influenciar os valores hematológicos, tais como a raça, o tipo de alimentação, a temperatura, a forma de coleta e técnica de avaliação, entre outros aspectos.

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico R versão 4.2, e para as variáveis que apresentaram diferença estatística foram submetidas a análise de regressão para determinação do melhor nível de fitase e teste de Tukey a 5% de significância para as temperaturas das câmaras.

2.1 Variáveis zootécnicas

Aos 15 dias que antecederam o início do experimento foi identificado parcelas completas de 8 animais e diariamente foi feito o registro do total de ovos produzido para obtenção das médias de produção, após tal procedimento as aves foram distribuídas de acordo com a produtividade média e longo em seguida as parcelas foram pesadas e identificadas por tratamento e repetição.

As variáveis de desempenho e qualidade de ovos avaliadas foram: Produção (%), conversão por dúzia de ovo (kg/dz), porcentagem (%) espessura de casca (mm) e gravidade específica (g/cm³).

O período de avaliação de desempenho foi dividido em cinco períodos de 21 dias. Ao final de cada período foram coletadas as sobras das rações de cada parcela para o cálculo do

consumo de ração. A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia (8:00 e 15:00 horas) e anotadas em ficha de frequência de postura e mortalidade para correção dos dados. A produção dos ovos em porcentagem foi calculada dividindo-se a quantidade de ovos totalizados por repetição pelo número de aves, corrigidos pela mortalidade quando houve.

Os ovos dos últimos três dias de cada período foram pesados individualmente para a obtenção do peso médio dos ovos. A conversão por dúzia de ovos foi calculada pela relação entre o consumo de ração dividida pela produção, sendo esse resultado multiplicado por doze.

A espessura da casca foi medida com o auxílio de um micrômetro digital com precisão de 0,1 mm na linha mediana do ovo, essa análise foi realizada após as cascas dos ovos serem secas em estufa de 55°C.

Para avaliar a gravidade específica foram feitas imersões dos ovos em diferentes soluções salinas com os devidos ajustes para um volume de 25 litros de água com densidades que variam de 1,060 a 1,100 com intervalo de 0,0025 g/cm³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi realizado o cálculo do intervalo de referência para as codornas utilizando a aves do tratamento controle (OFTU), para cada uma das temperaturas (24°, 30° e 36°) e esses dados foram utilizados para a avaliação dos parâmetros hematológicos analisados (Tabela 2).

De acordo com os resultados para o hemograma das aves durante o segundo ciclo de postura, pode-se observar interação significativa entre os níveis de fitase e os ambientes térmicos para valores de Leucócitos, Hemoglobina, Hemácias, Linfócitos, Basófilos, Monócitos e para relação Heterofilo:Linfócito ($p < 0,05$).

Foi observado efeito significativo para Leucócitos entre as temperaturas avaliadas no maior nível de inclusão da fitase (3000 FTU), onde a menor valor de leucócitos esteve presente

na temperatura de 36°. Sendo a temperatura uma possível causa da diminuição da imunidade das codornas (Tabela 3). A menor taxa de leucócitos circulantes foi observado no menor nível de inclusão de fitase (500FTU), no ambiente térmico de 30°C. Apesar da maioria dos parâmetros estarem dentro dos valores de referência obtidos neste estudo, exceto LEU (ambiente 24°C, fitase 1500FTU), eritrócitos (ambiente 24°C, fitase 1500/3000FTU e 30°C e fitase 3000FTU) e HG (ambiente 30°C e fitase 500FTU),

Podemos observar que as aves apresentaram comportamentos diferentes para ambientes térmicos e tratamentos específicos, pode-se notar que no ambiente térmico de 24°C para o tratamento 1500FTU/kg de fitase, os valores de leucócitos (33.333 mm^3) estão significativamente acima do valor de referência ($2.800 - 24.200 \text{ mm}^3$). Com tudo, apesar dos leucócitos estarem acima dos valores de referência, podemos perceber que as aves não apresentaram estresse térmico quando se relaciona ao cálculo da relação heterófilo:linfócito.

No entanto, nas temperaturas mais altas podemos perceber que os animais apresentaram leucograma de estresse, com destaque para o ambiente de 36°C, na qual as aves apresentaram números maiores de heterófilos circulantes.

Os níveis de HG diferiram significativamente apenas nas codornas que foram alimentadas com a dieta contendo a adição de 500FTU, sendo os maiores valores médios para hemoglobina apresentados pelas aves que estiveram no ambiente térmico de 30°C. Contudo, todos os valores se mantiveram dentro do intervalo de referência para essas aves. A concentração da HG é importante na determinação da capacidade de oxigenação tissular que se utiliza nos seres vivos (CHARLES NORIEGA, 2000), assim como, é importante na classificação de um processo anêmico (STURKIE, 1976), o que não foi constatado em nenhum tratamento. O valor da HG também pode ser utilizado para avaliação do estado nutricional da ave, e a manutenção dos seus valores no intervalo de referência é uma variável para percepção da boa nutrição dessas aves.

A concentração de eritrócitos também foi maior no ambiente de 30°C, quando as codornas receberam a maior dosagem de fitase na dieta, assemelhando-se, porém, quando houve a adição de 500 e 1000FTU. Os eritrócitos mantiveram-se todos dentro dos valores normais, excluindo qualquer suspeita de anemia nas codornas. Uma vez que a contagem total de eritrócitos permite a análise mais detalhada da presença ou ausência de anemia ou de hemoconcentração (CHARLES NORIEGA, 2000).

A presença de LYM foi maior nas aves que estiveram submetidas ao ambiente de conforto térmico (24°C), independente dos níveis da enzima fitase. Essa presença reduziu linearmente à medida que as temperaturas aumentaram.

Comportamento semelhante ocorreu com a presença de EOS, BASO e MONO, onde pode-se verificar que o ambiente de 30°C proporcionou os maiores valores médios em relação aos demais ambientes térmicos avaliados neste estudo ($p < 0,05$), independente do aumento da fitase. Quanto a HET, podemos observar que os maiores valores foram encontrados no ambiente de 36°, o que está diretamente ligado ao fato de que os HET circulantes aumentam como consequência da exposição ao estresse.

Houve interação significativa na relação H:L, onde pode-se observar que as aves alojadas no ambiente térmico de 24°C apresentaram uma menor relação H:L, independente dos níveis de fitase. Dados que corroboram com os valores de EC, onde na temperatura de 24°C as aves apresentaram uma melhor espessura de casca, porém o melhor desempenho relacionado a produção total de ovos foi melhor nas aves que estavam a no ambiente 30°C.

Por outro lado, as aves que foram submetidas ao estresse mais severo (36°C), apresentaram os maiores valores médios para a relação H:L, conforme nos mostra a equação de regressão linear: $y = 0,0002x + 1,8498$ ($r^2=80\%$) (Figura 1). As aves que estiveram alojadas nos ambientes de 36° apresentaram menor PRO e GE, no que diz respeito a EC e CADZ os

menores valores foram encontrados no ambiente de 30°, tais parâmetros estão ligados diretamente ao estresse térmico.

Segundo Araújo et al. (2007) as codornas em fase de postura, que foram mantidas sob estresse térmico, alta temperatura (32°C), não sofreram influência em relação a conversão alimentar por dúzia de ovos. No presente estudo, podemos observar que as aves foram influenciadas pela temperatura em relação aos parâmetros CDAZ, a PRO a temperatura de 30°C, independente do nível de fitase, foi a que apresentou o melhor rendimento (Tabela 3). Contudo as codornas que estavam alojadas no ambiente de 36°C e com nível de fitase de 1500FTU/Kg na dieta apresentaram maior valor no que diz respeito a EC. No ambiente de 30°C a melhor EC apresentada foi na inclusão de 1000FTU de fitase.

Para variável PRO, os melhores valores se encontram no ambiente de 30°C, sendo a inclusão de 1000FTU a que obteve melhor resposta. Quanto a GE não houve variação significativa para ambiente ou nível de fitase incluída na dieta. Para CADZ, destaca-se o ambiente de 24° e a inclusão de 3000FTU/kg, que foi resultado mais alto para o parâmetro. Dessa maneira acredite-se que a dose de 3000FTU atuou diminuindo os efeitos deletérios causados pelo estresse por calor e conseqüentemente liberou uma maior quantidade de P e Ca o que promoveu uma melhor qualidade da casca de ovo.

A relação H:L é utilizada para avaliação de estresse em aves, portanto quanto maior essa relação, mais provável da ave estar em estresse, e se torna mais confiável quando avaliada em conjunto com os valores de MONO. Uma vez que em situações de estresse em aves, ocorre um aumento dos monócitos e também dos eosinófilos circulantes, e concomitantemente as aves apresentam leucopenia e linfopenia, dessa maneira apresentam uma maior susceptibilidade a doenças (MARCHINI et al., 2011). Alguns estudos com frangos determinam que a relação H:L foi mais confiável para avaliar o estresse fisiológico do que a mensuração dos corticosteróides (GROSS e SIEGEL, 1983).

Os demais parâmetros, HT, PLQ e NEU, se mantiveram dentro dos valores de referência e não apresentaram diferença significativa no que diz respeito a ambiente e temperatura.

Quanto aos resultados hematológicos referentes ao quarto ciclo de postura, podemos observar que houve efeito significativo ($p < 0,05$) para HT, Eritrócitos, LYM, EOS e MONO (Tabela 5).

Houve efeito significativo para os valores médios de HT nos ambientes avaliados neste estudo, sendo os menores valores médios ($p < 0,05$) encontrados nas aves que foram alojadas nos ambientes considerados de estresse por calor (30°C e 36°C), mesmo estando dentro do intervalo de referência, essa diminuição pode estar relacionada com a presença de policromasia observada nos eritrócitos. Os maiores valores médios foram do ambiente de 24°C, onde as aves estavam expostas ao ambiente de termoneutralidade. Os valores de HT para os dois ciclos apresentaram baixa variação entre si.

As codornas que foram alimentadas com dietas com maiores níveis de fitase (1500 e 3000FTU/Kg) não apresentaram diferença para eritrócitos entre si, independente do ambiente térmico. Entretanto, a diferença entre os dois ciclos foi bastante significativa para todos os tratamentos e temperaturas. Os valores se apresentaram acima do intervalo de referência, e mais elevados no quarto ciclo em relação ao segundo. Devido a alta sensibilidade do sistema sanguíneo frente as mudanças de temperatura, este se torna um importante indicador das respostas fisiológicas da ave mediante a agentes estressores (BORGES et al., 2003).

A alteração na quantidade de eritrócitos entre os dois ciclos de postura pode caracterizar uma adaptação das aves às temperaturas do experimento, uma vez que quanto maior o número de eritrócitos, maior é o transporte de oxigênio. Os eritrócitos possuem um tempo de vida mais curto comparado ao dos mamíferos, portanto a eritropoiese é mais intensa, sendo controlada pelos níveis de eritropoietina, que é produzida nos rins, através dos estímulos de oxigênio sanguíneo e níveis de hormônios estrogênios e androgênios (VILA, 2013).

As aves que receberam dieta com a inclusão de 1000FTU apresentaram efeito significativo, sendo os ambientes de 24°C e de 30°C, os que proporcionaram menores valores de plaquetas, entretanto nesse mesmo tratamento podemos observar que na temperatura de 36° as aves apresentaram o maior valor de plaquetas. O valor de HET, assim como no segundo ciclo de postura seguem aumentados na temperatura de 36°, contudo o valor no quarto ciclo apresentou menores valores em relação ao segundo ciclo. Esses valores podem estar ligados diretamente ligados a adaptação dessas aves aos ambientes em que elas se encontram.

O ambiente de conforto térmico (24°C) refletiu em maiores valores médios de LYM, independente dos níveis da enzima fitase incluídos na dieta. Em contraponto, houve uma redução nestes valores no ambiente de maior temperatura. Com a diminuição do número de LYM, o sistema imune se torna deficiente, deixando as aves mais suscetíveis às doenças (MARCHINI et al., 2011). As temperaturas ambientais elevadas podem desencadear alterações fisiológicas e comportamentais, o que pode resultar na redução da taxa de crescimento, no consumo e aproveitamento da ração, no aumento da ingestão de água, taquicardia, taquipneia, imunossupressão e alterações hematológicas (EL-KHOLY et al., 2017).

As aves alimentadas com superdosagens de fitase (1500 e 3000FTU) apresentaram diferenças significativas para a presença de EOS entre si. Ao serem alimentadas com a dieta contendo 1500FTU à temperatura de 36°C, houve uma diminuição dessas células, e comportamento contrário ocorreu nas aves que receberam o maior nível de fitase (3000FTU/Kg) na dieta. Como podemos observar os valores se encontram dentro dos valores de referência, não sendo clinicamente significantes.

