

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA PECTINA CÍTRICA SOBRE O
DESENVOLVIMENTO E A SAÚDE DO INTESTINO
DELGADO DE FRANGOS DE CORTE**

Viviane de Souza Morita
Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Março de 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DA PECTINA CÍTRICA SOBRE O
DESENVOLVIMENTO E A SAÚDE DO INTESTINO
DELGADO DE FRANGOS DE CORTE**

Viviane de Souza Morita

Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli

Dissertação apresentada à Banca Examinadora
como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal)
– Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Campus de Jaboticabal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Março de 2011

M862e Morita, Viviane de Souza
Efeito da pectina cítrica sobre o desenvolvimento e a saúde do intestino delgado de frangos de corte/ Viviane de Souza Morita. -- Jaboticabal, 2011
xiv, 144f ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientadora: Isabel Cristina Boleli
Banca examinadora: Marcos Macari, José Roberto Sartori
Bibliografia

1. Frangos de corte. 2. Fibra solúvel. 3. Morfologia intestinal. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.085.8

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VIVIANE DE SOUZA MORITA - nasceu no dia 26 de abril de 1985 em Jaboticabal/SP. Em 2003 ingressou no curso de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, completando em 2007. Sob orientação da Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli, foi bolsista de iniciação científica pela Fapesp e pelo CNPq, durante a graduação. Na referida instituição iniciou o Mestrado em 2009 no programa de Zootecnia (Produção Animal), onde foi bolsista pelo CNPq. Defendeu sua dissertação no dia 22 de fevereiro de 2011.

“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que fez tua rosa tão importante.”

(Antoine de Saint-Exupéry)

Aos meus queridos pais,

Vilma e Valter

Ao meu irmão,

Júnior

*Por toda dedicação, compreensão, incentivo, apoio, ajuda e amor
incondicional.*

Sem vocês, eu não teria alcançado esta vitória na minha vida.

A mo Vocês!

Minha dedicação especial

Ao meu avô,

Arthur

*Pelos ensinamentos, amor, dedicação, zelo e companhia. Obrigada
por ser meu anjo da guarda e estar sempre presente em minha vida,
mesmo quando isso não é mais possível.*

Meu oferecimento especial

À Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli,

Os meus sinceros agradecimentos pela orientação, amizade, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho e pelo grande exemplo de profissionalismo.

Meu agradecimento especial

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter permanecido sempre ao meu lado, me iluminando, dando força e a sabedoria necessária para que eu obtivesse esta conquista em minha vida.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Unesp – Campus de Jaboticabal e ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia pela oportunidade oferecida para a realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/ CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo/ FAPESP pelo auxílio pesquisa concedido.

Às professoras Kênia C. Bicego e Maria Regina B. de Carvalho (comissão examinadora do exame de qualificação) e aos professores Marcos Macari e José Roberto Sartori (comissão examinadora da Dissertação) pelas importantes sugestões feitas para o aprimoramento da Dissertação.

Ao professor Euclides pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Vanessa, pelos ensinamentos, ajuda e pela amizade durante estes últimos anos.

Aos companheiros de trabalho e grandes amigos Tamiris, Michaela, Mariana, Marcos, Lilian, Paula, Wedson, Lívia e Raquel. Agradeço a todos vocês pela valiosa colaboração na realização desse trabalho, pelo apoio nas horas mais difíceis e pelo companheirismo nos momentos de descontração que fortaleceram nossa amizade.

Aos amigos da pós-graduação pela convivência nestes dois anos, em especial à Janaína, Rodrigo, Rafael, Juan, Fabrício, Karoll, Miguel, Fernando, Sarah e Maria Fernanda.

Ao Sr. Orandi pela confecção das lâminas histológicas, pela ajuda e pela amizade ao longo desses anos.

Aos funcionários da FCAV/UNESP: Clara, Wagner, Euclides, Damares e William (Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal), Izildo, Robson e Vicente (Setor de Avicultura), Sandra, Oswaldo e Helinho (Fábrica de Ração), Karina, Diego e Rafael (Seção de Pós-graduação) a todos, muito obrigada pela importante colaboração na realização deste trabalho.

Às minhas amigas de Faculdade, Mariane, Juliana, Adriana, Melina, Jacqueline e Vivian, por todos os momentos inesquecíveis e pela felicidade compartilhada.

Às minhas amigas de infância, Fernanda, Cristina e Camila, que mesmo distante, sempre estiveram tão perto me ajudando e me apoiando.

À Marília, por todo apoio, amizade e companheirismo.

A toda minha família, que sempre me apoiou em todas as minhas decisões. Obrigada pela confiança, orações e pelo amor que sempre tiveram.

São pessoas assim tão especiais que me ajudaram a superar todos meus obstáculos e todas minhas dificuldades.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente colaboraram com a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Enfim, agradeço a todos que estão ou que estiveram em minha vida durante este período, agradeço até mesmo as pessoas que me fizeram passar por grandes dores, pois com cada decepção, cresci e me fortaleci.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Introdução.....	1
Revisão de literatura.....	2
Fibra solúvel: Pectina.....	2
Área de digestão a absorção.....	5
Renovação e integridade epitelial.....	7
Proteção da mucosa intestinal.....	9
Referências.....	11
 CAPÍTULO 2 – PECTINA NA DIETA INFLUENCIA O pH E O NÚMERO DE CÉLULAS CALICIFORMES INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE (<i>Gallus domesticus</i>).....	 22
Resumo.....	22
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e métodos.....	25
Resultados.....	30
Discussão.....	48
Conclusão.....	52
Referências.....	52
 CAPÍTULO 3 – FRANGOS DE CORTE (<i>Gallus domesticus</i>) RESPONDEM À INGESTÃO DE PECTINA COM AUMENTO NA SUPERFÍCIE LUMINAL DO INTESTINO DELGADO.....	 57
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	59

Material e métodos.....	60
Resultados.....	65
Discussão.....	99
Conclusão.....	101
Referências.....	101

**CAPÍTULO 4 – RELAÇÃO ENTRE NÍVEL DE PECTINA NA DIETA E
RENOVAÇÃO CELULAR E INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL EM
FRANGOS DE CORTE (*Gallus domesticus*..... 106**

Resumo.....	106
Abstract.....	108
Introdução.....	109
Material e métodos.....	111
Resultados.....	122
Discussão.....	140
Conclusão.....	142
Referências.....	142

EFEITO DA PECTINA CÍTRICA SOBRE O DESENVOLVIMENTO E SAÚDE DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO: Foi conduzido um experimento com o objetivo de avaliar os efeitos da ingestão contínua de pectina sobre o desenvolvimento, integridade e proteção da mucosa intestinal de frangos de corte. Foram analisados o pH jejunal e ilíaco, número de células caliciformes, morfometria intestinal, graus de perda de epitélio e taxa de mitose e apoptose. Para isso foram utilizados 600 pintos machos Cobb®, com um dia de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida, sendo quatro níveis de pectina na ração (0, 1, 3 e 5%) e seis idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com cinco repetições de 30 aves por tratamento, sendo os parâmetros avaliados semanalmente no período de 1 a 42 dias de idade. Com base nos resultados, verificou-se que a ingestão de pectina reduz o pH jejunal e ilíaco, tornando-o mais ácido, bem como aumenta o número de células caliciformes (mucina neutra e ácida), e, conseqüentemente, a proteção da mucosa intestinal. Os dados de morfometria do intestino delgado mostraram que a inclusão da fibra na dieta não teve efeito sobre o comprimento total do intestino delgado e de cada um de seus segmentos, exceção feita ao íleo, cujo comprimento diminuiu com o aumento da pectina. Por outro lado, o perímetro do duodeno, jejuno e íleo aumentou com a pectina, bem como a área total dos mesmos. A altura, largura, perímetro e área das vilosidades dos três segmentos intestinais reduziram com a inclusão de pectina. Contrariamente, a densidade e o número total de vilos e a área total de superfície luminal aumentaram com a ingestão da fibra. A profundidade de cripta não foi influenciada pelos níveis de pectina, todavia, o índice mitótico nessa região foi reduzido com o aumento da fibra em todos os segmentos intestinais. Os resultados de graus de perda de epitélio mostraram que no duodeno, jejuno e íleo, o aumento do nível de pectina na dieta diminui a porcentagem de vilos normais e aumenta o grau de perda de epitélio. Além disso, independentemente do nível da fibra, o duodeno foi o segmento intestinal que apresentou maior grau de perda de epitélio, seguido pelo jejuno, e depois pelo íleo, sendo este último o segmento que apresentou epitélio

mais conservado. Conclui-se que a inclusão de pectina na dieta de frangos de corte acidifica o pH jejunal e ileal, aumenta o número de células caliciformes, diminui o tamanho das vilosidades, aumenta a densidade dos vilos, a área de digestão e absorção intestinal. Além disso, seu consumo diminui a renovação celular e a integridade da mucosa o intestino delgado, comprometendo a saúde intestinal dos mesmos.

Palavras-chave: apoptose, fibra solúvel, morfologia intestinal, renovação celular.

EFFECT OF CITRUS PECTIN ON HEALTH AND DEVELOPMENT OF SMALL INTESTINE OF BROILER

ABSTRACT: An experiment was conducted to evaluate the effects of continuous ingestion of pectin on the development, integrity and protection of the intestinal mucosa of broilers. It was analyzed the jejunum and ileum pH, number of goblet cells, intestinal morphology, degree of loss of epithelium and rate of mitosis and apoptosis. For this we used 600 male Cobb chicks ®, with one day of age in a randomized design in a split plot design, four levels of pectin in the diet (0, 1, 3 and 5%) and six ages (7 , 14, 21, 28, 35 and 42 days) with five replicates of 30 birds per treatment, the parameters evaluated weekly from 1 to 42 days old. Based on the results, it was found that the intake of pectin reduces the jejunum and ileum pH, making it more acidic and increases the number of goblet cells (mucin-neutral and acid) and, consequently, to protect the intestinal mucosa . Data from the intestine showed that the inclusion of fiber in the diet had no effect on the total length of small intestine and each of its segments, except the ileum, whose length decreased with increasing pectin. Moreover, the perimeter of the duodenum, jejunum and ileum increased with the pectin, and the total area thereof. The height, width, perimeter and area of the villi of the three intestinal segments decreased with the addition of pectin. In contrast, the density and total number of villi and the total luminal surface area increased with increasing intake of fiber. The crypt depth was not influenced by levels of pectin, however, the mitotic index in that region was reduced with increasing fiber in the intestinal segments. The results of degree of loss of epithelium showed that the duodenum, jejunum and ileum, the increased level of pectin in the diet decreases the percentage of normal villi and increases the degree of loss of epithelium. Furthermore, regardless of the level of fiber, the duodenum was the intestinal segment with the highest degree of loss of epithelium, followed by the jejunum and then the ileum, the latter being the segment that had kept epithelium. We conclude that the inclusion of pectin in the diet of broilers acidifies the jejunal and ileal pH, increases the number of goblet cells, decreases the size of the villi, and increases the density of the villi, the area of intestinal

digestion and absorption. In addition, its consumption decreases cell turnover and integrity of the small intestine mucosa, impairing its intestinal health.

Keywords: apoptosis, cell renewal, intestinal morphology, small intestine, soluble fiber.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

A preocupação crescente em melhorar a qualidade da carne em atendimento aos interesses dos consumidores é um dos fatores mercadológicos que vem guiando o desenvolvimento da avicultura mundial. Atualmente, a descoberta de novos aditivos que visem alterar o metabolismo lipídico, e conseqüentemente, a deposição de gordura animal, tem sido alvo de interesse de vários pesquisadores, bem como do setor produtivo, para o qual a geração de produtos com menor teor de gordura atenderia a indivíduos que apresentam desordens metabólicas, incluindo obesidade, ou predisposição às mesmas.