Os maiores valores para MONO foram verificados nos ambientes de 30°C (0FTU/Kg) e 24°C (3000FTU/kg). No entanto, entre as temperaturas não houveram diferenças significativas, porém no que diz respeito a inclusão de fitase na dieta o valor mais baixo esteve presente na inclusão de 1000FTU/Kg e o maior em 3000FTU/Kg. Sabe-se que sob condições

de estresse, as aves tem sua hematopoiese comprometida, e que devido a isso ocorre um aumento de EOS e MONO circulantes devido à leucopenia e linfopenia (FRANZINI et al., 2022). Desta forma, observamos que ocorreu um aumento de MONO no segundo ciclo em relação ao quarto, acreditamos que devido as aves estarem com o organismo mais adaptado às temperaturas em que estavam sendo submetidas.

A relação H:L teve efeito significativo para as temperaturas avaliadas ($<0,05$), no quarto ciclo a maior relação H:L foi verificada na maior temperatura (36°C), enquanto os menores valores foram observados no ambiente de conforto térmico (24°C). Dessa forma podemos verificar que os maiores níveis de estresse foram observados nas temperaturas mais elevadas, consideradas temperaturas fora da faixa de conforto térmico. Esses dados corroboram o estudo de Silveira et al. (2011), onde os maiores valores da relação H:L estão relacionadas das temperaturas que se apresentam fora da faixa de conforto térmico para codornas. Contudo os valores da relação H:L caíram no quarto ciclo em relação ao segundo, caracterizando uma possível diminuição do estresse térmico ao longo dos dias devido a adaptação das codornas as temperaturas que se encontram fora da faixa de termorregularidade.

Para os demais parâmetros, LEU, HG, BASO e NEU, não houve alteração significativa entre os tratamentos e os ambientes dentro deste presente ciclo. E quando comparamos entre os dois podemos observar que em relação a LEU e a BASO, houve uma diminuição entre o segundo e o quarto ciclos, e em relação a HG e NEU houve um discreto aumento no quarto ciclo em relação ao segundo.

3. CONCLUSÃO

Podemos concluir que o melhor nível de fitase na dieta foi o de 1500FTU/Kg, a melhor temperatura diante dos resultados o melhor ambiente foi o de 30°C , pois não houve interferência

na produtividade. Diante dos exames hematológicos foi possível observar que a temperatura influencia na celularidade, especificamente nos leucócitos e que quanto maior foi a temperatura consequentemente a relação H:L subiu, o que é um sinal de estresse.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES-Brasil pela bolsa de Mestrado (Maia, A.) e ao CNPq-Brasil pelo financiamento da pesquisa por meio do Edital nº 09/2020 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa – PQ, nº 309318/2020-3 (Guerra, R. R.).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Todos os autores declaram que não há conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O protocolo experimental nº 3695120121 foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Referências

BERNARDINO, M. G. S. Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências agrárias avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de codornas japonesas (coturnix coturnix) em diferentes faixas etárias. [s.l: s.n.]. Disponível em:<<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/15363/1/DV018.pdf>>. Acesso em: 02 nov 2022.

BORGES, S. A. **Suplementação de cloreto de potássio e bicarbonato de sódio para frangos de corte durante o verão.** 1997. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, SP, 1997.

BORGES, S. A. **Balço eletrolítico e sua inter-relação com o equilíbrio ácido-base em frangos de corte submetidos a estresse calórico.** 2001. 97 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. DA. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975–981, out. 2003.

CAMPESTRINI, E., SILVA, V.T.M. e APPELT, M.D. 2005. **Utilização de enzimas na alimentação animal.** Revista Eletrônica Nutritime, v.2, n°6, p.259-272, nov./dez. 2005.

CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de roperties aviar: material didático para curso de hematologia aviária.** Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. México, 2000. 70p.

EL-KHOLY, M. S. et al. Dietary Supplementation of Chromium Can Alleviate Negative Impacts of Heat Stress on Performance, Carcass Yield, and Some Blood Hematology and Chemistry Indices of Growing Japanese Quail. **Biological Trace Element Research**, v. 179, n. 1, p. 148–157, 17 jan. 2017.

FRANZINI, B. D. et al. Indicadores sanguíneos hematológicos e hormonais do estresse na avicultura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e16111326303–e16111326303, 16 fev. 2022.

- GEFFRÉ, A. et al. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 1, p. 107–112, 7 fev. 2011.
- GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of proper heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, v.27, n.4, p. 972-979, 1983.
- HARRIS, D. J. Testes clínicos. TULLY, T. N.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A. K. Handbook of avian medicine. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2009.
- JENDZA, J. A. et al. Escherichia coli phytase improves growth performance of starter, grower, and finisher pigs fed phosphorus-deficient diets 1. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 8, p. 1882–1889, 1 ago. 2005.
- MARCHINI, C. F. P., NASCIMENTO, M. R. B. M. & SILVA, P. L., GUIMARÃES, E. C. (2011). Parâmetros hematológicos de frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada. In: XXII Latin American Poultry Congress. Disponível em: <[\(PDF\) Parâmetros hematológicos de frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada \(researchgate.net\)](#)>. Acesso em: 06 de junho de 2023.
- MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **Worlds Poultry Science Journal**, v. 49, n. 1, p. 34–43, 1 mar. 1993.
- MOTA, J. K. M. **Influência ambiental no desenvolvimento e produção de ovos de codorna**. 2013. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Tecnologia e Recursos Naturais; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2013.
- ONBAŞILAR, E. E.; AKSOY, F. T. Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. **Livestock Production Science**, v. 95, n. 3, p. 255–263, ago. 2005.

PANDEY, A. et al. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 3, p. 203–214, maio 2001.

ROSÁRIO, M. et al. Influência do Genótipo e do Sexo Sobre o Valor Hematócrito em Galinhas Reprodutoras Pesadas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 3, p. 281–286, set. 2000.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**, v. 2, p. 186, 2011.

SILVEIRA, G. et al. **Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico**. v. 41, n. 9, p. 1605–1610, 26 ago. 2011.

STURKIE, P. D.; GRIMINGER, P. Blood: physical characteristics, formed elements, hemoglobin, and coagulation. **Avian physiology**, p. 53-75, 1976.

VILA, L.G. (2013). **Hematologia em aves: revisão de literatura**. Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG. Goiânia. Disponível em: <[2013_Laura_Garcia_Seminario1corrig.pdf\(ufg.br\)](#)>. Acesso em: 10 de março de 2023.

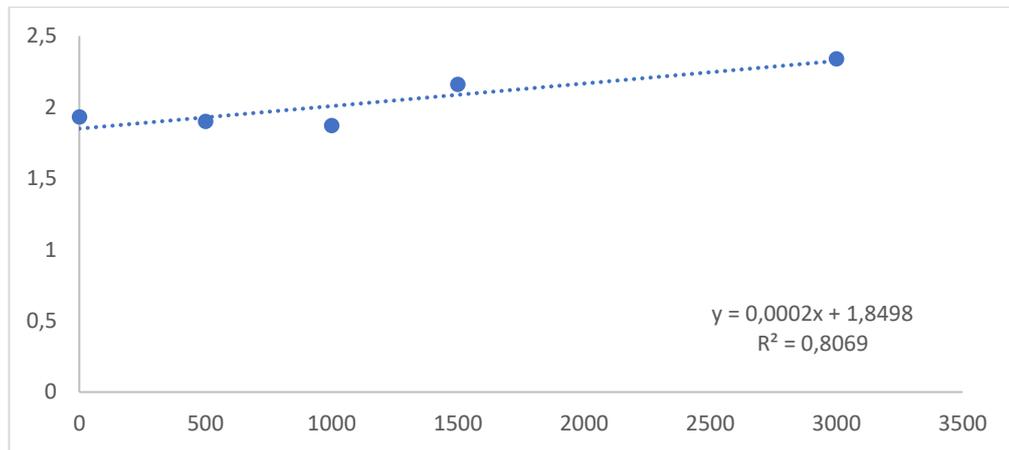


Figura 1. Relação heterófilo:linfócito de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 36°C.

Tabela 1 - Dietas experimentais, contendo cinco níveis de Fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000 FTU/kg) e redução nos níveis de fósforo e cálcio levando em consideração a matriz de 500 FTU da enzima, para codornas japonesas na fase de postura

Tratamentos		T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Milho Grão - 7,88%	kg	59,720	59,720	59,720	59,720	59,720
Soja Farelo 45,22%	kg	30,518	30,518	30,518	30,518	30,518
Óleo de Soja	kg	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667
DL-Metionina	kg	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398
L-Lisina HCL	kg	0,265	0,265	0,265	0,265	0,265
L-Treonina	kg	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
Calcário	kg	7,437	7,437	7,437	7,437	7,437
Fosfato Bicálcio 18,5%	kg	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sal	kg	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345
Premix Mineral ¹	kg	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix Vitaminico ²	kg	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Colina	kg	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
Antioxidante ³	kg	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Inerte	kg	0,060	0,050	0,040	0,030	0,000
Fitase	kg	0,000	0,010	0,020	0,030	0,060
Total	kg	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
		T1	T2	T3	T4	T5
Nutrientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Fitase	FTU/kg	0	500	1000	1500	3000
Energia Metabolizável	kcal/kg	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000
Proteína Bruta	%	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000
Metionina Dig. Aves	%	0,647	0,647	0,647	0,647	0,647
Met+Cis. Dig. Aves	%	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908
Lisina Dig. Aves	%	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107
Treonina Dig. Aves	%	0,675	0,675	0,675	0,675	0,675
Triptofano Dig. Aves	%	0,207	0,207	0,207	0,207	0,207
Valina Dig. Aves	%	0,798	0,798	0,798	0,798	0,798
Cálcio	%	2,993	2,993	2,993	2,993	2,993
Fósforo Total	%	0,394	0,394	0,394	0,394	0,394
Fósforo Disponível	%	0,177	0,177	0,177	0,177	0,177
Potássio	%	0,732	0,732	0,732	0,732	0,732
Sódio	%	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Cloro	%	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319
Número de Mogin	mEq/kg	164,590	164,590	164,590	164,590	164,590

¹Premix Vitaminico (concentração/kg de produto): Vit. A - 15 mil UI, Vit. D3 - 1,500,000 UI. Vit. E - 15000; Vit.B1 - 2.0 g, Vit. B2 - 4.0 g Vit. B6 - 3.0 g, Vit. B12 - 0015 g, ácido nicotínico - 25 g, ácido pantoténico - 10 g; Vit.K3 - 3.0 g, ácido fólico - 1.0 g; ²Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn - 60 g, Fe - 80 g, Zn - 50 g, Cu - 10 g, Co - 2 g, I - 1 g e Se - 250 mg; ³Antioxidante = BHT = 100 g/ton; Quantidade suficiente para 1000 g de veículos.

Tabela 2. Valores de referência de codornas japonesas sob diferentes temperaturas, referência calculada com as aves dos grupos controles do presente experimento

Parâmetros	24°C	30°C	36°C
HT (%)	30.9 - 49.5	29.0 - 42.6	28.7 - 45.7
LEU (mm ³)	2.800 - 24.200	6.800 - 20.500	8.900 - 25.700
HG (g/dL)	5.0 - 10.4	5.6 - 9.4	5.5 - 10.3
Eritrócitos (mm ³)	505.200 - 995.500	390.000 - 1.114,000	255.000 - 1.095,000
PLQ (mm ³)	8.000 - 46.900	7.700 - 45.500	8.600 - 24.400
HET (%)	18.9 - 43.4	31.3 - 47.0	36.6 - 59.8
LYM (%)	42.1 - 65.7	21.2 - 52.0	18.3 - 40.1
EOS (%)	< 2.8	< 4.1	< 5.2
BASO (%)	*	< 3.1	8.0 - 29.8
MONO (%)	< 4.5	0.2 - 28.9	0.0 - 15.6
NEU (%)	3.3 - 34.1	1.7 - 23.9	8.2 - 34.1
H:L	0.4 - 1.0	0.7 - 1.7	1.0 - 2.7

O método estatístico foi uma análise do software Reference Value Advisor V 2.1, para Hematócritos (HT), Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET), Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Basófilos (BASO), Monócitos (MONO), Neutrófilos (NEU) e relação heterófilo:linfócito (H:L).

Tabela 3. Hematócritos (HT), Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET), Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Basófilos (BASO), Monócitos (MONO), Neutrófilos (NEU) e relação heterófilo:linfócito (H:L), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
HT (%)	24°C	37,30	36,83	34,00	36,75	37,58	36,49					
	30°C	35,25	37,58	35,25	37,30	38,33	36,74	L*0,04	6,02	0,06	0,02	0,15
	36°C	36,90	36,83	37,90	39,67	37,83	37,83					
	Média	36,48	37,08	35,72	37,90	37,92						
LEU (mm ³)	24°C	15.437A	14.250A	13.500A	33.333A	22.895A	19.883	L*0,00				
	30°C	11.000B	9.541B	13.583A	11.041B	19.812A	12.995	L*0,00	3,00	<.00	0,00	<.00
	36°C	13.812B	15.500A	13.312A	11.645B	13.208A	13.495	NS				
	Média	13.416	13.097	13.465	18.673	18.638						
HG (g/dL)	24°C	7,33A	8,17AB	7,27A	7,49A	7,75A	7,60	NS				
	30°C	7,28A	9,44A	8,15A	7,37A	7,65A	7,98	NS	9,96	0,18	0,01	0,01
	36°C	8,49A	7,66B	7,67A	7,33A	7,78A	7,79	Q*0,03				
	Média	7,703	8,424	7,699	7,397	7,727						
ERIT (mm ³)	24°C	757A	893A	687A	1.442A	1.000B	956,00	Q*0,04				
	30°C	638AB	757A	766A	795B	1.690A	929,33	Q*0,01	1,94	<.00	<.00	<.00
	36°C	579B	670A	642A	612B	797B	659,83	NS				
	Média	658,33	773,61	698,05	949,72	1.162,22						
PLQ (mm ³)	24°C	18.833	24.666	19.666	29.750	19.583	22.500A					
	30°C	24.666	20.416	16.166	26.416	30.416	23.616A	L*0,02	2,96	0,04	0,01	0,06
	36°C	15.666	20.000	17.583	18.916	23.416	19.116A					
	Média	19.722	21.694	17.805	25.027	24.472						
HET (%)	24°C	36,50	38,83	37,58	36,13	37,42	37,29C					
	30°C	37,00	40,00	42,00	41,92	41,80	40,54B	NS	6,73	<.00	0,00	0,05
	36°C	48,92	53,40	53,50	55,10	57,60	53,70A					
	Média	40,81	44,08	44,36	44,38	45,61						
LYM (%)	24°C	46,75A	46,50A	44,60A	45,00A	47,30A	46,03	NS				
	30°C	31,17B	35,08B	34,00B	35,08B	34,10B	33,89	Q*0,05	7,48	<.00	0,14	0,02
	36°C	25,60C	28,80C	28,83C	25,60C	24,67C	26,70	NS				
	Média	34,51	36,79	35,81	35,23	35,36						
EOS (%)	24°C	0,58A	0,08B	0,92AB	1,50A	0,33A	0,68	L*				
	30°C	2,25A	2,58A	2,00A	1,25A	0,83A	1,78	L*	NS	0,00	0,00	0,00
	36°C	2,25A	1,67A	0,50B	0,17B	0,50A	1,02	L*				
	Média	1,69	1,44	1,14	0,97	0,56						
	24°C	0,00B	0,08B	0,33A	0,75A	0,25B	0,28	L*	NS	0,00	0,00	0,00

BASO (%)	30°C	1,67A	1,75A	1,17A	0,75A	0,83A	1,23					
	36°C	1,25A	1,00A	0,50A	0,08B	0,17B	0,60					
	Média	0,97	0,94	0,67	0,53	0,42						
MONO (%)	24°C	1,92B	1,83AB	2,67A	1,42B	1,67A	1,90					
	30°C	10,67A	7,75A	6,50A	6,33A	3,00A	6,85	NS	NS	0,00	0,70	0,02
	36°C	7,00AB	1,00B	2,83A	3,08AB	2,83A	3,35					
	Média	6,53	3,53	4,00	3,61	2,50						
NEU (%)	24°C	15,75	13,75	14,83	13,9	13,3	14,31					
	30°C	15,13	13,5	14,33	14,5	13,17	14,12	L*0,01	11,21	0,17	0,03	0,5
	36°C	12,75	13,4	14,25	14,7	12,4	13,5					
	Média	14,54	13,55	14,47	14,37	12,96						
H:L	24°C	0,78C	0,84B	0,85C	0,80C	0,79C	0,81	NS				
	30°C	1,21B	1,15B	1,24B	1,20B	1,22B	1,20	NS 11,97 <.00 0,03 0,00				
	36°C	1,93A	1,90A	1,87A	2,16A	2,34A	2,04	L*<.00				
	Média	1,31	1,29	1,32	1,38	1,45						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela 4. Valores médios de espessura de casca (EC), Produção total de ovos (PRO), Gravidade específica (GE) e Conversão por dúzia de ovos (CADZ), de codornas japonesas alimentadas com doses de fitase e submetidas a três temperaturas diferentes.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	CV, %	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000					
EC (mm)	24°C	0,43A	0,41A	0,41A	0,40B	0,41A	0,41	3,60	0,12	0,03	<0.00
	30°C	0,40B	0,39A	0,41A	0,40B	0,41A	0,40				
	36°C	0,39b	0,40A	0,39A	0,44A	0,41A	0,41				
	Média	0,41	0,40	0,40	0,41	0,41					
	Efeito	NS									
PRO (%)	24°C	66,01	66,75	68,07	70,07	65,36	67,25B	11,67	<0.00	0,76	0,93
	30°C	80,55	76,30	82,28	80,74	77,12	79,40A				
	36°C	66,38	64,94	64,31	61,51	62,57	63,94B				
	Média	70,98	69,33	71,55	70,77	68,35					
	Efeito	NS									
GE, mg/cm ³	24°C	1,08	1,08	1,07	1,08	1,08	1,08	1,02	0,44	0,75	0,22
	30°C	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08	1,08				
	36°C	1,07	1,08	1,08	1,08	1,08	1,07				
	Média	1,07	1,08	1,07	1,08	1,08					
	Efeito	NS									
CADZ, Kg/dúzia	24°C	0,36	0,36	0,36	0,35	0,38	0,36A	13,81	<.00	0,71	0,79
	30°C	0,30	0,32	0,30	0,31	0,31	0,31B				
	36°C	0,28	0,32	0,33	0,34	0,32	0,32B				
	Média	0,32	0,33	0,33	0,33	0,34					
	Efeito	NS									

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 5. Hematócritos (HT), Leucócitos (LEU), Hemoglobinas (HG), Eritrócitos, Plaquetas (PLQ), Heterófilos (HET), Linfócitos (LYM), Eosinófilos (EOS), Basófilos (BASO), Monócitos (MONO), Neutrófilos (NEU) e relação heterófilo:linfócito (H:L), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
HT (%)	24°C	38,25	41,90	40,40	41,80	40,13	40,49A	NS	6,72	0,01	0,12	0,73
	30°C	37,40	38,50	38,67	38,50	38,00	38,21B					
	36°C	38,00	40,40	37,90	38,60	40,33	39,05AB					
	Média	37,88	40,27	38,99	39,63	39,49						
LEU (mm ³)	24°C	11.125	8.708	7.333	9.666	12.416	9.850	Q*0,01	3,51	0,96	0,00	0,23
	30°C	12.833	10.125	8.166	9.666	8.916	9.941					
	36°C	13.625	8.875	8.416	11.291	7.900	10.021					
	Média	12.527	9.236	7.972	10.208	9.744						
HG (g/dL)	24°C	8,22	8,26	7,92	8,56	8,12	8,21	NS	7,80	0,76	0,15	0,89
	30°C	7,80	8,27	8,19	8,63	8,37	8,25					
	36°C	8,03	8,18	8,36	8,51	8,63	8,34					
	Média	8,01	8,24	8,16	8,57	8,37						
ERIT (mm ³)	24°C	1.177A	1.314A	1.275AB	1.379A	1.212A	1.272	NS	1,78	0,07	0,27	0,04
	30°C	1.221A	1.079A	1.087B	1.257A	1.333A	1.195					
	36°C	1.074A	1.266A	2.079A	1.367A	1.335A	1.424					
	Média	1.157	1.220	1.480	1.334	1.294						
PLQ (mm ³)	24°C	28.166A	23.000A	21.333AB	20.000A	23.583A	23.216	Q*0,03	2,70	0,01	0,04	0,00
	30°C	19.500AB	16.416AB	17.750B	18.916A	23.833A	19.283					
	36°C	14.583B	14.333B	29.666A	22.416A	19.100A	20.020					
	Média	20.750	17.916	22.916	20.444	22.172						
HET (%)	24°C	33,30	31,92	31,42	30,83	34,33	32,36C	NS	8,38	<.00	0,53	0,28
	30°C	40,58	41,75	44,00	45,83	44,42	43,32B					
	36°C	48,92	49,10	49,70	48,50	49,42	49,10A					
	Média	40,933	40,922	41,706	41,722	42,722						
LYM (%)	24°C	53,10A	52,92A	56,67A	56,00A	52,30A	54,20	Q*0,01	7,95	<.00	0,03	0,04
	30°C	41,50B	43,83B	41,58B	38,70B	38,67B	40,86					
	36°C	31,33C	30,67C	27,92C	26,67C	26,80C	28,68					
	Média	41,98	42,47	42,06	40,46	39,26						
EOS (%)	24°C	1,00A	1,00A	0,75A	0,87A	0,62B	0,85	L*	NS	0,00	0,00	0,00
	30°C	1,37A	0,87A	0,87A	1,50A	2,12A	1,35					
	36°C	0,75A	0,43A	0,62A	0,00B	1,00AB	0,56					
	Média	1,04	0,77	0,75	0,79	1,25						
BASO (%)	24°C	0,00	0,37	0,12	0,12	0,00	0,12A	NS	NS	0,89	0,96	0,94
	30°C	0,50	0,37	0,25	0,37	0,12	0,32A					
	36°C	0,12	0,57	0,25	0,25	0,12	0,26A					
	Média	0,21A	0,44A	0,21A	0,25A	0,08A						

MONO (%)	24°C	1,25B	1,50AB	1,00A	1,62B	2,25A	1,52	L*					
	30°C	2,62A	1,62A	1,12A	1,75A	1,50A	1,72	L*	NS	0,00	0,01	0,00	
	36°C	1,00B	1,29B	0,75A	1,50B	1,62A	1,23	L*					
	Média	1,62	1,47	0,96	1,62	1,79							
NEU (%)	24°C	10,00	14,83	12,33	11,67	12,33	12,23C						
	30°C	15,30	14,13	14,13	14,17	15,5	14,64B	NS	14,16	<.00	0,67	0,07	
	36°C	16,75	14,50	16,88	17,17	17,67	16,59A						
	Média	14,02	14,49	14,44	14,33	15,17							
H:L	24°C	0,63	0,61	0,56	0,55	0,67	0,60C						
	30°C	0,99	0,96	1,06	1,2	1,15	1,07B	NS	13,2	<.00	0,00	0,11	
	36°C	1,59	1,58	1,79	1,82	1,85	1,73A						
	Média	1,07	1,05	1,13	1,19	1,22							

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 CAPÍTULO I – BIOCHEMICAL EVALUATION IN LAYING QUAILS WITH DIET CONTAINING PHYTASE OVERDOSAGE UNDER DIFFERENT THERMAL CONDITIONS²

AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE CODORNAS DE POSTURA COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES DOSES DE FITASE EM DIFERENTES CONDIÇÕES TÉRMICAS

Amana Fernandes Maia¹ Luiz Arthur dos Anjos Lima Edilson Paes Saraiva

Felisbina Luisa Pereira Guedes Queiroga Fernando Guilherme Perrazo Costa

Ana Cristina Silvestre Ferreira Ricardo Romão Guerra

RESUMO

Este estudo teve como objetivo, estabelecer os níveis de fitase mais indicados na dieta de codornas de postura da linhagem (*Coturnix japonica*), em diferentes temperaturas, considerando os níveis de cálcio e fósforo no sangue e a alterações a nível renal e hepático nas aves. As amostras coletadas neste estudo foram centrifugadas, após 30 minutos da coleta, para obtenção do soro e congeladas até o processamento foram utilizados cinco grupos para cada temperatura, onde um grupo foi o controle e os demais receberam diferentes doses de fitase incluídas na dieta. Para tal, foram avaliados os seguintes parâmetros: GGT, ALT, AST, Fosfatase Alcalina, Fósforo, Cálcio, Ureia, CK e Ácido úrico. Quanto aos resultados de cálcio e fósforo, observou-se que o cálcio esteve mais baixo no quarto ciclo de postura em relação ao segundo ciclo e o fósforo no segundo ciclo nas médias de ambientes apenas o ambiente de 24°C

² Artigo submetido à revista Ciência Rural

ele se manteve dentro do intervalo de referência, já no quarto ciclo apenas 3 tratamentos se mantiveram dentro dos valores normais para espécie (24°C/1500FTU; 36°C/1500FTU; 36°C/3000FTU). E concluiu-se que a adição da enzima fitase nos níveis 1500FTU e 3000FTU proporcionaram melhores resultados em relação a níveis de Ca e P, contribuiu para que a produção fosse mantida, auxiliando assim o organismo a se manter estável.