O hábito de ingestão de dietas com alto teor em fibras tem sido universalmente difundido nos últimos anos devido aos seus efeitos benéficos sobre o aparelho digestório, onde regulariza o trânsito intestinal, reduz a consistência do bolo fecal, melhora a fermentação do conteúdo intestinal e o trofismo da mucosa do cólon (COPPINI et al., 2001). Além disso, certos tipos de fibra dietética podem ser utilizados visando proporcionar efeito hipocolesterolêmico (ERSHOFF e WELK, 1962; KIRTHCHEVSKY et al., 1986; MARTINS et al., 2005), hipoglicêmico e hipolipidêmico (ROLANDELLI et al, 1988; CÓRDOVA et al., 2005) para a saúde animal.

O Brasil possui muitos produtos que podem ser utilizados como fontes de fibras, como por exemplo, a polpa cítrica, importante resíduo da indústria citrícola e fonte rica em fibras solúveis, principalmente pectina, cuja utilização tem sido preconizada devido ao efeito sobre a concentração sérica de colesterol. Dietas contendo elevadas porcentagens de pectina reduzem concentração plasmática de colesterol, mais precisamente, da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e alguns outros lipídeos relacionados ao colesterol nos monogástricos (JUDD e TRUSWELL, 1982; EASTWOOD, 1992; MELO et al., 2007). Estes efeitos estão relacionados à diminuição da digestão e, conseqüentemente, da absorção dos nutrientes provenientes da ração, principalmente proteína e gordura (SILVA et al., 2009). Isso ocorre, segundo Philip et al. (1995), Classen (1996) e Ramos e Lopes (2006), pois, no intestino, a fibra solúvel forma um gel quando em contato com a

água, o que reduz o tempo de trânsito intestinal, a ação hidrolítica das enzimas e a redução dos monômeros para a absorção.

Entretanto, é imprescindível que a dieta alimentar não cause danos a integridade morfofuncional do sistema digestório da ave, pois o desenvolvimento e a saúde intestinal são imprescindíveis para o aproveitamento dos nutrientes e, conseqüentemente, para o bom desempenho. Dessa forma, é indiscutível a importância e necessidade de se conhecer detalhadamente os efeitos da ingestão de fibras sobre as características morfofuncionais do sistema digestório, cujos mecanismos ainda estão poucos elucidados.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da ingestão de pectina sobre o desenvolvimento, renovação celular e proteção da mucosa intestinal de frango de corte.

REVISÃO DE LITERATURA

Fibra solúvel: Pectina

Os carboidratos constituem a principal fonte de energia na dieta animal e agregam uma grande variedade de compostos orgânicos que possuem diferentes perfis de fermentação e digestão, atuando de maneira distinta no organismo animal (LIMA et al., 2006). São formados por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, arranjados, muitas vezes, em longas cadeias de moléculas repetidas de açúcares simples. Existem três tipos principais de carboidratos oriundos de vegetais: açúcares, amidos e fibras (CUNNINGHAM, 2004).

A fibra dietética é a fração do alimento lentamente digestível e fração indigestível no trato digestório, representando uma mistura de polissacarídeos estruturais (celulose, hemicelulose e pectina) e não estruturais (gomas e mucilagens)(SCHULZE et al., 1994), além da lignina (FUKUSHIMA e DEHORITY, 2000). Por outro lado, Hetland et al. (2004) classificaram a fibra como polissacarídeo não amiláceo (PNA) e lignina. Segundo Montagne et al. (2003), os PNA's são constituídos principalmente de celulose, pentosanas, pectinas, β -glucanas e xilanas. Os PNA's têm unidades formadoras unidas por ligações tipo β ,

que os torna indigestíveis para monogástricos (LONGLAND et al, 2004). Hetland et al., (2004) classificaram os PNA's como solúveis e insolúveis, sendo a principal diferença entre essas fibras é que a primeira afeta consideravelmente a microbiota, pois aumenta a viscosidade da digesta, propiciando um ambiente favorável à proliferação de bactérias patogênicas (HETLAND et al., 2004).

Pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de determinar o papel da fibra na nutrição de não ruminantes, sendo que a maioria deles mostra que a fração fibra dietética causa redução da digestibilidade dos nutrientes das rações (SCHULZE et al., 1994), alterações na taxa de absorção de proteínas, aminoácidos e minerais (KING e TAVERNER, 1975). Os efeitos da ingestão de dietas ricas em fibras, entretanto, dependem dos níveis e tipos de fibras na dieta oferecida ao animal (DIERICK et al., 1989), bem como do seu estado fisiológico, idade e peso corporal (BELL e KEITH, 1989).

As fibras sozinhas ou em combinação podem diminuir a digestão e a absorção dos lipídios dietéticos e/ou sequestrantes dos ácidos biliares, aumentar a produção de ácidos graxos de cadeias curta no cólon devido à fermentação, e/ou diminuir a porcentagem de ácidos biliares primários na bile (sintetizados pelo hepatócito), embora aumentem a de ácidos secundários (sal biliar primário que sofreu ação bacteriana no intestino) (TOPPING, 1991).

A ingestão de fibras pode alterar o tempo de trânsito intestinal, bem como a estrutura da mucosa intestinal (VAHOUNY, 1982) devido ao aumento da viscosidade da digesta. Isso, segundo Smits e Annison (1996), reduz a absorção de nutrientes devido à formação de gel, que dificulta a ação das enzimas digestivas e a difusão de todas as substâncias relacionadas com a digestão e absorção. Segundo os mesmos autores, a formação do gel e conseqüente aumento no tempo de trânsito da digesta pelo intestino exercem um efeito negativo sobre o consumo de ração. De acordo com Cantor (1995), existe uma relação direta entre a porcentagem de fibra presente na ração, a viscosidade da digesta e a taxa de digestão intestinal, bem como com a taxa de ingestão alimentar (VAREL et al., 1984). Como já mencionado, POND et al. (1981) verificaram que oferecimento de ração contendo 35% de farinha de alfafa deprimiu

a taxa de ganho de peso e piorou a conversão alimentar de suínos, mas promoveu menor deposição de gordura na carcaça (espessura do toucinho), situação preconizada atualmente pelo mercado consumidor.

Além disso, vários carboidratos têm sido testados ao longo dos anos quanto ao efeito hipocolesterolêmico, cujos resultados mostram que dependendo dos níveis e tipos de fibras na dieta pode ocorrer redução na absorção de glicose sérica pós-prandial, normalmente em dietas ricas em carboidratos (CÓRDOVA et al., 2005), no colesterol circulante (VERGARA-JIMENEZ et al. 1998) e no metabolismo dos lipídios (ROLANDELLI et al., 1986). Dentre as substâncias testadas, a pectina tem sido a mais efetiva na redução dos níveis de colesterol sérico e hepático (WELLS e ERSHOFF, 1961; GARCIA-DIEZ et al., 1996; FIETZ e SALGADO, 1999).

A pectina é uma fibra solúvel encontrada em grande quantidade na laranja, maçã e na casca do maracujá. É um importante constituinte da parede celular e da região intercelular do tecido de angiospermas, sendo extremamente variável na sua estrutura química. Esta variação afeta as propriedades físico-químicas, as quais podem afetar as atividades nutricional-fisiológicas (LANGHOUT e SCHUTTE, 1996). A pectina é um polissacarídeo, cujo esqueleto péctico é primariamente um homopolímero constituído de ácido galacturônico ligado em ramificações β 1-4, com grau variado de grupos carboxilas metil esterificado (VORAGEN et al., 1995; PEREZ et al., 2003; VORAGEN et al., 2009). Sua capacidade de formação de gel está relacionada à sua quantidade de grupos polares livres (como as hidroxilas), à estrutura tridimensional, ao pH, aos eletrólitos presentes no meio, à solubilidade e concentração de pectina na dispersão, à massa molar, ao grau de metilação, à distribuição dos grupamentos ao longo da cadeia péctica e à composição das cadeias laterais (THIBAULT e PETIT, 1979; THIBAULT et al., 1991; FILISETTI e LOBO, 2007).

Langhout e Schutte (1996) avaliaram a inclusão de 1,5 e 3% de pectina de alta e baixa metoxilação e pectina de açúcar de beterraba na ração de frangos. Os autores verificaram que a inclusão de pectina de alta metoxilação na dieta reduziu significativamente o desempenho e crescimento das aves, e concluíram que o

efeito da pectina dietética sobre o desempenho dos frangos é dependente do grau de metoxilação, da origem da pectina e, da quantidade adicionada à dieta. Por sua vez, Togashi et al. (2006, 2007) avaliaram os efeitos da inclusão de subprodutos da indústria do maracujá (4% de casca, 8% de casca, 4% semente e 8% semente) na ração (22 a 42 dias) sobre o desempenho, morfologia intestinal, teores de colesterol e composição de ácidos graxos na carcaça de frangos de corte. Eles observaram que as características de desempenho produtivo (ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar) não foram influenciadas, mas que as alturas das vilosidades intestinais foram maiores nos tratamentos que utilizaram 8% de casca. Também houve aumento dos níveis de ácidos graxos insaturados (ômega 3 e 6) nos músculos da perna, menor deposição de ácidos graxos saturados nos músculos da perna e peito, e redução nos teores de colesterol nos tecidos. Silva et al. (2009) concluiu que inclusão de 1 e 3% de pectina (de alto grau de esterificação, extraída de laranja) na dieta de frangos de corte melhorou o aproveitamento da ração para as fases inicial e de crescimento, respectivamente, aumentou a viscosidade e o tempo de trânsito intestinal. Foi também verificado que inclusão de 1% de pectina na ração melhorou o desempenho dos frangos de corte. Por outro lado, as aves que receberam ração com inclusão de 5% apresentaram pior conversão alimentar, menor ganho de peso e, conseqüentemente, menor peso corporal e menor rendimento de partes à idade de abate. Além disso, as fezes foram mais pastosas.

Área de digestão e absorção

As aves apresentam ao longo do intestino delgado muitas dobras microscópicas, denominadas vilosidades ou vilos, que proporcionam um aumento na superfície interna do órgão e, por conseqüência, na área de digestão e absorção. A altura e a forma do vilo variam ao longo do intestino. No duodeno, os vilos são normalmente mais longos e digitiformes, enquanto que no jejuno e íleo eles geralmente se apresentam de forma lameliformes com aspecto folheáceo. O epitélio de revestimento dos vilos é do tipo simples, e constituído por enterócitos

(responsáveis pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes), células caliciformes (produtoras de mucinas que protegem o epitélio intestinal e servem de sítio de ligação para a microbiota intestinal), células entero-endócrinas (reguladoras da atividade do epitélio intestinal) e das células das criptas (originam as células do epitélio), (BOLELI et al., 2002).

É conhecido que o sistema digestório, principalmente o intestino delgado, possui uma plasticidade muito grande de resposta à ingestão de uma dieta exógena (ração). Tal órgão é o principal responsável pela digestão e absorção de nutrientes, assim quanto antes os pintainhos alcançarem sua capacidade funcional, mais cedo poderão utilizar os nutrientes da dieta, crescer eficientemente e demonstrar seu potencial genético, resistir a infecções e a doenças metabólicas (UNI e FERKET, 2004).

No período pós-natal, o trato gastrointestinal das aves está anatomicamente completo, entretanto sua capacidade funcional, de digestão e absorção, ainda está imatura, se comparada à de aves adultas (MAIORKA et al., 2002). Assim, após a eclosão, o intestino sofre um processo de maturação, o qual envolve mudanças morfológicas que proporcionam aumento na área de superfície de digestão e de absorção. Tais mudanças envolvem aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos, e conseqüentemente, no número de enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas (IMONDI e BIRD, 1966; BARANYIOVA, 1972; BARANYIOVA e HOLDMAN, 1976).

Quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilo, e por conseqüência, maior a área de digestão e absorção de nutrientes. YAMAUCHI e ISSHIKI (1991) afirmam que a densidade de vilos/área reduz com o aumento da idade dos frangos, evidenciando aumento no tamanho do vilo ao longo da idade da ave.

Inúmeros fatores podem lesar a mucosa do intestino delgado, além de, comprometer os processos digestórios. Segundo Pluske et al. (1997), um período de baixa ingestão de alimento resultou em danos no epitélio intestinal. Por outro lado, a integridade da mucosa também pode ser afetada negativamente pelo consumo de determinados alimentos (VAN BEERS-SCHREURS et al., 1998;.

SPREEUWENBERG et al., 2001; VENTE-SPREEUWENBERG et al., 2003). Em suínos, tem sido demonstrado que dietas ricas em fibras solúveis, que aumentam a viscosidade intestinal, reduzem a altura do vilô e aumentam a profundidade de cripta (McDONALD, 2001). Segundo Jin et al. (1994), isso ocorre devido à ação abrasiva da fibra sobre o epitélio intestinal. Contrariamente, Moore et al., (1988) não observaram alterações nas células intestinais de suínos alimentados com níveis mais elevados de fibras, exceto que em alguns animais foram encontrados indícios de prejuízo no epitélio intestinal, apontando que certos indivíduos poderiam, ser ou estar mais susceptíveis à ação abrasiva, em decorrência da presença de fibra na dieta.

Pelos diferentes modos de atuação dos componentes da fibra, alguns trabalhos têm sido realizados utilizando-se ingredientes fibrosos, sendo eles subprodutos ou fontes purificadas. Hedemam et al. (2006) avaliaram o efeito da fonte (pectina purificada e casca de cevada), e da concentração de fibra nas dietas de leitões desmamados, sobre a morfologia intestinal, a concentração de mucina e a atividade enzimática, e verificaram que nos animais que receberam a dieta contendo pectina purificada, houve reduções do consumo de ração e do ganho de peso, apresentaram menores alturas das vilosidades e profundidades de criptas e menor produção de mucina. Ao contrário, nos animais que consumiram a dieta com alto teor de fibra insolúvel (casca de cevada), houve melhoria na morfologia intestinal, resultando em maiores alturas dos vilos e aumento na atividade enzimática.

Renovação e integridade epitelial

O processo normal de renovação celular na mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação) resultantes das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos e perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos (UNI et al., 1996). O epitélio intestinal está em constante renovação (turnover), frente ao envelhecimento ou esgotamento

funcional de suas células e à deterioração das mesmas pela passagem da digesta (atrato) e processos de digestão da mesma (pH, enzimas, etc) (CHENG e LEBLOND, 1974).

O equilíbrio entre as taxas de mitose e descamação epitelial determina a manutenção da integridade epitelial dos vilos. Taxa maior de extrusão que de formação de células deixa os vilos com o tecido conjuntivo exposto, reduzindo as áreas de digestão e absorção, bem como expondo o animal à ação de patógenos que possam ser ingeridos, podendo, portanto, comprometer a saúde aviária e, conseqüentemente, seu crescimento (GOMIDE et al., 2004).

O processo de renovação celular (proliferação, diferenciação, morte e extrusão) consiste de um evento geneticamente programado, detectado normalmente durante processos de regulação do desenvolvimento e da renovação celular (MELLO et al., 2001). No entanto, a renovação celular pode ser induzida ou antecipada, processo este conhecido como apoptose celular, cujo papel é oposto ao da mitose no controle da proliferação celular (GERSCHENSON e ROTELLO, 1992). Ou seja, atua como resposta fisiológica, permitindo a remoção de células ou tecidos alterados, exercendo, assim, papel importante na manutenção da estrutura de órgãos e/ou tecidos, impedindo que suas funções sejam alteradas por fatores exógenos (GERSCHENSON e ROTELLO, 1992; HOCKENBERY, 1995; MAJNO e JORIS, 1995).

Estudos têm mostrado que as fontes e os níveis de fibra dietética influenciam a morfologia da mucosa intestinal, alterando a altura das vilosidades, profundidade das criptas, descamação das células epiteliais e o número de células caliciformes (CERA et al., 1998; JIN et al., 1994; KLASING, 1998; TUCCI, 1999; YU e CHIOU, 1997). De acordo com HANCOCK et al. (1990), a profundidade da cripta é um indicativo do porcentagem da hiperplasia das células epiteliais, o que está relacionado, entre outros fatores, com a magnitude da zona de extrusão das vilosidades e o grau de antigenicidade dos componentes da ração. A relação desejável entre vilosidades e criptas intestinais ocorre quando as vilosidades se apresentam altas e as criptas rasas, pois quanto maior a relação altura de

vilosidade:profundidade de cripta, melhor será a absorção de nutrientes e menores serão as perdas energéticas com a renovação celular (LI ,1991; NABUUS, 1995).

Nyachoti et al. (1997) estudando o efeito de diferentes níveis de canola na dieta de aves, verificaram que os maiores níveis de inclusão deste farelo aumentaram linearmente a profundidade de cripta, efeito atribuído à ação da fibra e taninos sobre o revestimento interno da mucosa, e foi observado ainda descamação do epitélio esofágiano, espessamento do papo, erosão superficial e sinais de necrose das mucosas gástrica e duodenal, que resultam em redução na capacidade digestiva e absorviva do trato gastrintestinal, contribuindo para uma redução nos índices de desempenho destes animais.

Segundo Cera et al. (1988) e Tucci (1999), dietas contendo elevados níveis de ingredientes fibrosos aumentam a descamação de células epiteliais do intestino de suínos jovens, resultando na diminuição de suas vilosidades e, conseqüentemente, na redução da capacidade absorviva intestinal e desempenho animal.

Nos frangos de corte, cerca de 23 a 36% do total de energia e entre 23 e 38% de toda a proteína absorvida pelo organismo é utilizada na manutenção do sistema digestório (GODDEERIS et al., 2002). Sendo assim, maior perda de epitélio e turnover celular podem levar a necessidade de maior gasto energético e de moléculas estruturais para manter integridade morfo-funcional intestinal, promovendo prejuízos ao crescimento das aves e maiores custos de produção, já que aumentaria a porcentagem de nutrientes e energia ingeridos destinados à manutenção intestinal. Além disso, a ocorrência de perda acentuada de epitélio e exposição do tecido conjuntivo dos vilos predispõe as aves à ação de agentes enteropatogênicos.

Proteção da mucosa intestinal

A superfície absorviva do intestino delgado é recoberta por uma camada de muco composta predominantemente por mucinas glicoprotéicas (ácidas e neutras), as quais são sintetizadas e secretadas pelas células caliciformes

distribuídas ao longo dos vilos (UNI et al., 2003). A célula caliciforme é uma glândula unicelular presente no revestimento do intestino delgado e no trato respiratório. Esta célula caracteriza-se pela presença de núcleo oval na sua região basal e de numerosos grânulos de secreção de grande tamanho em sua região apical (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Além disso, se originam de processos mitóticos sofridos pelas células totipotentes na base das criptas (CHENG e LEBLOND, 1974) ou de células pouco diferenciadas presentes na parte inferior da cripta, chamadas de células oligomucosas (CHENG e LEBLOND, 1974). Essas células têm curto período de vida, aproximadamente 72 horas, sendo constantemente substituídas (GEYRA et al., 2001). A camada de muco age como um meio de proteção da mucosa intestinal contra danos químicos e patógenos e atua como mediadora do transporte entre o conteúdo luminal e a mucosa, exercendo por sua vez, função protetora, transportadora e seletiva, (UNI et al., 2003).

Mucinas compreendem uma classe de glicoproteínas com regiões glicosiladas e não glicosiladas (ALLEN, 1981), as quais apresentam N-acetilglicosamina, N-acetilgalactosamina, fucose e galactose como oligossacarídeos primários. Essas moléculas exibem um alto nível de heterogeneidade, que resultam em diferenças quanto à sua espessura, composição, ramificação e grau de sulfatação e acetilação dos oligossacarídeos (NEUTRA e FORSTNER, 1987). Mucinas ácidas podem ser detectadas por coloração de Alcian Blue (AB) pH 2,5 e mucinas neutras por coloração de ácido periódico de Schiff (PAS) (McMANUS, 1948). Os subtipos de mucina, bem como a distribuição de células caliciformes variam ao longo do trato gastrointestinal e com a idade em muitas espécies de mamíferos (SHEAHAN e JERVIS, 1976; DUNSFORD et al., 1991; ENSS et al., 1994; SHARMA e SCHUMACHER, 1995), todavia, a dinâmica das mucinas e células caliciformes em frangos de corte ainda não está bem elucidada (UNI et al., 2003).

De acordo com estudo desenvolvido por Brunsgaard (1998), a inclusão de dietas fibrosas, ricas em cereais, na alimentação de suínos atua sobre a mucosa intestinal, estimulando a produção e liberação de muco pelas células da

mucosa. Segundo Von Engeelhardt et al. (1989), esta ação seria resultante da proliferação celular do epitélio intestinal causada pelo aumento da concentração dos ácidos graxos voláteis no intestino, em decorrência da fermentação da fibra dietética da ração.

Por outro lado, o aumento da produção de muco pode ser também uma tentativa de proteção das células intestinais aos fatores físicos inerentes à fibra alimentar, pela natureza físico-química dos volumosos, bem como efeito abrasivo ou de extrusão (DE BLAS e WISEWMAN, 1998; GIDENNE, 1996). É de se esperar que fontes fibrosas pouco fermentáveis tenham mais características abrasivas, e neste caso, a maior produção de muco pode ser encarada como resposta saudável do epitélio intestinal (CLEMENS, 1996).

Arruda et al. (2008) verificaram que a inclusão de 25% de casca de soja na dieta de coelhos aumentou o número de células caliciformes (mucina neutra) em comparação aos animais que receberam dietas com menor teor de fibra. Os autores também observaram que o número de células caliciformes foi menor no jejuno em relação ao duodeno possivelmente devido à função auxiliar de neutralização da acidez gástrica e manutenção da fase aquosa estacionária da mucosa intestinal “*glicocálix*”, enquanto o maior número de células encontradas no íleo pode estar relacionado com viscosidade da digesta ou higroscopicidade da fibra e barreira física imunológica devido a certa atividade microbiana migratória do ceco-cólon.

REFERÊNCIAS

ALLEN, A. Physiology of the Gastrointestinal Tract. In: JOHNSON L. R. (ed.), Raven Press, New York, 1981, p. 617-639.

ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, R.T.V.; SILVA, J.M.; LOPES, D.C. Avaliação morfo-histológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis e fontes de fibra. **Revista Caatinga**, v.21, n.2, p.1-10, 2008.

BARANYIOVA, E. Influence of deutectomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching. **Acta Veterinary Brunensis**, v.41, p.373-84, 1972.

BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinary Brunensis**, v.45, p.151-58, 1976.

BELL, J. M.; KEITH, M. O. Factors affecting the digestibility by pigs of energy and protein in wheat, barley and sorghum diets supplemented with canola meal. **Animal Feed Science and Technology**, v.24, n.3-4, p.253-65, 1989.

BOLELI, I.C; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 75-95.

BRUNSGAARD, G. Effects of cereal type and feed particle size on morphological characteristics, epithelial cell proliferation, and lectin binding patterns in the large intestine of pigs. **Journal of Animal Science**, v. 76, p.2787–98, 1998.

CANTOR, A. Enzimas usadas na Europa, Estados Unidos e Ásia. Possibilidades para uso no Brasil. In: **Ronda Latino Americana de Biotecnologia**, Curitiba, p. 31-42, 1995.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F. et al. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574-84, 1988.

CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Technology**, v.62, p.21-27, 1996.

CHENG, H.; LEBLOND, C. P. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cells in the mouse small intestine. IV. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. **American Journal of Anatomy**, v.141, p.537-61, 1974.

CLEMENS, E. T. Dietary fibre and colonic morphology. In: **Recent Advances in Canine and Feline Nutrition**. Proc. IAMS Int. Symp, p. 25–32, 1996.

COPPINI, L,Z,; WAITZBERG, D,L,; CAMPOS, F,G,; HABR-GAMA, A. Fibras alimentares e ácidos graxos de cadeia curta, In: Waitzberg, D.L, **Nutrição oral. Enteral e parental na prática clínica**, 3ª ed, São Paulo: Atheneu, 79-94, 2001.

CÓRDOVA, K. R. V.;THAÍS M.M. TAVARES BASTOS GAMA, T. M. M. T.B.; WINTER, C. M.G.; KASKANTZIS NETO, G.; FREITAS, R. J.S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa Degener) obtida por secagem, **B.CEPPA**, Curitiba, v.23, n.223, p.222, 2005.

CUNNINGHAM, J.G. Tratado de Fisiologia Veterinária. 3ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

DE BLAS, C.; WISEMAN, J. **The nutrition of the rabbit**. Cambrigde: University Press – CAB International, 1998. 344p.

DIERICK, N.A.; VERVAEKE, I.J.; DEMEYER, D.I.; DECUYPERE, J.A. Approach to the energetic importance of fiber digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.23, p.141-67, 1989.

DUNSFORD, B. R.; HAENSLY, W. E.; KNABE, D. A. Effects of diet on acidic and neutral goblet cell population in the small intestine of early weaned pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, p.1743-46.

ENSS, M.L; SCHMIDT-WITTIG, U.; HÖNER, K.; KOWNATZKI, R.; GÄRTNER, K. Mechanical challenge causes alterations of rat colonic mucosa and related mucins. **Journal Experimental of Animal Science**, v.36, p.128–140, 1994.

FIETZ, V.R.; SALGADO, M.S. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.19, n.3, p.3218-21, 1999.

FILISETTI, T.M.C.C.; LOBO, A.R. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. In: Cozzolino, S.M.F. Biodisponibilidade de nutrientes, Barueri: Manole, p.175-215, 2007.

FUKUSHIMA, R.S.; DEHORITY, B.A. Feasibility of using lignin isolated from forages by solubilization in acetil bromide as a standard for lignin analyses. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.78, n.12, p.3135-43, 2000.

GARCIA-DIEZ, F.; GARCIA-MEDIAVILLA, V.; BAYON, H.; GONZALEZ-GALLEGL, J. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. **The Journal of Nutrition**, v.126, p.1766-71, 1996.

GERSCHENSON, R.E.; ROTELLO, R.J. Apoptosis a different type of a cell death. **The FASEB Journal**, v.6, p.2450-55, 1992.

GIDENNE, T. Nutritional and ontogenic factors affecting rabbit caeco-colic digestive physiology.

In: **6th World Rabbit Congress**, 1996. Tolouse, Invited Papers... AFC / INRA, p.13-28, 1996.

GODDEERIS, B.M.; BOERSMA, W.J.A., COX, E.; VAN DER STEDO; KOENEN M.E.; VANCAENEGHEM, S.; MAST, J.; VAN D. Nutrition and health of the gastrointestinal tract in poultry. **Wageningen Academic Publishers**, p. 97 – 134, 2002.

GOMIDE JR, M. H.; STERZO, E. V.; MACARI, M.; BOLELI, I. C. Use of Scanning Electron Microscopy for the Evaluation of Intestinal Epithelium Integrity. **Brazilian Journal of Animal Science**, v.33, n.6, p.1500-05, 2004.

HANCOCK, J.D. et al. Effects of ethanol extraction and heat treatment of soybean flakes on function and morphology of pig intestine. **Journal of Animal Science**, v.68, p.3244-51, 1990.

HEDEMAN, M.S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H. N.; PEDERSEN, C.; INDBERG, J. E.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K. E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber Properties. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.1375-86, 2006.

HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVHUS, B. Role of insoluble no starch polysaccharides in poultry nutrition. **World Journal of Poultry Science**, v.60, p.415-22, 2004.

HOCKENBERY, D. Defining apoptosis. **American Journal of Pathology**, v.146, p.16- 19, 1995.

GEYRA, A., UNI, Z., SKLAN, D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. **British Journal of Nutrition**, v.86, p. 53-61, 2001.

IMONDI, A.R.; BIRD, F.H. The turnover of intestinal epithelium in the chick. **Poultry Science**, v.45, n.1, p.142-146, 1966.

JIN, L.; REINOLDS, L.P.; REDNER, D.A. et al. Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation and morphology in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2270-2278, 1994.

KING, R.H.; TAVERNER, M.R. Prediction of the digestible energy in pig diets from analyses of fiber contents. **Animal Production**, Edimburgh, v.21, p.275-84, 1975.

KLASSING, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.1119-25, 1998.

KRITCHEVSKY, D.; STORY, J.A. Influence of dietary fiber on cholesterol metabolism in experimental animals. In: SPILLER, J.A. (ed.). **Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**. CRC Press, Boca Raton, p. 129-142, 1986.

LI, D.F. et al. Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth performance in early – weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4062-69, 1991.

LI, S.; SAUER, W.C.; HARDIN, R.T. Effect of dietary fibre level on amino acid digestibility in young pigs. **Canadian Journal of Animal Science**, v.74, p.327-33, 1994.

LIMA, R.F.; GONÇALVES, M.B.F.; SILVA, L.P.; NORBERG, J.L.; ALMEIDA, H.S.L. Sistema laboratorial de fracionamento de carboidratos de concentrados energéticos. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.28, n.2, p.215-21, 2006.

LANGHOUT, D. J.; SCHUTTE, J. B. Nutritional implications of pectins in chicks in relation to esterification and origin of pectins. **Poultry Science**, v.5, n10, p.1236-42, 1996.

LONGLAND, A.C. ; CARRUTHERS, J. ; LOW, A.G. The ability of piglets 4 to 8 weeks old to digest and perform on diets containing two contrasting sources of nonstarch polysaccharide. **Animal Production**, v.58, p.405-10, 1994.

MAIORKA, A.; MACARI, M. ; FURLAN, R.L. ; GONZALES, E. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2^a ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 113-23.

MAJNO, G.; JORIS, I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. **American Journal of Pathology**, v.146, p. 3-15, 1995.

MELLO, M.L.S.; VIDAL, B.C.; MARIA, S.S. Morte celular. In: CARVALHO, H.F.; RECCO-PIMENTEL, S.M. **A célula 2001**. 1^a ed. Barueri: Manole, 2001. p. 275-81.

MCDONALD, D.E. **Dietary fibre for the newly weaned pigs: influences on pig performance, intestinal development and expression of experimental post-weaning colibacillosis and intestinal spirochaetosis**. PhD Thesis, Murdoch University, Murdoch, 2001.

McMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, Baltimore, v. 23, p. 99-108. 1948.

MARTINS, J.M.; RITTOT, M.; ABREU, M.A.; VIEGAS-CRESPO, A.M.; LANÇA, M.J.; ALMEIDA, J.A.; FREIRE, J.B.; BENTO, O.P. Cholesterol-lowering effects of dietary blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in intact and ileorectal anastomosed pigs. **Journal of Lipid Research**, v.46, p.1539-47, 2005.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.95-117, 2003.

MOORE, R.J.; KORNEGAY, E.T.; GRAYSON, R.L.; LINDERMAN, M.D. Growth, nutrient utilization and intestinal morphology of pigs fed high-fiber diets. **Journal of Animal Science**, v.66, n.6, p.1570-79, 1988.

NABUUS, M.J.A. Microbiological, structural and function changes of the small intestine of pigs at weaning. **Pigs News and Information**, Oxfordshire, v.16, n.3, p.93-97, 1995.

NEUTRA, M.R.; FORSTNER, J.F. **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York: Raven, p.975-1009, 1987.

NYACHOTI, C.M.; DE LANGE, C.F.M.; McBRIDE, B.W. et al. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v.77, p.149-163, 1997.

PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M.A.; DOCO, P. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, v.85, p.109-21, 2003.

POND, W.G. ; YEN, J.T. ; LINDVALL, R.N. ; HILL, D. Dietary alfalfa meal for genetically obese and lean growing pigs, effect on body weight gain and

gastrointestinal tract measurement and blood metabolites. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.51,n.2, p.367-73, 1981.

ROLANDELLI, R.H.; KORÃOEDA, M.J.; SETTLED, R.G.; LESKIWJ, T.M.J; ROSEBROUGH, R.W.; STEELE, N.C.; MCMURTRY, J.P. et al. Effect of early feed restriction in broilers. II. Lipid metabolism. **Growth**, v.50, p.217-27, 1986.

SHARMA, R.; SCHUMACHER, U. Morphometric analysis of intestinal mucins under different dietary conditions and gut flora in rats. **Digestibility Disease Science**, v.40, p.225-35, 1995

SCHULZE, H.; VAN LEEUWEN, P.; VERSTEGEN, M.W.A. Effect of level of dietary neutral detergent fiber on ileal apparent digestibility and ileal nitrogen losses in pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.72, n.9, p.2362-68, 1994.

SILVA, V. K. ; MORITA, V.S. ; MARTINS, M. S. ; BOLELI, I. C. Influência da pectina na ração sobre o desempenho e rendimento da carcaça em frangos de corte. In: 21º Congresso Brasileiro de Avicultura, Porto Alegre. Trabalhos de Pesquisa José Maria Lamas da Silva, 2009.

SMITS, C.H.M.; ANNISON, G. Non starch plant polysaccharides in broiler nutrition – towards a physiologically valid approach to their determination. **World Poultry Science Journal**, v.52, p.203-21, 1996.

SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H.R.; VERSTEGEN, M.W.A. Small intestinal epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **Journal of Nutrition**., Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1520-1527, 2001.

PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v.51, p. 215–36, 1997.

SHEAHAN DG; JERVIS HR. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. **American Journal of Anatomy**, v.146, n.2, p.103-31, 1976.

THIBAULT, J. F.; PETIT, R. Les substances pectiques: généralités et domaine d'application dans les industries alimentaires. **Industries Alimentaires et Agricoles**, v.96, n.12, 1979.

THIBAULT, J. F.; SAULNIER, L.; AXELOS, M.A.V.; RENARD, C.M.G.C. Difficultés expérimentales de l'étude des macromolécules pectiques. **Bulletin de la Société Botanique Française**, n.314, p.319-37, 1991.

TOGASHI, C.K.; FONSECA, J.B.; GASPAR, A.; SOARES, R.T.N.; DETMANN, E.; OLIVEIRA, R.A. Influência dos subprodutos de maracujá amarelo sobre o desenvolvimento das vilosidades intestinais de frangos de corte. In: 19^a Reunião Anual do Instituto Biológico, v.68, suplemento 2, 2006.

TOGASHI, C.K.; FONSECA, J.B.; GASPAR, A.; SOARES, R.T.N.; DETMANN, E. Composição em ácidos graxos dos tecidos de frangos de corte alimentados com subprodutos do maracujá. **Brazilian Journal of Animal Science**, v.36, p.121-31, 2007.

TOPPING, D.L. Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. **Nutrition Reviews**, 49: 195-203, 1991.

TUCCI, F. M. **Estudo da adição de virginamicina e beta-glucanase exógena às rações de leitões e seus efeitos sobre o desempenho e morfologia intestinal**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 1999.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Development of the small intestine in heavy and light starin chicks before and after hatching. **British Poultry Science**, v.36, p.63-71, 1996.

UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **Poultry Science**, v. 60, p. 101-11, 2004.

UNI, Z., SMIRNOV, A., SKALAN, D. Pre and Posthatch of Development of Goblet Cells in the Broiler Small Intestine: Effect of Delayed Access to Feed. **Poultry Science**, v.82, p. 320-327, 2003.

VAHOUNY, G.V. Conclusions and recommendations of the symposium on Dietary fibers in health and disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 35, p. 152-56, 1982.

VAN BEERS-SCHREURS, H.M.G.; NABUURS, M.J.A.; VELLENGA, L.; KALSBECK-VAN DER VALK, H.J.; WENSING T.; BREUKINK, H.J. Weaning and the weanling diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. **Journal of Nutrition**, v.128, p.947–53, 1998.

VAREL, V.H.; POND, W.G.; TEN, J.T. Activity of growing-finishing swine influence of dietary fiber on the performance and cellulose. **Journal of Animal Science**, v.59, p.388-93, 1984.

VENTE-SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; VERSTEGEN, M.W.A.; BEYNEN, A.C. Villus height and gut development in weaned piglets receiving diets containing either glucose, lactose or starch. **British Journal of Nutrition**, London, v.90, n.5, p. 907-913, 2003.

VERGARA-JIMENEZ, M.; CONDE, K.; ERICKSON, S.K.; FERNANDEZ, M.L. Hypolipidemic mechanisms of pectin and psyllium in guinea pigs fed high fat–sucrose diets: alterations on hepatic cholesterol metabolism. **Journal of Lipid Research**, p.39, 1998.

VON ENGEELHARDT, W.; RÖNAU, K.; RECHKEMMER, G.; SAKATA, T. Absorption of shortchain fatty acid and their role in the hindgut of monogastric animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 23, p. 43-53, 1989.

VORAGEN, G. J.; PILNIK, W.; THIBAUT, J. F.; AXELOS, M. A. V.; RENARD, C. M. G. C. In: **Food polysaccharides and their applications**, SEPHEN, A. M. (ed.), Marcel Dekker Inc., New York, p 287–339. 1995.

VORAGEN A. G. J.; COENEN G. J.; VERHOEF R. P.; SCHOLS H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v.20, p. 263–75, 2009.

WELLS, A.F.; ERSHOFF, B.H. Beneficial effects of pectin in prevention of hypercholesterolemia and increase in liver cholesterol in cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**, v.74, p.87-92, 1961.

YAMAUCHI, K.Y.; ISSHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, v.32, p.67-78, 1991.

YU, B.; CHIOU, W.S. The morphological changes of intestinal mucosa in growing rabbits. **Laboratory Animals**. v. 31, p. 254-63, 1997.

CAPÍTULO 2 – PECTINA NA DIETA INFLUENCIA O pH E O NÚMERO DE CÉLULAS CALICIFORMES EM FRANGOS DE CORTE (*Gallus domesticus*)

RESUMO: O presente estudo analisou o efeito da inclusão de diferentes porcentagens de pectina na ração sobre o pH e o número de células caliciformes intestinal durante o desenvolvimento de frangos de corte. Foram utilizados 600 pintos machos Cobb[®], com um dia de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida, sendo quatro níveis de pectina na ração (0, 1, 3 e 5%) e seis idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com cinco repetições de 30 aves por tratamento, sendo os parâmetros avaliados semanalmente no período de 1 a 42 dias de idade. Aves que ingeriram 3 e 5% de pectina na ração apresentaram redução linear significativa do pH jejunal e ileal ao longo da idade, enquanto que as aves que não ingeriram a fibra ou ingeriram 1% não tiveram alteração de pH nesses segmentos intestinais. Em todas as idades analisadas, exceção feita aos 7 dias de idade, o pH do jejuno e do íleo diminuiu linearmente com o aumento da inclusão de pectina na ração. O número de células caliciformes secretoras de mucina ácida (CC-AB⁺) e de mucina neutra (CC-PAS⁺) aumentaram com a idade independentemente da porcentagem da fibra nos três segmentos intestinais, mas o aumento no número de células caliciformes com a idade foi mais acentuado com a ingestão de 3 e 5% de pectina. Nos três segmentos intestinais, houve aumento linear no número de CC-AB⁺ e CC-PAS⁺ com o aumento da inclusão de pectina na dieta em todas as idades analisadas, exceto para as CC-AB⁺ do duodeno e íleo e para as CC-PAS⁺ do duodeno aos 7 dias de idade. Conclui-se que a ingestão de pectina acidifica o pH jejunal e ileal, bem como aumenta o número de células caliciformes, e, conseqüentemente, a proteção da mucosa intestinal.

Palavras- chaves: acidez, fibra solúvel, intestino delgado, mucina

CHAPTER 2 - DIETARY PECTIN AND pH INFLUENCE The number of goblet cells in Chickens (*Gallus domesticus*)

ABSTRACT: This study examined the effect of adding different percentages of dietary pectin on the pH and the number of goblet cells during intestinal development in broilers. It was used 600 male chicks from Cobb®, with one day of age in a randomized design in a split plot design, four levels of pectin in the diet (0, 1, 3 and 5%) and six ages (7, 14, 21, 28, 35 and 42 days) with five replicates of 30 birds per treatment, the parameters evaluated weekly from 1 to 42 days old. Birds that ingested 3 and 5% pectin in the diet showed a significant linear decrease in pH jejunal and ileal along the old, while the birds that ate no fiber or ingested 1% had no change in pH in these intestinal segments. At all ages examined, except at 7 days old, the pH of the jejunum and ileum decreased linearly with increasing inclusion of pectin in the diet. The number of goblet cells secrete mucin acid (CC-AB +) and mucin neutral (CC-PAS +) increased with age regardless of the percentage of fiber in the three intestinal segments, but the increase in the number of goblet cells with age was more marked with the ingestion of 3 and 5% pectin. In all three intestinal segments, a linear in the number of CC-AB + and DC-PAS + with increasing inclusion of pectin in the diet at all ages examined, except for CC-AB + duodenum and ileum and the DC-PAS + of duodenum to 7 days old. It is concluded that ingestion of pectin acidifies the jejunal and ileal pH and increases the number of goblet cells, and consequently the protection of intestinal mucosa.

Keywords: acidity, soluble fiber, small intestine, mucin

INTRODUÇÃO

O bom desempenho das aves está diretamente relacionado com a saúde do intestino delgado, órgão responsável pela digestão e absorção dos nutrientes da dieta. Por saúde intestinal entende-se a manutenção da integridade morfofuncional do órgão, o que envolve a atividade ótima das enzimas, manutenção da integridade da mucosa e da atividade microbiana, visto que, segundo MACARI et al. (2002), esta última é responsável pela retenção de energia e nitrogênio, e aumento da absorção de vitaminas e minerais, ácidos graxos e glicose.

Vários fatores podem afetar a saúde intestinal, entre eles, desvio do pH entérico ótimo para a atividade enzimática e alteração da camada de glicoproteínas (camada mucosa) que recobre a superfície luminal do intestino, que protege a mucosa intestinal. Essa camada atua como barreira entre o conteúdo luminal e a área absorptiva do intestino, protegendo o epitélio contra atritos provocados pela passagem da digesta, ação de enzimas digestivas, suco gástrico e agentes patogênicos, pois integrada ao muco encontra-se a microbiota intestinal natural e imunoglobulinas (BOLELI et al., 2002). Além disso, evita a perda de água através da parede intestinal (MURPHY, 2002) e exerce função transportadora e seletiva (UNI et al., 2003). Segundo Piel et al. (2005) e Ito et al. (2005), nos monogástricos, a camada de muco encontra-se em equilíbrio dinâmico entre a síntese e secreção de mucina pelas células caliciformes no epitélio subjacente.

O efeito da ingestão de fibra solúvel sobre o pH e número de células caliciformes tem sido estudado principalmente em ratos e suínos (SATCHITHANANDAM et al., 1989; PIEL et al., 2005; WENK, 2001). No caso de suínos, a inclusão de fontes de fibras na dieta visa alterar o pH e com isso melhorar a atividade das enzimas digestivas e inibir o crescimento de bactérias patogênicas (MONTAGNE et al., 2003).

Ingestão de fibra solúvel também tem sido analisada quanto a seus efeitos na redução da deposição de gordura animal, em função de sua ação hipolipidêmica, hipocolesterolêmica e hipotriglicêmica (KIRTHCHEVSKY e

STORY, 1986; ROLANDELLI et al., 1986; CÓRDOVA et al., e 2005; MARTINS et al., 2005; GONÇALVES et al., 2007; SILVA, 2010). Todavia, é imprescindível que a inclusão de fibra na dieta não comprometa a saúde intestinal à ponto de inviabilizar economicamente a produção avícola.

Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo analisar se a porcentagem de pectina na dieta influencia o pH e o número de células caliciformes do intestino delgado de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Aves e manejo experimental

A criação das aves foi realizada no aviário experimental, de 22/10 a 25/11/2009, e o processamento e análises das amostras no Departamento de Fisiologia e Morfologia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, da referida Faculdade (protocolo nº 004888-09).

Pintos machos (Cobb[®]), com um dia de idade, obtidos de incubatório comercial, foram pesados individualmente e distribuídos homogeneamente pelo peso corporal médio (45 ± 2 g) em quatro tratamentos (0, 1, 3, e 5% de pectina na ração) com 5 repetições de 30 aves cada, totalizando 150 aves por tratamento. Os pintos foram alojados em boxes (2,50 x 1,50m) em galpão de alvenaria, forrados com casca de arroz e equipados com bebedouros de alumínio tipo copo de pressão, comedouro tubular infantil e fonte de aquecimento constituída de uma lâmpada de 200 watts. Após o sétimo dia de idade, foram utilizados bebedouros pendulares e comedouros tubulares com capacidade de 25 kg. A partir do 14º dia de vida, as aves foram submetidas a regime de luz de 23 horas de luz e 1 hora de escuro. As aves receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental e foram alimentadas com ração à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), reajustadas, de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al.

(2005), para as fases inicial (1 a 21 dias) e de crescimento (22 a 42 dias) dos frangos.

Os pintos foram vacinados contra a doença de Marek, Gumboro e Bouda Aviária no incubatório. No 8º dia, as aves foram vacinadas contra as doenças de Gumboro (cepa intermediária Lukert) e New Castle (estirpe La Sota) e no 18º contra a doença de Gumboro (cepa forte Austrália V-877), via água ingerida.

A temperatura e a umidade relativa no interior do galpão foram registradas durante todo o período experimental utilizando-se dois termohigrômetros digitais localizados em pontos equidistantes do galpão. Da primeira à sexta semana de experimento, os valores semanais médios de temperatura e de UR, obtidos pela média entre o valor mínimo e máximo, foram 31,3 °C, 29,3 °C, 27,3 °C, 26,4 °C, 23,0 °C, 23,0 °C e de 36,0%, 36,2%, 32,0%, 37,3%, 34,0%, 31,8%, respectivamente. Foi utilizado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves.

2. Parâmetros Analisados

2.1 Número de células caliciformes (NCC)

Aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, 5 aves/tratamento, uma por repetição, foram abatidas por deslocamento cervical para coleta de amostras (3 cm de comprimento) dos três segmentos intestinais e da digesta do jejuno e íleo. Os segmentos intestinais foram delimitados considerando-se como duodeno a porção distal da alça duodenal a partir do piloro, o jejuno desde o final da alça duodenal até o divertículo de Meckel e, o íleo a porção anterior ao ponto de inserção dos cecos.