Palavras-Chave: ambiente térmico; aves; patologia clínica.

ABSTRACT

This study aimed to establish the most suitable phytase levels in the diet of laying quails of the lineage (*Coturnix japonica*), at different temperatures, considering the levels of calcium and phosphorus in the blood and changes in the kidneys and liver in the birds. The samples collected in this study were centrifuged 30 minutes after collection to obtain serum and frozen until processing, five groups were used for each temperature, where one group was the control and the others received different doses of phytase included in the diet. For this, the following parameters were evaluated: GGT, ALT, AST, Alkaline Phosphatase, Phosphorus, Calcium, Urea, CK and Uric Acid. As for the results of calcium and phosphorus, it was observed that calcium was lower in the fourth laying cycle compared to the second cycle and phosphorus in the second cycle in the environment averages, only the 24°C environment remained within the reference range, while in the fourth cycle only 3 treatments remained within the normal values for the species (24°C/1500FTU; 36°C/1500FTU; 36°C/3000FTU). And it was concluded that the addition of the enzyme phytase at levels 1500FTU and 3000FTU provided better results in relation to levels of Ca and P, contributed to the maintenance of production, thus helping the organism to remain stable.

Keywords: thermal environment; poultry; clinical pathology.

1. INTRODUÇÃO

Codornas (*Coturnix japonica*) são aves domésticas destinadas a produção que podem apresentar duas habilidades, produção de carne e produção de ovos. São consideradas animais homeotérmicos, pois possuem a habilidade de manter a temperatura corporal relativamente constante, mesmo diante de variações ambientais.

A criação de codornas, coturnicultura, tem se destacado como meio de produção rentável e tem obtido destaque no setor produtivo, devido a modernização da criação, ao potencial produtivo das aves e baixa exigência do sistema de produção, como por exemplo a pequena demanda de espaço para criação e por apresentarem maturidade sexual precoce, o que implica no rápido retorno financeiro. No entanto, é necessário que haja uma atenção sobre o grau de bem-estar dessas aves, uma vez que isso implica diretamente na produtividade (MOTA, 2013).

A temperatura e a umidade relativa de ar são fatores ambientais que estão diretamente ligadas ao bem-estar das aves, e são variáveis que podem interferir diretamente sobre o desempenho produtivo quando estes animais são criados em ambientes de altas temperaturas.

A nutrição é um fator muito importante na criação de codornas, tendo em vista que é a parte que afeta diretamente os custos de produção, devido a ração para codornas conterem mais proteína, cálcio e fósforo em sua composição do que as rações para frangos e poedeiras (SILVA et al., 2012).

Assim, o uso da enzima fitase atua aumentando a disponibilidade do cálcio e fósforo presente nas moléculas de fitato dos grãos e dessa maneira realizar a redução do uso de cálcio e fosforo na ração, ajudando diretamente na redução de custos ao produtor (CROMWELL, 1979; CORLEY et al., 1980).

O cálcio e o fósforo, são nutrientes importantes para o desenvolvimento ósseo dos animais e o fornecimento desses minerais assegura a boa qualidade de estrutura óssea. Para os

animais com habilidade de postura, são também imprescindíveis para a qualidade da casca dos ovos (CABRAL et al., 1999).

Objetivou-se com o presente estudo, avaliar as alterações nos níveis plasmáticos de cálcio e fósforo e as alterações a nível renal e hepático de codornas em postura com dietas com diferentes doses de fitase e submetidas a estresse térmico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas câmaras climáticas da Unidade de Pesquisa em Bioclimatologia, Comportamento e Bem-estar Animal, do Departamento de Zootecnia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, em Areia - PB. O protocolo experimental nº 3695120121 foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Foram utilizados um total de 720 codornas japonesas em fase de produção (42 dias), distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x3, foram alojadas 8 aves por gaiola e cada tratamento contou com 6 repetições. Foram inseridos cinco níveis de fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000FTU) na dieta e as codornas foram submetidas a três faixas de temperatura (24, 30 e 36°C), representando faixas de termoneutralidade e de estresse térmico. Para cada faixa de temperatura, foram analisadas 8 aves de cada um dos 15 tratamentos, totalizando 120 aves.

O experimento foi dividido em cinco ciclos de 21 dias, com as codornas em fase de produção, para esta avaliação foram utilizados o segundo (aves com 84 dias) e o quarto ciclo (aves com 126 dias).

As codornas foram alojadas em três câmaras bioclimáticas, com ajustes que permitiram obter e manter as temperaturas avaliadas no estudo, 24, 30 e 36°C. As salas possuíam dimensões de 5,40 m de comprimento por 3,83 m de largura. Cada câmara contou com gaiolas de arame galvanizado, com as dimensões de 47 × 23,5 × 16 cm (comprimento × largura × altura),

providas de comedouros tipo calha e bebedouros tipo “*nipple*” adequados à fase de desenvolvimento dos animais. Os comedouros foram abastecidos com as rações experimentais duas vezes ao dia, às 7:00 e às 16:00 horas. Durante o período experimental, as aves receberam ração *ad libitum*.

A temperatura das salas foi controlada por meio de aquecedores acoplados a um termostato elétrico e por meio da utilização de ar-condicionado, dotado de controle automático de temperatura. A renovação e movimentação do ar foram efetuadas por exaustores axiais de parede. As temperaturas e umidades relativas do ar, de cada ensaio experimental, foram monitoradas por termo-higrômetros digitais de máxima e mínima, pela manhã e ao final da tarde. Os sensores de temperatura foram fixados ao nível do centro de massa dos animais, caracterizando o microclima local.

As dietas foram formuladas segundo a recomendação das Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2011), variando apenas a suplementação de fitase (Tabela 1). Todas as dietas foram formuladas considerando a redução nos níveis de cálcio e fósforo, avaliando o que a matriz da enzima disponibiliza com 500FTU (0,165% Ca - 0,150% P). Levando em consideração o desenho experimental, as dietas experimentais foram formuladas atendendo as recomendações sugeridas por Rostagno et al. (2011), contudo, com redução do nível de Ca e P com base na valorização enzimática da fitase avaliada na dose de 500FTU/kg, o que corresponde a 0.165% de Ca e de 0.15% de P. A dieta basal não foi suplementada com fitase. As demais foram suplementadas com 500, 1000 e 3000FTU/kg de ração, em modo on top, em substituição ao inerte.

Para as coletas foi realizado um jejum de 6 horas e foram coletadas amostras de sangue (1ml) para avaliação dos parâmetros bioquímicos, através de punção da jugular com agulha de 13 x 0,4 mm, para essa coleta a seringa não continha anticoagulante. O sangue foi armazenado em tubo seco que após 30 minutos de descanso foram centrifugadas a 3.500 rpm durante 1

minuto para obtenção do soro, esses foram armazenados em Ependorfs e congelados para posterior análise.

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro. Para as determinações bioquímicas foram utilizados Kits comerciais disponíveis para uso no equipamento analisador para bioquímica clínica respons@920 - DiaSys Diagnostic Systems, que utiliza a Colorimetria e Ensaio imunoturbidimétrico. E para a determinação mais uniforme desses parâmetros, foram realizados todos os dias controles de qualidade e calibração do equipamento analisador e dos reagentes, assim como foram utilizados os mesmos lotes de reagentes no intuito de que não houvesse interferência.

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico R versão 4.2, e para as variáveis que apresentaram diferença estatística foram submetidas a análise de regressão para determinação do melhor nível de fitase e teste de Tukey a 5% de significância para as temperaturas das câmaras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises bioquímicas, as mesmas nos proporcionaram avaliar as condições de saúde renal, hepática, assim como, a possível sobrecarga que os órgãos dos animais poderiam ter recebido com o impacto do estresse térmico. Em adição também avaliar se houve minimização dos efeitos do estresse térmico com o uso da fitase. Sendo sempre importante que essas análises sejam realizadas em conjunto, uma vez que para aves algumas enzimas mensuradas não são específicas.

Foi observado para a segundo ciclo de postura, efeito significativo para Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST); Fosfatase alcalina (FA), Fósforo (P) e Cálcio (Ca), e níveis de ureia (URE) e ácido úrico (AU).

Houve efeito significativo para as concentrações de ALT entre os níveis de fitase avaliados ($p=0,0293$), assim como, pode-se verificar interação significativa entre os níveis de fitase e temperaturas ($p=0,0116$).

Ao desdobrar a interação entre níveis de fitase e temperaturas para os valores de ALT, observou-se que, as codornas que receberam as dietas com inclusão de fitase apresentaram comportamentos semelhantes para as concentrações de ALT no sangue, sendo superiores aos animais que receberam a dieta basal, sem inclusão da enzima (Tabela 2).

As codornas alimentadas com a dieta basal, apresentaram valores semelhantes aos demais grupos estudados apenas quando estiveram, exceto para as que foram submetidas ao ambiente de 36°C, que apresentaram os maiores valores da enzima para este ciclo. Embora tenha ocorrido variação entre os tratamentos nessas temperaturas, os valores de ALT se mantiveram abaixo dos valores normais de referência para as aves (CARPENTER; MARION, 2018), a qual varia de 5 – 11U/l, para aves não carnívoras e de caráter não migratório. Contudo em diversas espécies de aves, a ALT pode apresentar níveis normais de atividade abaixo do limiar de sensibilidade de alguns analisadores (HOCHLEITHNER, 1994). Dessa forma, a baixa atividade de ALT no organismo das aves pode ser de caráter fisiológico.

Foi verificado efeito quadrático nos níveis de ALT ($R^2=0,99$) entre os grupos estudados dentro da temperatura de 36°C, conforme apresentado na Figura 1.

As concentrações de AST apresentaram efeitos significativos dentro dos ambientes avaliados ($p=0,0370$), onde verificou-se que as aves do ambiente de 30°C apresentaram médias superiores aos animais dos ambientes de 24° e 36°C. Em geral, a média da AST se manteve dentro dos valores normais de referência para as aves, que é < 275 UI/l (THRALL et al., 2004). Os valores para temperatura de 30°C mantiveram-se acima dos valores de referência, exceto para o grupo basal.

No ambiente de 36°C apenas no tratamento 1000FTU/Kg o valor de AST se manteve dentro dos valores de referência, e no ambiente de 24°C todos os valores se encontram dentro dos valores normais para a espécie. A atividade da AST de forma geral é pouco específica para problemas hepáticos (GRUNKEMEYER, 2010). Sendo assim, necessária a avaliação juntamente com outras enzimas (ALT e GGT) e sua comparação com a CK é necessária para avaliar se a atividade tem origem hepática ou muscular. No presente estudo, a CK se manteve dentro dos valores normais, e assim podemos descartar que a elevação da AST nas aves deste estudo seja de origem muscular.

Para a FA foram observados maiores valores nas temperaturas mais elevadas, sendo a menor inclusão de fitase (500FTU) no ambiente de 36°C, que apresentou o valor mais elevado, podendo a fitase ter atuado como hepatoprotetora. Entretanto todos esses valores se encontram dentro dos valores de referência para aves. E para análise de eficiência do funcionamento adequado do fígado é preciso se observar os demais valores em conjunto, tais valores apesar da variação entre tratamentos e temperaturas se encontram dentro dos valores de referência para aves, de acordo com Thrall et al. (2004).

As concentrações de P e Ca diferiram significativamente entre os ambientes avaliados. Foi verificada uma maior concentração de Ca na corrente sanguínea das aves que estiveram alojadas no ambiente de 24°C ($p=0,0001$), sendo considerado um ambiente de conforto térmico para estes animais na fase de produção. Da mesma forma, pode-se observar um comportamento semelhante para a concentração média de P ($p=0,0024$) que também foi superior nas aves que se encontravam em situações condizentes com o conforto térmico. Na temperatura de 24°C, o valor do P encontra-se dentro dos valores de referência, 5 a 7 g/L (THRALL et al., 2004), e os demais estão abaixo do limite mínimo.

O Ca se manteve próximo dos valores mínimos de referência, 20 a 30 mg/dl (THRALL et al., 2004), na temperatura de 24°C. Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos

com poedeiras que foram submetidas a estresse térmico, onde foi encontrada diminuição das concentrações plasmáticas de P, em animais que foram expostos a temperatura de 34°, sendo provável a ocorrência de estresse térmico severo (WOLFENSON et al., 1987, AIT-BOULAHSEN et al., 1993, USAYRAN et al., 2001, PERSIA et al., 2003). De acordo com os dados do presente estudo, a temperatura de 36°C influenciou negativamente as aves no quesito de produção de ovos (Tabela3).

Houve efeito significativo na interação entre fitase e ambiente para as concentrações de ureia (URE) e ácido úrico (AU) ($p < 0,05$). Pode-se observar que o nível de URE no sangue foi menor no grupo que recebeu a dieta contendo a maior dosagem da enzima fitase (3000 FTU), quando estas estavam alojadas no ambiente de conforto térmico (24°C), apresentando uma queda linear na concentração desse metabólito no sangue à medida que se elevou os níveis da enzima na dieta (Figura 2). Nesse mesmo tratamento, nas demais temperaturas os resultados se apresentaram acima dos valores de referência para aves. Dessa maneira podemos perceber que a maior inclusão de fitase (3000FTU), colaborou positivamente para a manutenção do funcionamento renal adequado, uma vez que os valores de AU também se mantiveram dentro da faixa normal para a espécie. E embora tenha ocorrido a interação entre fitase e ambiente, os valores de concentração de AU, para todos os tratamentos e todos os ambientes se mantiveram dentro dos valores de referência, que é < 13 mg/dl (THRALL et al., 2004).

Ao observar os ambientes considerados de estresse térmico por calor; no ambiente de 30°C as codornas apresentaram menor concentração de ureia no sangue, quando receberam a dieta contendo a adição de 1000FTU da enzima. Por outro lado, no ambiente de 36°C, os grupos 0 e 500 FTU proporcionaram valores semelhantes para as concentrações de URE. O tratamento com 3000 FTU proporcionou o maior valor de URE em relação a todos os ambientes, e os três grupos se apresentaram acima dos valores de referência, que é de 0 a 5 mg/dl (THRALL et al.,

2004). Já os grupos 1000 e 1500 FTU obtiveram os menores valores de URE em todos os ambientes térmicos.

A elevação dos valores de URE pode representar um estado de desidratação do animal, no presente estudo a maioria dos valores de concentração da URE que se apresentaram acima dos valores de referência estão presentes em ambiente de desconforto térmico por calor, o que pode justificar esses valores, uma vez que as concentrações de AU estão todas dentro da normalidade e assim podemos descartar injúrias renais.

As concentrações de AU só foram menores nos grupos que receberam a dieta contendo a inclusão de 1000FTU da enzima fitase, e submetidas ao ambiente de 30°C.

Os demais parâmetros, GGT e CK, se mantiveram dentro dos valores de referência, não apresentaram interferência em relação a ambiente ou tratamento neste segundo ciclo, que fossem clinicamente significativas. Relativo ao CK, os valores que se encontram dentro dos valores normais para a espécie, descartam qual quer possibilidade que o aumento das demais enzimas seja de origem muscular.

No quarto ciclo de postura, foi observado efeito significativo para ALT, FA, P e Ca, e níveis de URE, CK e AU.

Houve interação significativa entre os níveis de fitase e temperaturas ($p=0,0297$) para as concentrações de ALT, onde foi verificado que as aves que receberam a dieta contendo a maior dosagem da enzima e alojadas na temperatura de 36°C apresentaram menores valores médios, quando comparadas aos demais grupos avaliados. Assim como no segundo ciclo de postura os valores se mantiveram a baixo dos valores de referência (Tabela 4).

Destaca-se a diminuição da concentração de ALT entre coletas, uma vez que os valores entre os tratamentos e temperaturas baixaram significativamente, podendo levar a hipótese de uma possível sobrecarga crônica no fígado das codornas, uma vez que a diminuição dessa enzima pode estar ligada a baixa atividade hepática, observa-se que nesse ciclo nos tratamentos

0 e 3000 FTU houveram menores variações. A maior variação observada foi no tratamento 1000 FTU.

Os níveis de FA foram menores ($p < 0,0001$) nas aves que receberam dieta contendo 1000 e 1500 FTU, quando expostas a temperatura de 30°C, e quando receberam a dieta de 1000FTU no ambiente de 36°C, demonstrando que esses grupos apresentaram comportamento semelhante dentro deste ciclo.

Podemos observar que as concentrações de FA foram superiores neste ciclo quando comparados ao segundo ciclo, reforçando a ideia de que a origem dessa elevação seja hepática, uma vez que as aves apresentaram um menor peso do fígado nas temperaturas mais altas para esse mesmo ciclo de coletas, e a redução de peso de fígado já foi relatada em alguns estudos onde as aves foram submetidas a temperaturas altas (Tabela 3).

Santos (2012) observou redução do peso do fígado e do coração em codornas criadas sob estresse térmico por calor, e Oliveira Neto et al. (2000) observaram redução gradativa no peso de órgãos em aves que foram mantidas em temperaturas elevadas para a espécie.

É importante salientar que o estudo realizado dentro do mesmo projeto avaliou o peso do fígado dessas aves e foi observado a diminuição do peso do fígado das mesmas aves tanto no segundo ciclo de postura quanto no quarto. Essa redução no peso do fígado pode estar relacionada com a redução da ingestão de alimento consequentemente à redução da taxa metabólica dessas aves devido a ocorrência de estresse térmico. Esse fato corrobora estudo onde foi observado a redução do peso do fígado (8,5%), em frangos de corte suplementados com de fitase microbiana com níveis diferentes de fósforo (VIVEROS et al., 2002). E no presente estudo os maiores valores médios relativos ao PF foram observados no ambiente de 30°C.

Houve uma redução nas concentrações de P nas codornas alojadas no ambiente de 24°C, ao receberem a dieta com a maior dosagem da fitase. No entanto, observou-se um aumento linear ($p < 0,0001$) na concentração deste mineral à medida que se aumentava os níveis de fitase

na dieta, no ambiente de 36°C (Figura 3). Por tanto a diminuição do fósforo circulante, juntamente com a elevação dos valores de URE pode levar a um quadro de doença renal, no presente estudo não foi avaliado o rim através de ultrassonografia ou necropsia, e para tal conclusão seriam necessários estudos detalhados quando a condição renal. Os valores do P para o quarto ciclo encontram-se abaixo dos valores de referência determinados para as aves, porém podemos que os valores relativos ao ambiente de 36°C relacionados aos tratamentos de 1500 FTU/kg e 3000 FTU/kg, mantiveram-se dentro dos valores de referência, o que corrobora com a média de espessura da casca do ovo que se apresentaram melhores nessas mesmas condições.

Pode-se observar, que o uso da suplementação de fitase (1000 e 1500FTU) aumentou ($p=0,0001$) as concentrações de Ca circulante nas codornas quando alojadas no ambiente de estresse por calor a 36°C. E dessa maneira podemos ressaltar que nesse caso a fitase reverteu os efeitos deletérios do calor sobre a absorção do cálcio. Uma vez que o aumento da temperatura ambiente, conseqüentemente eleva a necessidade de cálcio para poedeiras (PLAVNIK, 2003). Em contrapartida, no ambiente de 30°C foi o maior nível de inclusão da fitase que proporcionou maior concentração de Ca no sangue, mostrando que a fitase contribuiu de forma significativa para a manutenção das concentrações de Ca, quando as aves se encontram fora das temperaturas consideradas de conforto térmico.

Sobretudo todos os valores se mantiveram a baixo dos valores de referência para aves (THRALL, 2004), assim como, no segundo ciclo de postura. Apesar da queda de Ca o ambiente de 36°C, com dose de 1500 FTU de fitase, obteve-se nesse tratamento, o melhor desempenho relacionado a espessura de casca do ovo, assim essa dosagem se destaca para uma melhor qualidade de produção de ovos em aves submetidas a estresse térmico. Diante dos resultados de Ca, podemos dizer que o uso da fitase diminuiu os possíveis efeitos deletérios do estresse térmico das codornas, onde algumas concentrações proporcionaram um melhor resultado, os

melhores desempenhos foram para 3000FTU no ambiente de 30°C e 1500FTU para o ambiente de 36°C.

A menor concentração de URE foi observada ($p < 0,0001$) apenas no grupo de aves que foram alimentadas com dietas contendo a dose de fitase recomendada pela indústria (500FTU), aves essas submetidas ao ambiente de 30°C. Os demais valores para esse ciclo se encontram acima dos valores de referência.

Os valores de AST se mantiveram acima dos valores de referência em ambos os ciclos; já na temperatura de 24°C, no segundo ciclo, os valores se mantiveram dentro do intervalo determinado para aves, e no segundo ciclo esse valor elevou e ultrapassou o limite superior do valor de referência. A AST é uma enzima que está presente em múltiplos órgãos, em especial no fígado no músculo (GRUNKEMEYER, 2010; CAPITELLI & CROSTA, 2013), e a sua função varia de acordo com as diferentes espécies de aves, sendo a presença da AST também relatada no coração, cérebro e rins (HOCHLEITHNER, 1994).

As demais enzimas, GGT CK e AU, se mantiveram dentro dos valores de referência normais para a espécie, de acordo com THRALL (2004). E entre os dois ciclos foi possível observar que houve um aumento discreto no quarto ciclo em relação ao segundo para as três enzimas, porém não tem um significado clínico específico.

4. CONCLUSÃO

A adição da enzima exógena fitase na dieta de codornas em fase de produção nos níveis de 1500FTU e 3000FTU proporcionam melhores para os níveis de importantes minerais para estas aves, Ca e P, quando criadas em ambientes de altas temperaturas (30 e 36°). Quanto a alterações renais e hepáticas, foi observado que houveram mudanças entre os ciclos, não podendo afirmar que houveram sobrecargas, sendo assim necessários mais estudos específicos com um número maior de animais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES-Brasil pela bolsa de Mestrado (Maia, A.) e ao CNPq-Brasil pelo financiamento da pesquisa por meio do Edital nº 09/2020 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa – PQ, nº 309318/2020-3 (Guerra, R. R.).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Todos os autores declaram que não há conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O protocolo experimental nº 3695120121 foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

REFERÊNCIAS

AIT-BOULAHSEN, A., GARLICH, J.D., EDENS, F.W. **Calcium deficiency and food**

deprivation improve the response of chickens to acute heat stress. *The Journal of Nutrition*, v.123, 1. Ed., Janeiro de 1993, p. 98–105.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. DA. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975–981, out. 2003.

CABRAL, G.H. **Níveis de cálcio em rações para frango de corte.** 1999. 83p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of Psittacine Blood Analysis and Comparative Retrospective Study of Clinical Diagnosis, Hematology and Blood Chemistry in Selected Psittacine Species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 71–120, jan. 2013.

CARPENTER, J. W.; MARION, C. J. **Exotic animal formulary**. 5. Ed. St. Louis, MO.:Saundes, 2018.

CROMWELL, G.L. Availability of phosphorus in feedstuffs for swine. Proceedings... Distillers Feed Conference, v.34, n.40, p.40-50, 1979.

DONELEY, B. Clinical Technique: Techniques in the Practice Diagnostic Laboratory. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 137–146, jan. 2015.

GRUNKEMEYER, V. L. Advanced Diagnostic Approaches and Current Management of Avian Hepatic Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 13, n. 3, p. 413–427, set. 2010.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. P. 176-198.

MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **Worlds Poultry Science Journal**, v. 49, n. 1, p. 34–43, 1 mar. 1993.

MOTA, J. K. M. **Influência ambiental no desenvolvimento e produção de ovos de codorna**. 2013. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Tecnologia e Recursos Naturais; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2013.

OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L. et al. Efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.183-190, 2000.

ONBAŞILAR, E. E.; AKSOY, F. T. Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. **Livestock Production Science**, v. 95, n. 3, p. 255–263, ago. 2005.

PERSIA, M. et al. Interrelationship between environmental temperature and dietary nonphytate phosphorus in laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 11, p. 1763–1768, nov. 2003.

PLAVNIK, I. Nutrição de aves em climas quentes. In: **Proceedings of the Conferência Apinco**. 2003. P. 235-245.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**, v. 2, p. 186, 2011.

SANTOS, N. R. DOS. **Exigências nutricionais para codornas europeias criadas em diferentes ambientes térmicos**. Disponível em:

<<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/19236>>. Acesso em: 04 jun. 2023.

SILVA J. R. et al. **Exigências nutricionais de codornas**. V. 13, n. 3, p. 775–790, 1 set. 2012.

TANG, F.; MESSINGER, S.; CRAY, C. **Use of an Indirect Sampling Method to Produce Reference Intervals for Hematologic and Biochemical Analyses in Psittaciform Species**. v. 27, n. 3, p. 194–203, 1 set. 2013.

THRALL M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Lippincott: Williams & Wilkins, 2004. 618p.