O NCC foi analisado de acordo com o tipo de mucina produzida (ácida e neutra). Para isso, amostras de três centímetros de comprimento foram coletadas do duodeno, jejuno e íleo, abertas longitudinalmente, estendidas e fixadas com grampos em papelão, lavadas cuidadosamente com água destilada e, imediatamente, fixadas em Dietrick (4% de formalina, 28% de etanol, 0,34 N de ácido acético glacial) durante 48 horas. Posteriormente, os tecidos foram desidratados em série crescentes de álcool etílico (70, 80, 90 e 100%),

diafanizados em xilol e incluídos longitudinalmente em histosec. De cada segmento intestinal foram realizados e analisados cinco cortes histológicos longitudinais semi-seriados de 7µm de espessura, corados com Periodic Acid Schiff (PAS), para detecção de mucinas neutras, ou Alcian Blue (AB) pH 2,5, para detecção de mucinas ácidas, segundo McMANUS (1948) e LEV e SPICER (1964).

Para a realização das contagens do NCC, foi utilizado um sistema de captura e análise de imagens (Leica Q win V3) acoplado a um estéreo microscópio (Leica-DM 2500). O NCC PAS positiva (NCC-PAS⁺) e Alcian Blue positiva (NCC-AB⁺) foi obtido pela contagem do número de células presente ao longo de 300 µm de epitélio na porção mediana do vilo, sendo realizadas trinta contagens por segmento/ave/tratamento (1 contagem/vilo).

2.2 pH intestinal

O pH do jejuno e íleo foi determinado após coleta da digesta, usando-se um pHmetro digital. Para isso, cada amostra foi preparada misturando-se 10g de digesta à 15 mL de água destilada, sendo realizada 1 leitura por amostra.

3. Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida constituído na parcela pelos níveis de pectina (0, 1, 3 e 5%) e na subparcela pelas idades de avaliação (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias). Os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudantizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, análise de regressão pelo procedimento GLM do programa SAS[®] (SAS Institute, 2002), considerando-se o nível de significância de 5%. Quando houve comparação entre parâmetros dentro de cada idade para cada tratamento, os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudantizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de

variâncias (teste de Levene). As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de criação

Ingredientes	Inicial				Crescimento			
	0%	1%	3%	5%	0%	1%	3%	5%
Milho	47,50	47,50	47,50	47,50	52,50	52,50	52,50	52,50
Farelo de soja	36,92	36,92	36,92	36,92	30,95	30,95	30,95	30,95
Óleo soja	5,75	5,75	5,75	5,75	7,40	7,40	7,40	7,40
Fosfao bicálcico	1,90	1,90	1,90	1,90	1,64	1,64	1,64	1,64
Calcário	0,82	0,82	0,82	0,82	0,75	0,75	0,75	0,75
Sal	0,47	0,47	0,47	0,47	0,43	0,43	0,43	0,43
L-lisina HCL (78%)	0,61	0,61	0,61	0,61	0,30	0,30	0,30	0,30
DL-Metionina (99%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,40	0,40	0,40	0,40
L-treonina	0,14	0,14	0,14	0,14	0,08	0,08	0,08	0,08
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sup. Vit. e Min. ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Inerte ³	5,00	4,00	2,00	0,00	5,00	4,00	2,00	0,00
Pectina*	0,00	1,00	3,00	5,00	0,00	1,00	3,00	5,00
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição calculada								
EM (Kcal/Kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.175	3.175	3.175	3.175
PB (%)	21,62	21,62	21,62	21,62	19,02	19,02	19,02	19,02
Ca (%)	0,92	0,92	0,921	0,92	0,81	0,81	0,81	0,806
Pd (%)	0,46	0,46	0,46	0,46	0,40	0,40	0,40	0,402
Na (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,20	0,20	0,20	0,203
Lis dig (%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,13	1,13	1,13	1,126
Met dig (%)	0,63	0,63	0,63	0,63	0,66	0,66	0,66	0,662
Lis+Met dig(%)	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,912
Thr dig (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,70	0,70	0,70	0,703

¹ Suplemento mineral + vitamínico. Cada quilograma do produto contém: Se 54,6 mg, Cu 25.000 mg, pantotenato de Ca 1.900 mg, Mn 15.252 mg, I 260mg, Zn 18.250 mg, ácido nicotínico 6.930 mg, biotina 32 mg, colina 120 g, Vit A 1.400.000 UI, Vit B1 356 mg, Vit B12 2.000 mcg, Vit B2 1.920 mg, Vit B6 693 mg, Vit D3 600.000, Vit E 5.000mg, Vit K 196mg, antioxidante 100mg, anticoccidiano 25.000mg e promotor de crescimento (bacitracina de zinco) 10.000 mg ³Inerte: caulin

* Pectina de alto grau de esterificação, alto grau de gelificação, alto teor de carboidratos solúveis (85%), não amidada, extraída de polpa cítrica (pectina GENU® tipo B rapid set-Z, CP Kelco, Limeira, Brasil)

RESULTADOS

1. pH jejunal e ileal

Os dados referentes ao pH da digesta do jejuno e do íleo são apresentados na Tabela 2. Houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre pectina e as idades para o pH de ambos os segmentos intestinais, sendo os desdobramentos das interações com suas respectivas probabilidades apresentados na Tabela 3. Nas aves que não ingeriram pectina e nas que ingeriram 1% da fibra, o pH do jejuno e do íleo foi mantido constante até os 42 dias de idade. Diferentemente, nas aves que receberam 3 e 5% de pectina na ração, o pH dos dois segmentos intestinais diminuiu linearmente ($p \leq 0,05$) com a idade (Tabela 3, Figura 1A,C). A idade respondeu por mais de 76% da variabilidade do pH jejunal e mais de 90% da variabilidade do pH ileal apresentadas por essas aves. No que se refere ao efeito da pectina, a partir dos 14 dias de idade, o pH do jejuno e do íleo diminuiu de forma linear ($p \leq 0,05$) com o aumento da fibra na ração (Figura 1B,D), sendo a variação na porcentagem de pectina responsável por mais de 88% da variabilidade do pH do jejunal e mais de 93% do pH íliaco. Aos 7 dias, não houve regressão significativa ($p > 0,05$) para o pH em função dos níveis de pectina para nenhum desses segmentos.

Os valores de pH da digesta do jejuno e do íleo foram comparados aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade nos quatro tratamentos utilizados (Figura 2). Nas aves que não ingeriram pectina e nas que receberam 1% da fibra na dieta, o pH foi menor no jejuno do que no íleo até os 28 dias de idade, e não houve diferença no pH entre os 2 segmentos intestinais aos 35 e 42 dias. Nas aves que receberam 3 e 5% da fibra, o pH da digesta jejunal foi menor que o pH ileal em todas as idades analisadas, exceto aos 42 dias e para aves que receberam 3% nas quais não ocorreu diferença no pH entre esses segmentos intestinais.

Tabela 2 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades das aves (dias) sobre o pH do jejuno e do íleo de frangos de corte.

Pectina (P)¹	Jejuno	Íleo
0	6,9	7,42
1	6,87	7,33
3	6,02	6,61
5	5,52	6,38
Idade (I)²		
7	6,42	7,28
14	6,34	7,11
21	6,48	7,07
28	6,16	6,81
35	6,26	6,75
42	6,3	6,59
P	<0,0001	<0,0001
I	0,0473	0,0028
P x I	0,0258	<0,0001
CV (%)¹	7,89	6,15
CV (%)²	8,85	6,77

Tabela 3- Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o pH do jejuno e íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
Jejuno						
7	6,44	6,50	6,50	6,25	0,9166	0,3175
14	6,65	6,81	6,12	5,79	0,0327	0,0671
21	6,87	7,02	6,15	5,89	0,0370	0,1109
28	7,02	6,80	5,74	5,09	0,0302	0,6290
35	7,19	7,02	5,81	5,03	0,0158	0,7776
42	7,28	7,06	5,83	5,05	0,0222	0,0567
L	0,0624	0,0658	0,0265	0,0233		
Q	0,6009	0,7945	0,6438	0,5715		
Íleo						
7	7,16	7,52	7,29	7,14	0,2841	0,3111
14	7,42	7,43	6,89	6,7	0,0336	0,2277
21	7,53	7,31	6,83	6,62	0,0299	0,3533
28	7,72	7,29	6,23	6,02	0,0201	0,5224
35	7,31	7,21	6,37	6,13	0,0221	0,0701
42	7,41	7,20	6,06	5,68	0,0108	0,8720
L	0,0641	0,1131	0,0363	0,0364		
Q	0,0973	0,1461	0,3942	0,2104		

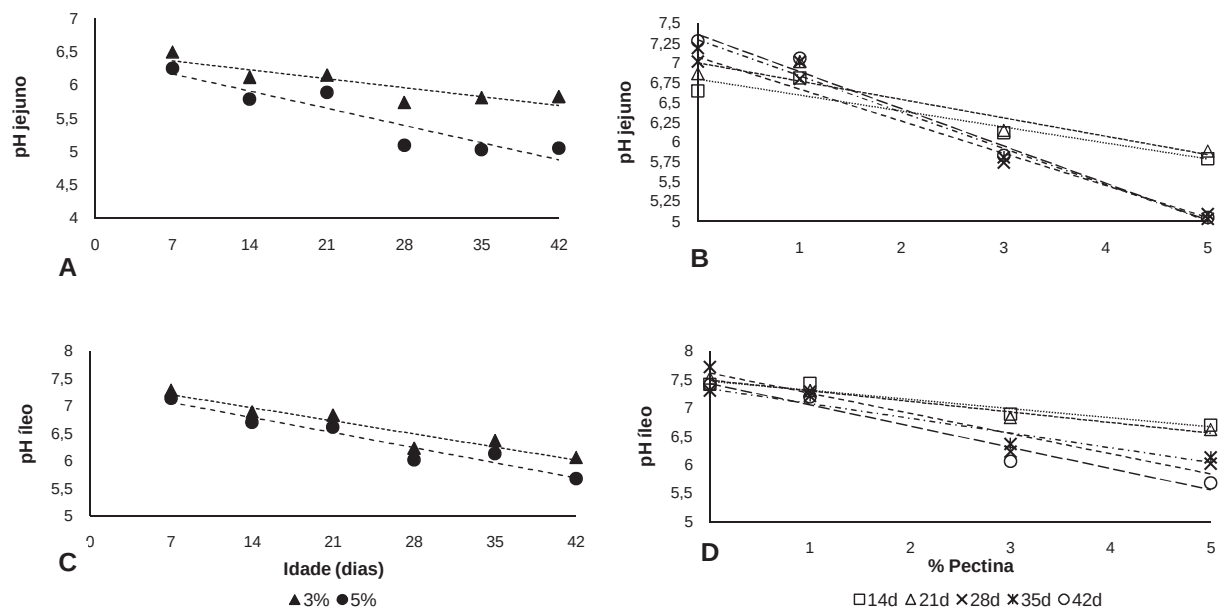


Figura 1 - Regressão para: (A) pH do jejuno em função da idade de frangos de corte que ingeriram 3 e 5% de pectina na ração [$y(3\%) = -0,0191x + 6,494$, $R^2 = 0,76$; $y(5\%) = -0,0371x + 6,4247$, $R^2 = 0,85$], (B) pH do jejuno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = -0,2008x + 6,7944$, $R^2 = 0,89$; $y(21d) = -0,232x + 7,0046$, $R^2 = 0,88$; $y(28d) = -0,4708x + 7,3644$, $R^2 = 0,98$; $y(35d) = -0,4585x + 7,2941$, $R^2 = 0,98$; $y(42d) = -0,4708x + 7,3644$, $R^2 = 0,98$], (C) pH do íleo em função da idade de frangos de corte que ingeriram 3 e 5% de pectina na ração [$y(3\%) = -0,0339x + 7,4427$, $R^2 = 0,90$; $y(5\%) = -0,0392x + 7,3427$, $R^2 = 0,93$] e (D) pH do íleo em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = -0,162x + 7,4746$, $R^2 = 0,93$; $y(21d) = -0,1866x + 7,4924$, $R^2 = 0,97$; $y(28d) = -0,3563x + 7,6166$, $R^2 = 0,93$; $y(35d) = -0,2593x + 7,3385$, $R^2 = 0,94$; $y(42d) = -0,3734x + 7,4276$, $R^2 = 0,95$].