USAYRAN, N. N. et al. **Effects of Added Dietary Fat and Phosphorus on the Performance and Egg Quality of Laying Hens Subjected to a Constant High Environmental Temperature.** v. 80, n. 12, p. 1695–1701, 1 dez. 2001.

VIVEROS, A. et al. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172–1183, ago. 2002.

WOLFENSON, D. et al. **Absorption of protein, fatty acids and minerals in young turkeys under heat and cold stress.** v. 28, n. 4, p. 739–742, 1 dez. 1987.

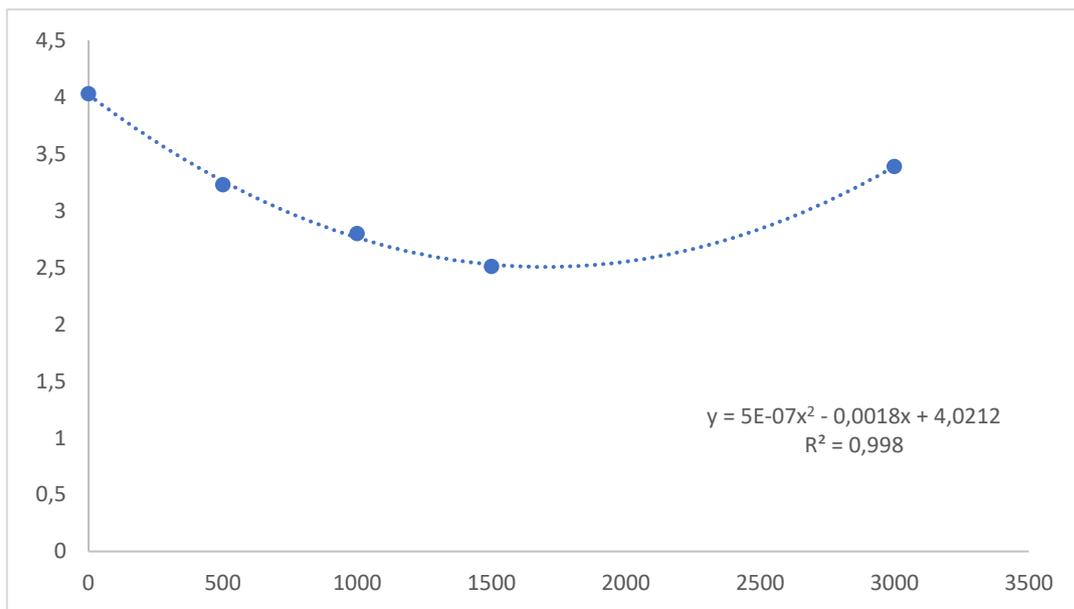


Figura 1. Níveis de ALT de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 36°C

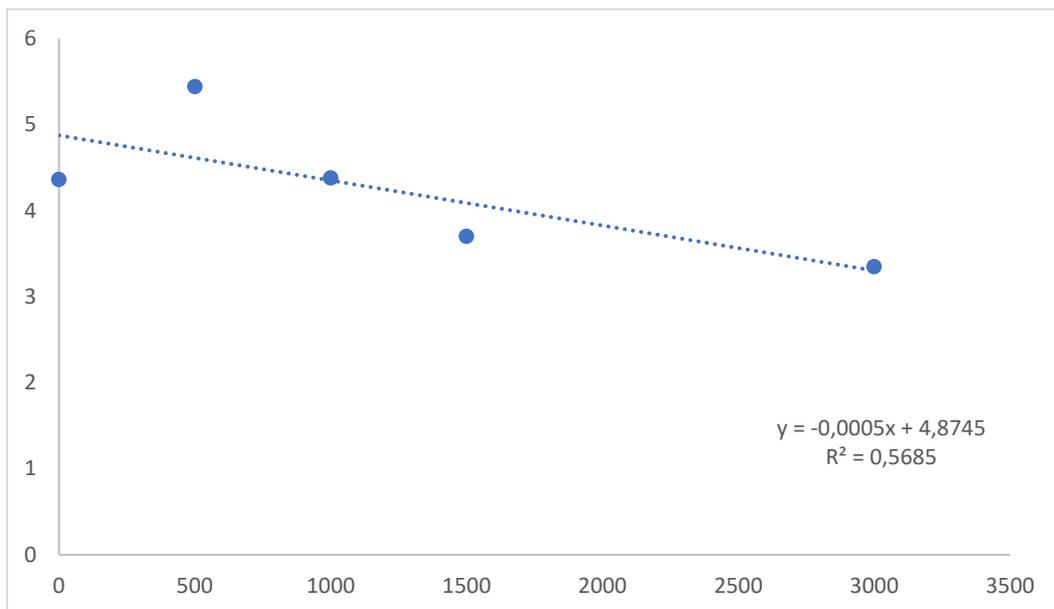


Figura 2. Níveis de ácido úrico de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase.

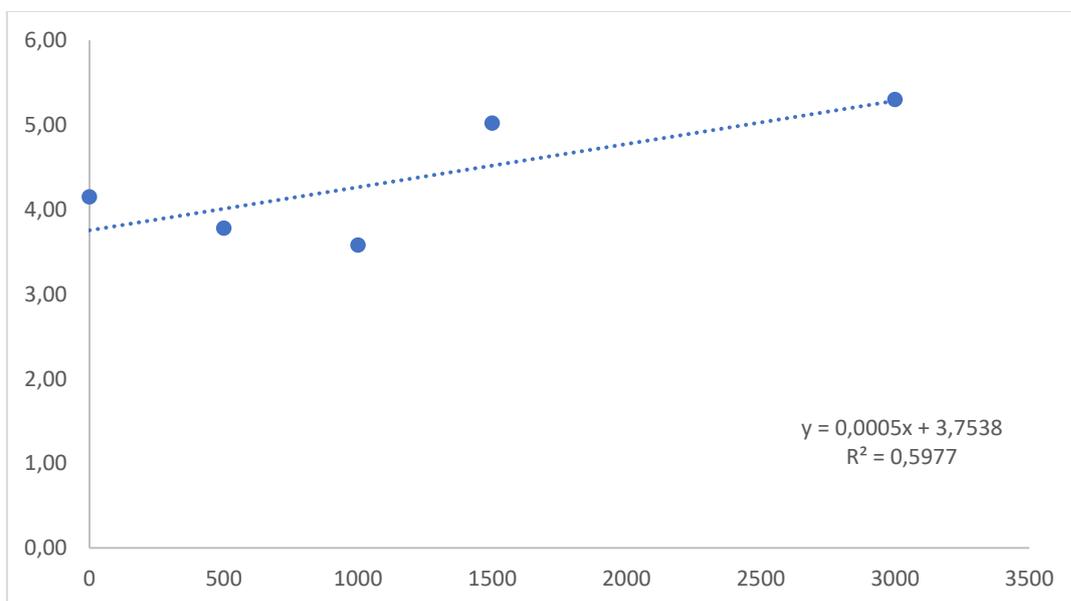


Figura 3. Níveis de fósforo de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase submetidas a temperatura de 24°C.

Tabela 1 - Dietas experimentais, contendo cinco níveis de Fitase (0, 500, 1000, 1500 e 3000 FTU/kg) e redução nos níveis de fósforo e cálcio levando em consideração a matriz de 500 FTU da enzima, para codornas japonesas na fase de postura

Tratamentos		T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Milho Grão - 7,88%	kg	59,720	59,720	59,720	59,720	59,720
Soja Farelo 45,22%	kg	30,518	30,518	30,518	30,518	30,518
Óleo de Soja	kg	0,667	0,667	0,667	0,667	0,667
DL-Metionina	kg	0,398	0,398	0,398	0,398	0,398
L-Lisina HCL	kg	0,265	0,265	0,265	0,265	0,265
L-Treonina	kg	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
Calcário	kg	7,437	7,437	7,437	7,437	7,437
Fosfato Bicálcio 18,5%	kg	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sal	kg	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345
Premix Mineral ¹	kg	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Premix Vitaminico ²	kg	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Colina	kg	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070
Antioxidante ³	kg	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Inerte	kg	0,060	0,050	0,040	0,030	0,000
Fitase	kg	0,000	0,010	0,020	0,030	0,060
Total	kg	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
		T1	T2	T3	T4	T5
Nutrientes	Unidade	0FTU	500FTU	1000FTU	1500FTU	3000FTU
Fitase	FTU/kg	0	500	1000	1500	3000
Energia Metabolizável	kcal/kg	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000	2800,000
Proteína Bruta	%	19,000	19,000	19,000	19,000	19,000
Metionina Dig. Aves	%	0,647	0,647	0,647	0,647	0,647
Met+Cis. Dig. Aves	%	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908
Lisina Dig. Aves	%	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107
Treonina Dig. Aves	%	0,675	0,675	0,675	0,675	0,675
Triptofano Dig. Aves	%	0,207	0,207	0,207	0,207	0,207
Valina Dig. Aves	%	0,798	0,798	0,798	0,798	0,798
Cálcio	%	2,993	2,993	2,993	2,993	2,993
Fósforo Total	%	0,394	0,394	0,394	0,394	0,394
Fósforo Disponível	%	0,177	0,177	0,177	0,177	0,177
Potássio	%	0,732	0,732	0,732	0,732	0,732
Sódio	%	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Cloro	%	0,319	0,319	0,319	0,319	0,319
Número de Mogin	mEq/kg	164,590	164,590	164,590	164,590	164,590

¹Premix Vitaminico (concentração/kg de produto): Vit. A - 15 mil UI, Vit. D3 - 1,500,000 UI. Vit. E - wm 15000; Vit.B1 - 2.0 g, Vit. B2 - 4.0 g Vit. B6 - 3.0 g, Vit. B12 - 0015 g, ácido nicotínico - 25 g, ácido pantoténico - 10 g; Vit.K3 - 3.0 g, ácido fólico - 1.0 g; ²Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn - 60 g, Fe - 80 g, Zn - 50 g, Cu - 10 g, Co - 2 g, I - 1 g e Se - 250 mg; ³Antioxidante = BHT = 100 g/ton; Quantidade suficiente para 1000 g de veículos.

Tabela 2. Gama Glutamil Transferase (GGT); Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST); Fosfatase alcalina (FA); Fósforo (P); Cálcio (Ca); Uréia (URE); Creatinoquinase (CK); Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o segundo ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	P-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000						
GGT (U/L)	24°C	0,37	1,38	3,34	5,22	0,58	2,18	NS	305,88	0,85	0,28	0,60
	30°C	0,67	4,12	1,10	0,37	0,66	1,38					
	36°C	0,67	7,3	1,10	0,52	0,41	1,99					
	Média	0,57	4,27	1,85	2,03	0,55						
ALT (U/L)	24°C	2,20B	3,85A	3,48A	2,70A	2,40A	2,92	NS	26,78	0,07	0,03	0,01
	30°C	1,10B	3,68A	2,82A	2,74A	2,43A	2,55					
	36°C	4,03A	3,23A	2,80A	2,51A	3,39A	3,19					
	Média	2,44	3,58	3,03	2,65	2,74						
AST (U/L)	24°C	264,98	218,01	272,18	238,37	247,89	248,29B	NS	20,89	0,04	0,86	0,12
	30°C	243,66	277,03	307,25	302,99	289,82	284,15A					
	36°C	278,52	303,87	223,48	306,93	278,17	278,19AB					
	Média	262,39	266,3	267,64	282,76	271,96						
FA (U/L)	24°C	260,58	303,78	262,70	260,06	303,94	278,21B	L*0,04	27,98	0,00	0,01	0,91
	30°C	199,14	300,55	212,14	223,83	321,68	251,47B					
	36°C	284,58	392,63	314,48	354,89	369,83	343,28A					
	Média	248,10	332,32	263,11	279,59	331,82						
P (mg/dl)	24°C	5,20	5,05	5,22	5,71	5,29	5,29A	NS	19,38	0,00	0,82	0,83
	30°C	4,61	4,54	4,38	4,16	4,84	4,50B					
	36°C	4,92	4,47	3,91	4,22	4,20	4,34B					
	Média	4,91	4,68	4,50	4,70	4,77						
Ca (mg/dl)	24°C	19,18	18,12	18,5	21,45	19,88	19,42A	NS	12,00	0,00	0,19	0,17
	30°C	18,73	16,05	17,62	19,01	16,34	17,55B					
	36°C	17,28	16,68	16,92	15,65	17,40	16,78B					
	Média	18,40	16,95	17,68	18,70	17,87						
URE (mg/dl)	24°C	4,36A	5,44A	4,38A	3,70A	3,35B	4,25	L*0,01	17,39	0,00	<.00	0,00
	30°C	4,46A	5,28A	2,65B	3,49A	5,83AB	4,34					
	36°C	5,00A	5,83A	3,80A	3,55A	7,25A	5,09					
	Média	4,60	5,52	3,61	3,58	5,48						
CK (U/L)	24°C	770,70	564,40	748,63	539,40	660,50	656,73	NS	26,61	0,93	0,05	0,37
	30°C	741,58	740,18	748,33	485,15	674,20	677,89					
	36°C	521,23	683,23	755,66	567,65	799,59	665,47					
	Média	677,84	662,6	750,88	530,73	711,43						
AU (mg/dl)	24°C	3,49A	2,78A	3,99A	3,87A	3,24A	3,47	NS	20,14	0,00	0,15	0,01
	30°C	3,28A	2,75A	2,41B	3,14A	3,25A	2,97					
	36°C	4,04A	3,60A	3,93A	3,01A	3,23A	3,56					
	Média	3,60	3,04	3,44	3,34	3,24						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Valores médios de espessura de casca (EC), Produção total de ovos (PRO) e Peso de Fígado (PF) relativo ao segundo e quarto ciclos de postura, de codornas japonesas alimentadas com doses de fitase e submetidas a três temperaturas diferentes

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	CV, %	Temp	Fit	Temp*Fit
		0	500	1000	1500	3000					
EC (mm)	24°C	0,43A	0,41A	0,41A	0,40B	0,41A	0,41	3,60	0,12	0,03	<0.00
	30°C	0,40B	0,39A	0,41A	0,40B	0,41A	0,40				
	36°C	0,39b	0,40A	0,39A	0,44A	0,41A	0,41				
	Média	0,41	0,40	0,40	0,41	0,41					
	Efeito	NS									
PRO (%)	24°C	66,01	66,75	68,07	70,07	65,36	67,25B	11,67	<0.00	0,76	0,93
	30°C	80,55	76,30	82,28	80,74	77,12	79,40A				
	36°C	66,38	64,94	64,31	61,51	62,57	63,94B				
	Média	70,98	69,33	71,55	70,77	68,35					
	Efeito	NS									
PF (%) Segundo ciclo	24°C	2,57	2,51	2,30	2,71	2,52	2,52	14,29	0,50	0,03	0,06
	30°C	2,71	2,62	2,46	2,45	2,75	2,60				
	36°C	2,77	2,71	2,44	2,11	2,51	2,51				
	Média	2,68	2,61	2,40	2,42	2,60					
	Efeito	Q*0,0037									
PF (%) Quarto ciclo	24°C	2,76AB	2,01B	2,41A	2,43A	2,65AB	2,45	7,50	<.00	0,34	0,01
	30°C	3,01A	2,81A	2,37A	2,33A	3,02A	2,71				
	36°C	2,15B	2,43AB	2,19A	2,17A	2,11B	2,21				
	Média	2,64	2,418	2,19	2,31	2,59					
	Efeito	NS									

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Tabela 4. Gama Glutamil Transferase (GGT); Alanina aminotransferase (ALT); Aspartato aminotransferase (AST); Fosfatase alcalina (FA); Fósforo (P); Cálcio (Ca); Uréia (URE); Creatinoquinase (CK); Ácido úrico (AU), de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo superdosagem de fitase e submetidas a estresse por calor durante o quarto ciclo de postura.

Parâm	Temp	Fitase (FTU/kg)					Média	p-value	CV (%)	Temp	Fit	Temp* Fit
		0	500	1000	1500	3000						
GGT (U/L)	24°C	1,67A	2,50A	2,00A	3,10A	1,90A	2,23	Q*0,01	23,86	0,18	0,04	0,02
	30°C	2,08A	2,20A	1,75A	2,18A	1,30A	1,90	NS				
	36°C	2,10A	2,08A	1,43A	1,77A	2,50A	1,97	Q*0,01				
	Média	1,95	2,26	1,72	2,35	1,90						
ALT (U/L)	24°C	1,88A	1,48A	1,50A	1,55A	2,05A	1,69	NS	32,87	0,04	0,32	0,03
	30°C	2,20A	3,10A	1,54A	1,60A	2,55A	2,20	Q*0,02				
	36°C	1,93A	1,82A	1,76A	2,30A	1,13B	1,79	NS				
	Média	2	2,13	1,6	1,82	1,91						
AST (U/L)	24°C	273,66	258,77	304,03	267,21	322,00	285,13	NS	19,52	0,92	0,40	0,95
	30°C	267,63	276,56	304,35	294,44	294,68	287,53					
	36°C	269,76	300,50	304,54	286,90	296,10	291,56					
	Média	270,35	278,61	304,30	282,85	304,26						
FA (U/L)	24°C	1.844,34A	822,20A	2.032,60A	1.942,41A	755,63A	1.479,43	NS	51,24	0,03	0,31	<.00
	30°C	656,03A	1.373,55A	646,67B	611,91B	1.622,04A	982,04	NS				
	36°C	757,96A	1.676,02A	940,44B	1.788,21A	632,43A	1.159,01	Q*0,01				
	Média	1.086,11	1.290,59	1.206,57	1.447,51	1.003,37						
P (mg/dl)	24°C	3,65A	3,96A	3,99B	5,06A	3,90B	4,11	Q*0,00	13,55	0,26	0,00	<.00
	30°C	4,81A	3,43A	4,87A	4,13A	4,53BA	4,35	NS				
	36°C	4,15A	3,78A	3,58B	5,02A	5,30A	4,37	L*<.00				
	Média	4,20	3,72	4,14	4,74	4,57						
Ca (mg/dl)	24°C	10,83BA	9,59A	12,41A	11,49BA	10,50B	10,96	NS	19,23	0,03	0,08	<.00
	30°C	13,41A	12,97A	10,04A	8,87B	17,98A	12,65	Q*<.00				
	36°C	10,27B	11,32A	11,40A	13,61A	11,03B	11,52	Q*0,03				
	Média	11,50	11,29	11,28	11,32	13,17						
URE (mg/dl)	24°C	5,67A	6,63A	3,55A	7,00A	8,01A	6,17	Q*0,00	13,90	0,04	<.00	<.00
	30°C	5,26A	3,44B	5,03A	6,64A	7,69A	5,61	L*<.00				
	36°C	5,58A	6,21A	3,57A	6,63A	8,14A	6,02	Q*0,00				
	Média	5,50	5,42	4,05	6,76	7,94						
CK (U/L)	24°C	443,11A	619,30A	482,41A	509,50B	421,09B	495,08	NS	24,34	0,02	0,23	0,01
	30°C	701,43A	510,05A	400,70A	802,83A	714,60A	625,92	NS				
	36°C	524,06A	644,38A	585,98A	533,12B	577,02BA	572,91	NS				
	Média	556,20	591,24	489,70	615,15	570,90						
AU (mg/dl)	24°C	2,93	3,85	3,52	2,96	3,70	3,39	L*0,01	17,12	0,44	0,01	0,23
	30°C	3,01	3,66	3,29	3,48	3,85	3,46					
	36°C	3,77	3,38	3,46	3,20	4,19	3,60					
	Média	3,24	3,63	3,42	3,21	3,91						

CV%= coeficiente de variação, NS= não significativo. Médias seguidas de letras diferentes, nas colunas, comparam as temperaturas dentro das concentrações de fitase, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, o desempenho das aves obteve melhores resultados nos níveis de 1500FTU e 3000FTU quando criadas em ambientes de estresse térmico por altas temperaturas, houve alteração significativa da relação H:L, constatando um maior estresse para as aves na temperatura de 36°C. Os mesmos níveis de fitase proporcionam melhores concentrações de minerais para estas aves (Ca e P). Quanto a alterações renais e hepáticas, faz-se necessários estudos mais específicos. A enzima fitase também contribuiu para uma boa taxa de produtividade, uma vez que a sanidade e a produção estão intimamente interligadas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, V. M. N. **Manejo inicial e seus reflexos no desempenho do frango.** EMBRAPA suínos e aves, 2009. Disponível em: < www.agencia.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 20 junho 2022.
- ADEOLA O., SANDS J. S., **Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not.** *Journal of Animal Science*, v. 81, n. 14_suppl_2, p. E78–E85. Fev. 2003.
- AIT-BOULAHSEN, A., GARLICH, J.D., EDENS, F.W. **Calcium deficiency and food deprivation improve the response of chickens to acute heat stress.** *The Journal of Nutrition*, v.123, 1. Ed., Janeiro de 1993, p. 98–105.
- ALONSO-ALVAREZ, C. **Age-dependent changes in plasma biochemistry of yellow-legged gulls (*Larus cachinnans*).** *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, Oxford, v. 140, n.4, p. 512–518, 2005.
- ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal: As bases e os fundamentos da nutrição animal. Os Alimentos.** 4. Ed. São Paulo, SP: Nobel, 1990. 2v
- AUGSPURGER, N. R., WEBEL D. M., LEI X. G., BAKER D. H. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 2, p. 474–483, 1 fev. 2003.
- ARAÚJO, M. S. *et al.* Níveis de cromo orgânico na dieta de codornas japonesas mantidas em estresse por calor na fase de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.584-588, 2007.
- BAZIZ, H. A. et al. Chronic Heat Exposure Enhances Fat Deposition and Modifies Muscle and Fat Partition in Broiler Carcasses. **Poultry Science**, v. 75, n. 4, p. 505–513, abr. 1996.
- BERNARDINO, M. G. S. **Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências Agrárias avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix 110roperiti*) em diferentes faixas etárias.** [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/15363/1/DV018.pdf>>. Acesso em: 02 nov 2022.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de Monogástricos** Lavras: UFLA/FAEPE, 2012.

BÉRTOLI, C. D. **Nutrição animal aplicada e alimentação dos animais domésticos. Curso técnico em agropecuária.** Instituto federal catarinense – campus Camboriú. Março/2010.

BORGATTI, L. M. O. **Biodisponibilidade relativa de fósforo em ingredientes com baixo teor de fitato determinada com base na mineralização óssea de frangos de corte.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.10, p.1901-1906, 01 out. 2009.

BORGES, S.A. **Suplementação de cloreto de potássio e bicarbonato de sódio para frangos de corte durante o verão.** 1997. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, SP, 1997.

BORGES, S. A. **Balanço eletrolítico e sua inter-relação com o equilíbrio ácido-base em frangos de corte submetidos a estresse calórico.** 2001. 97 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

BORGES, S. A.; MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F. DA. Fisiologia do estresse calórico e a utilização de eletrólitos em frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 975–981, out. 2003.

BÜNZEN, S. et al. Digestibilidade do fósforo de alimentos de origem vegetal determinada em suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1236–1242, 1 jul. 2008.

CABRAL, G.H. **Níveis de cálcio em rações para frango de corte.** 1999. 83p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

CAMPBELL, T. W. (1994). Hematology. In: Ritchie, B. W. Harrison, G. J. Harrison L. R. **Avian medicine: principles and application.** (pp.176-198). Lake Worth: Wingers Publishing.

CAMPESTRINI, E., SILVA, V.T.M. e APPELT, M.D. 2005. **Utilização de enzimas na alimentação animal.** Revista Eletrônica Nutritime, v.2, n°6, p.259-272, nov./dez. 2005.

CÂNDIDO, M. V. (2008). **Hematologia, bioquímica sérica e nutrição em aves: Cracidae**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/16089/MARCUS_VINICIUS_CANDIDO.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2023

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of Psittacine Blood Analysis and Comparative Retrospective Study of Clinical Diagnosis, Hematology and Blood Chemistry in Selected Psittacine Species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 71–120, jan. 2013.

CARPENTER, J. W.; MARION, C. J. **Exotic animal formulary**. 5. Ed. St. Louis, MO.: <https://doi.org/10.1111/jsap.12011> Saundes, 2018.

CASTAÑEDA, F. E.; BURITICÁ-GAVIRIA, E. F.; CRUZ, L. J. Referential haematocrite, haemoglobin, glucose and electrolyte values for Yellow-crowned Amazon (*Amazona ochrocephala* (Gmelin, 1788)) kept in captivity in Ibagué. **ORINOQUIA**, v. 16, n. 2, p. 67–77, 1 dez. 2012.

CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de roperties aviar: material didático para curso de hematologia aviária**. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. México, 2000. 70p.

CORLEY, J. R.; BAKER, D. N.; EASTER, R. C. **Biological Availability of Phosphorus in Rice Bran and Wheat Bran as Affected by Pelleting**. 1 fev. 1980.

COSTA C. H. R., et al. **Níveis de fósforo disponível em dietas para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/wwD5pkhcZtLRyV4m44BmRCp/?format=pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2022.

COSTA, E. M. DA S.; DOURADO, L. R. B.; MERVAL, R. R. Medidas para avaliar o conforto térmico em aves. **Pubvet**, v. 6, n. 31, set. 2012.