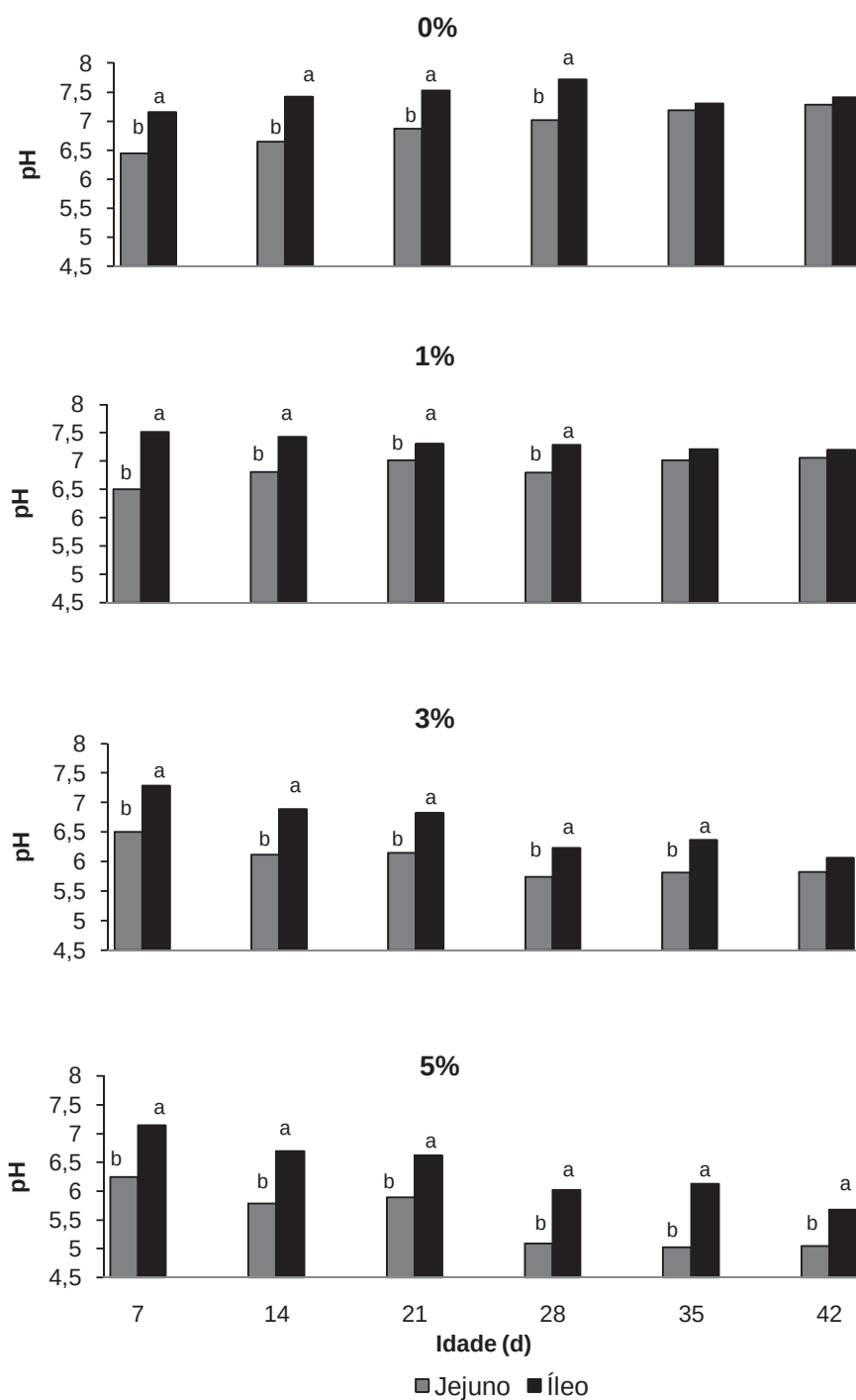


Figura 2 – Comparação entre o pH da digesta do jejuno e íleo de frangos de corte alimentados com dieta sem (0%) e com pectina (1, 3 e 5%) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade. a-b: letras não similares diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

2. Número de células caliciformes

A Tabela 4 mostra os efeitos da pectina e das idades sobre o número de células caliciformes AB⁺ (NCC-AB⁺) e PAS⁺ (NCC-PAS⁺) do duodeno, jejuno e íleo.

O NCC-AB⁺ do jejuno foi influenciado pela porcentagem de pectina na ração e pela idade das aves ($p \leq 0,05$), e não houve interação significativa entre esses fatores para esse parâmetro. Tal parâmetro aumentou com a idade e foi maior quanto maior foi a porcentagem de fibra na ração (Figuras 3C,D). Para o NCC-AB⁺ do duodeno e íleo, houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre a porcentagem de pectina e as idades, sendo os desdobramentos das interações apresentados na Tabela 5. Para esses dois segmentos intestinais, o NCC-AB⁺ aumentou linearmente com a idade em todos os níveis de ingestão de fibra (Figuras 3A e 4A). A idade respondeu por mais de 82% da variabilidade do NCC-AB⁺ do duodeno, e mais de 96% da variabilidade no NCC-AB⁺ do íleo. Além disso, a partir dos 14 dias de idade, o NCC-AB⁺ do duodeno e do íleo foi maior à medida que se aumentou a porcentagem de pectina na ração (Figuras 3B e 4B). Nesse caso, a variação nos níveis da fibra respondeu por 92% ou mais da variabilidade encontrada no NCC-AB⁺ em ambos os segmentos intestinais.

No que se refere ao NCC-PAS⁺, foi verificada interação significativa ($p \leq 0,05$) entre pectina e as idades para os três segmentos intestinais, sendo os desdobramentos das interações com suas respectivas probabilidades apresentados na Tabela 6. O NCC-PAS⁺ do duodeno, jejuno e íleo aumentou linearmente com a idade em todas as porcentagens de pectina utilizadas (Figuras 6A-C e 7A). A idade respondeu por mais de 90% da variação encontrada no NCC-PAS⁺ do duodeno, 92% ou mais da variação no NCC-PAS⁺ do jejuno e 95% da variação no íleo. O efeito da pectina sobre o NCC-PAS⁺ duodenal foi observado a partir dos 14 dias de idade, sendo que o NCC-PAS⁺ foi maior quanto maior a porcentagem de fibra na ração (Figura 6B), sendo a pectina responsável por 95% da variabilidade do NCC-PAS⁺ do duodeno. No jejuno e no íleo, foi observado efeito similar da pectina sobre o NCC-PAS⁺. Nesses segmentos intestinais, entretanto, o efeito da inclusão da fibra ocorreu desde os 7 dias de idade (Figuras

6D e 7B). A pectina respondeu por mais de 89% da variação do NCC-PAS⁺ no jejuno e mais de 82% da variação no íleo.

As Figuras 9 e 10 mostram dados da comparação do NCC-AB⁺ e NCC-PAS⁺ entre os três segmentos intestinais, respectivamente, em todas as idades e tratamentos analisados. Nas aves que receberam 0 e 1% de pectina, ocorreu diferença no NCC-AB⁺ entre os segmentos intestinais a partir do 21º dia de idade, sendo o NCC-AB⁺ maior no íleo do que no duodeno e jejuno, que não diferiram entre si nesse parâmetro. Nas aves que receberam 3 e 5% da fibra na dieta, essa diferença no NCC-AB⁺ foi registrada em todas as idades analisadas. No que se refere ao NCC-PAS⁺, nas aves que não ingeriram e nas que ingeriram 1 e 3% de pectina, não foram observadas diferenças nesse parâmetro entre os segmentos intestinais apenas aos 14 dias de idade. Nas demais idades, o NCC-PAS⁺ foi maior no duodeno do que no jejuno e íleo, e estes não diferiram entre si nesse parâmetro, exceção feita aos 42 dias de idade e para aves que receberam 3%, cujo NCC-PAS⁺ duodenal e jejunal foram similares e maiores do que o ileal. Nas aves que receberam 5% da fibra na dieta, houve diferença no NCC-PAS⁺ entre os segmentos intestinais em todas as idades analisadas. Nessas aves, até os 35 dias de idade, o NCC-PAS⁺ foi maior no duodeno do que nos outros dois segmentos. Entretanto, aos 42 dias, duodeno e jejuno não diferiram no NCC-PAS⁺, o qual foi maior do que o observado no íleo.

Tabela 4– Efeito da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre o número de células caliciformes AB⁺ (NCC-AB⁺) e PAS⁺ (NCC-PAS⁺) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte.

Pectina (P) ¹	NCC-AB ⁺			NCC-PAS ⁺		
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
0	23,39	24,58	28,79	21,24	22,55	26,15
1	25,15	26,73	31,16	22,96	25,17	27,97
3	29,81	38,37	42,24	35,74	37,8	39,8
5	31,49	40,24	44,52	36,96	39,23	40,8
Idade (I) ²						
7	18,25	25,47	29,19	20,0	23,0	25,73
14	23,53	29,0	31,26	24,11	28,23	29,47
21	26,27	31,3	34,67	27,8	30,3	31,8
28	29,88	34,58	38,94	31,1	32,6	34,86
35	32,6	34,91	41,23	33,84	34,32	38,4
42	34,21	38,13	42,63	34,33	37,6	39,92
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	<0,0001	0,3828	<0,0001	<0,0001	0,0014	0,0020
CV (%) ¹	3,38	3,97	3,31	3,04	3,21	4,91
CV (%) ²	3,58	4,17	3,20	4,23	4,03	5,59

Tabela 5- Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o NCC-AB⁺ do duodeno e íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
Duodeno						
7	17,08	17,2	18,73	20,0	0,0629	0,6981
14	19,32	21,16	25,6	28,06	0,0438	0,5944
21	22,5	24,3	28,8	29,5	0,0467	0,5389
28	25,8	27,91	32,75	33,05	0,0490	0,4969
35	26,93	29,07	35,8	38,63	0,0292	0,5588
42	28,73	31,27	37,18	39,68	0,0452	0,4618
L	0,0013	0,0018	0,0149	0,0247		
Q	0,2539	0,0760	0,3265	0,3328		
Íleo						
7	20,5	22,73	26,51	27,03	0,0659	0,5025
14	22,6	24,74	30,34	34,48	0,0326	0,5855
21	28,5	30,67	33,5	37,8	0,0389	0,6787
28	32,93	33,62	38,6	41,0	0,0146	0,9892
35	32,82	37,1	40,25	43,96	0,0414	0,2832
42	35,08	37,73	43,82	48,46	0,0435	0,4573
L	0,0009	0,0022	0,0030	0,0011		
O	0,3771	0,4584	0,4216	0,0521		