COWIESON, A.J.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. **Uso de fitase e suas implicações nadigestão e absorção de nutrientes**. In: CONFERÊNCIA APINCO 2008 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCULAS. 2008, Santos. Anais, Santos São Paulo: Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2008. P. 279-290.

CROMWELL, G.L. **Availability of phosphorus in feedstuffs for swine**. Proceedings... Distillers Feed Conference, v.34, n.40, p.40-50, 1979.

DE MATOS, R. Calcium Metabolism in Birds. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 11, n. 1, p. 59–82, jan. 2008.

DONELEY, B. Clinical Technique: Techniques in the Practice Diagnostic Laboratory. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 18, n. 1, p. 137–146, jan. 2015.

DUNBAR, M. R. et al. **Normal hematologic and biochemical values for prelaying greater sage grouse (*centrocercus urophasianus*) and their influence on chick survival**. Disponível em: <https://digitalcommons.unl.edu/icwdm_usdanwrc/11/#:~:text=Results%20of%20logistic%20regression%20indicated%20that%20three%20of>. Acesso em: 01 jun. 2023.

EL-KHOLY, M. S. et al. Dietary Supplementation of Chromium Can Alleviate Negative Impacts of Heat Stress on Performance, Carcass Yield, and Some Blood Hematology and Chemistry Indices of Growing Japanese Quail. **Biological Trace Element Research**, v. 179, n. 1, p. 148–157, 17 jan. 2017.

EVANS, G. O. **Animal Clinical Chemistry**. London: Taylor & Francis, 1996. 222p.

FLORIANO, L. S. Fisiologia da termorregulação. In: **Avicultura: anatomia e fisiologia das aves domésticas**. Urutaí: Rede E-Tec Brasil, p. 80-85, 2013.

FRANZINI, B. D. et al. Indicadores sanguíneos hematológicos e hormonais do estresse na avicultura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e16111326303–e16111326303, 16 fev. 2022.

FREITAS, C. DE A. Efeito do nível de proteína bruta na ração sobre indicadores de termorregulação de codornas europeias em crescimento. **roperties.ufc.br**, 2021.

FURLAN, R. L. **Influência da Temperatura na Produção de Frangos de Corte**. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó, Anais eletrônicos. Santa Catarina. Disponível em: <[INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE – PDF Download grátis \(docplayer.com.br\)](#)> . Acesso em 03 maio 2023.

GEFFRÉ, A. et al. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 1, p. 107–112, 7 fev. 2011.

GONÇALVES, F. M. et al. In ovo nutrition: strategy for precision nutrition in poultry industry. **Archivos de zootecnia**, v. 62, n. 0, p. 54–55, 2013.

GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Disease**, v.27, n.4, p. 972-979, 1983.

GRUNKEMEYER, V. L. Advanced Diagnostic Approaches and Current Management of Avian Hepatic Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 13, n. 3, p. 413–427, set. 2010.

HARR, K. E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 140–151, set. 2002.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **IBGE | Portal do IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 01 set. 2022.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. P. 176-198.

JAENSCH, S. Diagnosis of avian hepatic disease. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, n. 3, p. 126–135, jul. 2000.

JENDZA, J. A. et al. Escherichia coli phytase improves growth performance of starter, grower, and finisher pigs fed phosphorus-deficient diets¹. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 8, p. 1882–1889, 1 ago. 2005.

KIM, T. et al. Shifting the pH Profile of Aspergillus niger PhyA Phytase To Match the Stomach pH Enhances Its Effectiveness as an Animal Feed Additive. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 6, p. 4397–4403, 1 jun. 2006.

LEANDRO, N.S.M., et al. **Desempenho produtivo de codornas japonesas (Coturnix coturnix japonica) submetidas a diferentes densidades e tipos de alojamento**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v.27, n.1, p.129-135, 2005.

LEARD, B. L. et al. The effect of haemolysis on certain canine 115rope chemistry parameters. **Laboratory Animals**, v. 24, n. 1, p. 32–35, 1 jan. 1990.

LUMEIJ, J. T. **Avian clinical biochemistry**. In: KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 ed. Waltham: Academic Press, 2008. P 839-872.

MACARI, M., FURLAN, R. L. **Ambiência na produção de aves em clima tropical**. In: **SILVA, I. J. Ed. Ambiência na produção de aves em clima tropical**. Piracicaba: FUNEP, 2001. P. 31-87.

MARCHINI, C. F. P., NASCIMENTO, M. R. B. M. & SILVA, P. L., GUIMARÃES, E. C. (2011). Parâmetros hematológicos de frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada. In: XXII Latin American Poultry Congress. Disponível em: <(PDF) Parâmetros hematológicos de frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada (researchgate.net)>. Acesso em: 06 de junho de 2023.

MAXWELL, M. H. Avian blood leucocyte responses to stress. **Worlds Poultry Science Journal**, v. 49, n. 1, p. 34–43, 1 mar. 1993.

MOHAMED, R.A.; ELAZAB, M.F.A.; ELHABASHI, N.M. et al. Assessing the impacts and mitigations of heat stress in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Basic Rev. J. Agric. Sci. Rev.*, v.4, p.78-88, 2015.

MOREIRA M. E. M., et al. "**Dinâmica da produção da forragem *Brachiaria humidicola* em função da aplicação de produtos orgânicos e fósforo**." In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. O solo e a produção de bioenergia: perspectivas e desafios. Fortaleza: SBCS, 2009., 2009.

MORRISON, F. B.; MORRISON, E.B.; MORRISON, S.H.; VEIGA, J.S. **Alimentos e alimentação dos animais**: elementos essenciais para alimentar, cuidar e explorar os animais domésticos, incluindo aves. 2 ed. Rio de Janeiro: USAID, 1966, 892p.

MOTA, J. K. M. **Influência ambiental no desenvolvimento e produção de ovos de codorna**. 2013. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Tecnologia e Recursos Naturais; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, 2013.

MOURA. G. S., et al. **Dietas de diferentes densidades energéticas mantendo constante a relação energia metabolizável:nutrientes para codornas japonesas em postura**. *R. Bras. Zootec.*, v.37, n.9, p.1628-1633, 2008.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. A New Blood Diluent for Counting the Erythrocytes and Leucocytes in Broiler Chicken. **Poultry Science**, v. 31, n. 4, p. 735–738, jul. 1952.

NASCIMENTO, S. T., SILVA, I. J. O. **The heat losses of poultry: Understanding heat exchanges with the environment. 2010.** Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/img/20100916_trocasdecalor.pdf> Acesso em: 28 jun. 2022.

NAZARENO, A. C. et al. Avaliação do conforto térmico e desempenho de frangos de corte sob regime de criação diferenciado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n. 6, p. 802–808, dez. 2009.

NORDI, W.M. et al. **Diagnóstico de bem-estar de codornas japonesas utilizando a liberdade sanitária em dois sistemas de criação** Curitiba: Labea Publicações, UFPR, 2007. 6p.

OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L. et al. Efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.183-190, 2000.

OLUKOSI, O. A. et al. Assessment of a bacterial 6-phytase in the diets of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 92, n. 8, p. 2101–2108, 19 jul. 2013.

ONBAŞILAR, E. E.; AKSOY, F. T. Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. **Livestock Production Science**, v. 95, n. 3, p. 255–263, ago. 2005.

PANDEY, A. et al. Production, purification and properties of microbial phytases. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 3, p. 203–214, maio 2001.

PASTORE, S. M.; OLIVEIRA, WP de; MUNIZ, J. C. L. Panorama da coturnicultura no Brasil. **Revista eletrônica nutritime**, v. 9, n. 6, p. 2041-2049, 2012.

PERSIA, M. et al. Interrelationship between environmental temperature and dietary nonphytate phosphorus in laying hens. **Poultry Science**, v. 82, n. 11, p. 1763–1768, nov. 2003.

PINTO, S. et al. Cálcio e Fósforo na Dieta de Galinhas de Postura: Uma Revisão. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 1, p. 5–18, 30 mar. 2012.

PLAVNIK, I. Nutrição de aves em climas quentes. In: **Proceedings of the Conferência Apinco**. 2003. P. 235-245.

RAJMAN, M. et al. **The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*)**. V. 145, n. 3, p. 363–371, 1 nov. 2006.

RETELATTO, R. et al. Aplicação dos conceitos de calorimetria na produção de frangos de corte. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 2, n. 2, p. 099-108, 12 nov. 2008.

ROSÁRIO, M. et al. Influência do Genótipo e do Sexo Sobre o Valor Hematócrito em Galinhas Reprodutoras Pesadas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 3, p. 281–286, set. 2000.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**, v. 2, p. 186, 2011.

SANTOS, N. R. DOS. **Exigências nutricionais para codornas europeias criadas em diferentes ambientes térmicos**. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/19236>>. Acesso em: 04 jun. 2023.

SCHMIDT, E. M. S. et al. Patologia clínica em aves de produção - Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola - Revisão. **Scopus**, 1 dez. 2007.

SILVA, Marco Aurélio Neves da et al. Fatores de estresse associados à criação de linhagens de avós de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 652-659, 2007.

SILVA, J. H. V. DA et al. Relação cálcio:fósforo disponível e níveis de fitase para poedeiras semipesadas no primeiro e segundo ciclos de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 2166–2172, 1 dez. 2008.

SILVA, J. H. V. Tabelas para codornas japonesas e europeias: Tópicos especiais, composição de alimentos e exigências nutricionais Jaboticabal. **SP: Funep**, 2009.

SILVA J. R. et al. **Exigências nutricionais de codornas**. V. 13, n. 3, p. 775–790, 1 set. 2012.

SILVEIRA, G. et al. **Perfil hematológico de codornas japonesas (Coturnix japonica) sob estresse térmico**. v. 41, n. 9, p. 1605–1610, 26 ago. 2011.

SOUSA, M. S. et al. Determinação de limites superiores da zona de conforto térmico para codornas de corte aclimatizadas no Brasil de 22 a 35 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, p. 350–360, 1 jun. 2014.

STURKIE, P. D.; GRIMINGER, P. Blood: physical characteristics, formed elements, hemoglobin, and coagulation. **Avian physiology**, p. 53-75, 1976.

SAFDARI-ROSTAMABAD, M. et al. Nanoselenium Supplementation of Heat-Stressed Broilers: Effects on Performance, Carcass Characteristics, Blood Metabolites, Immune Response, Antioxidant Status, and Jejunal Morphology. **Biological Trace Element Research**, v. 178, n. 1, p. 105–116, 22 nov. 2016.

TANG, F.; MESSINGER, S.; CRAY, C. **Use of an Indirect Sampling Method to Produce Reference Intervals for Hematologic and Biochemical Analyses in Psittaciform Species**. v. 27, n. 3, p. 194–203, 1 set. 2013.

THRALL M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Lippincott: Williams & Wilkins, 2004. 618p.

TORRES, J. L. R. **Estudo das plantas de cobertura na rotação milho-soja em sistema de plantio direto no cerrado, na região de Uberaba-MG**. 2003. 108 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2003.

USAYRAN, N. N. et al. **Effects of Added Dietary Fat and Phosphorus on the Performance and Egg Quality of Laying Hens Subjected to a Constant High Environmental Temperature**. v. 80, n. 12, p. 1695–1701, 1 dez. 2001.

VARGAS, J. G., MOTTA, R. R. **Produção de aves em clima quente**. **Boletim técnico**. Junho, 2007. 78 Ed.

VILA, L.G. (2013). **Hematologia em aves: revisão de literatura**. Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG. Goiânia. Disponível em: < [2013_Laura_Garcia_Seminario1corrig.pdf \(ufg.br\)](#)>. Acesso em: 10 de março de 2023.

VIOLA, E. S.; VIOLA, T. H.; LIMA, G. J. M. M. de; AVILA, V. S. de. Água na avicultura: importância, qualidade e exigências. In: PALHARES, J. C. P.; KUNZ, A. (Ed.). **Manejo ambiental na avicultura. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves**, 2011. p. 35-124. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 149).

VIVEROS, A. et al. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 8, p. 1172–1183, ago. 2002.

VOIGHT, G. L.; ISABEL CLIMENT AROZ; SALVADOR CLIMENT PERIS. **Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios**. Zaragoza: Acribia Editorial, 2003.

WALK, C. L. et al. Extra-phosphoric effects superdoses of a microbial phytase. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 719-725, 2013.

WAKENELL, P. S. Hematology of chickens and turkeys. **Schalm's Veterinary Hematology. Sixth Edition. Wiley-Blackwell**, p. 967-958, 2010.

WOLFENSON, D. et al. **Absorption of protein, fatty acids and minerals in young turkeys under heat and cold stress**. v. 28, n. 4, p. 739–742, 1 dez. 1987.