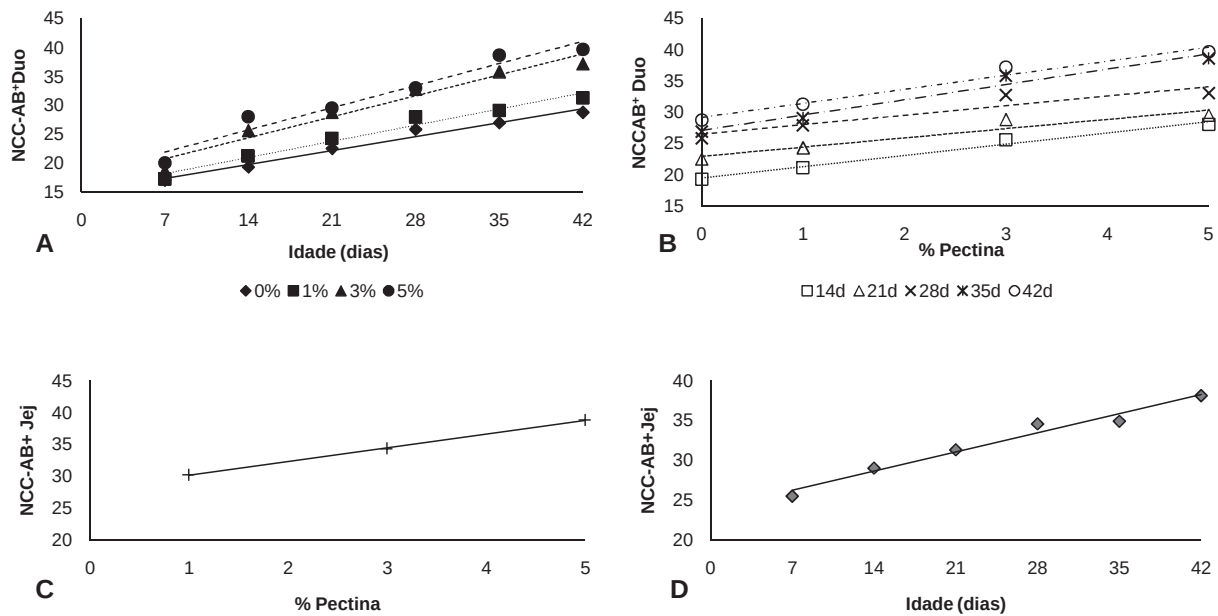


Figura 3 - Regressão para: (A) Número de células caliciformes AB⁺ (NCC-AB⁺) do duodeno em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3444x + 14,955$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 0,3987x + 15,383$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = 0,5176x + 17,13$, $R^2 = 0,96$; $y(5\%) = 0,5456x + 18,121$, $R^2 = 0,95$], (B) NCC-AB⁺ do duodeno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = 1,7929x + 19,501$, $R^2 = 0,98$; $y(21d) = 1,4729x + 22,961$, $R^2 = 0,92$; $y(28d) = 1,5263x + 26,443$, $R^2 = 0,89$; $y(35d) = 2,451x + 27,093$, $R^2 = 0,97$; $y(42d) = 2,2559x + 29,139$, $R^2 = 0,97$], (C) NCC-AB⁺ do jejuno em função da idade de frangos de corte ($y = 0,3441x + 23,801$, $R^2 = 0,97$) e (D) NCC-AB⁺ do jejuno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte ($y = 3,4386x + 24,743$, $R^2 = 0,92$).

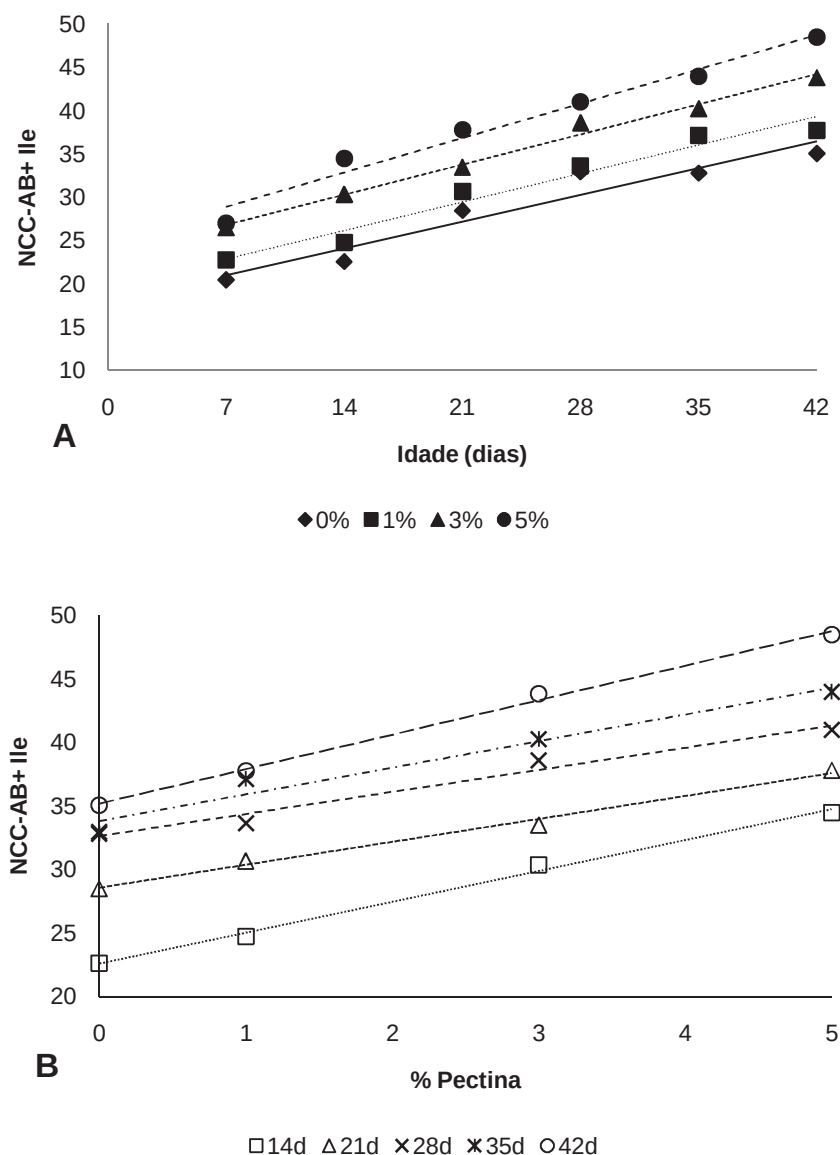


Figura 4 - Regressão para: (A) Número de células caliciformes AB⁺ (NCC-AB⁺) do íleo em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,4408x + 17,939$, $R^2 = 0,93$; $y(1\%) = 0,4685x + 19,605$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 0,4954x + 23,365$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 0,5665x + 24,909$, $R^2 = 0,97$] e (B) NCC-AB⁺ do íleo em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = 2,4271x + 22,579$, $R^2 = 0,99$; $y(21d) = 1,8042x + 28,558$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = 1,7344x + 32,635$, $R^2 = 0,97$; $y(35d) = 2,092x + 33,825$, $R^2 = 0,96$; $y(42d) = 2,7144x + 35,165$, $R^2 = 0,99$].

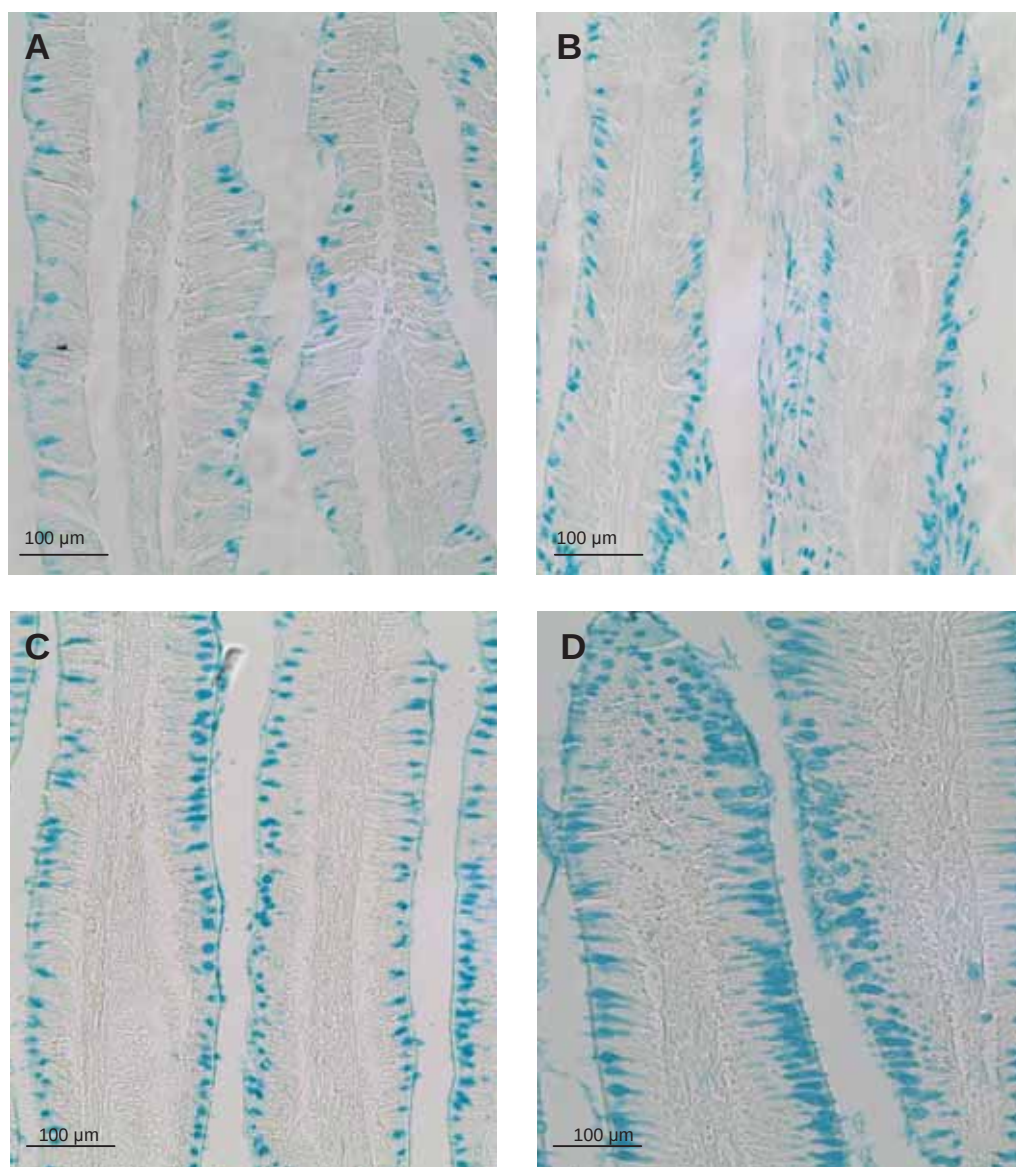


Figura 5 – Fotomicrografias de secções histológicas do intestino de frangos de corte corados com Alcian Blue (AB) para detecção de células caliciformes secretoras de mucina ácida (CC- AB⁺). Frangos que não consumiram pectina (A), consumiram 1% (B), 3% (C) e 5% (D) da fibra.

Tabela 6- Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o NCCPAS+ do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de inclusão de pectina obtidos em diferentes idades.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
Duodeno						
7	20,5	22,73	26,51	27,03	0,0659	0,5025
14	22,6	24,74	27,34	30,38	0,0326	0,5855
21	28,5	30,67	34,3	37,8	0,0389	0,6787
28	32,93	33,62	39,2	41,0	0,0446	0,9892
35	32,82	37,1	42,25	45,96	0,0414	0,2832
42	35,08	37,73	44,82	47,46	0,0435	0,4573
L	0,0009	0,0022	0,0030	0,0011		
Q	0,3771	0,4584	0,4216	0,0521		
Jejuno						
7	15,58	17,06	19,69	22,96	0,0500	0,5923
14	19,33	22,59	24,32	26,68	0,0346	0,3793
21	22,05	23,3	27,67	28,01	0,0475	0,5438
28	24,22	26,07	31,67	33,43	0,0434	0,5362
35	25,88	28,29	32,21	35,91	0,0415	0,4838
42	27,76	31,63	45,08	47,22	0,0421	0,1619
L	0,0010	0,0059	0,0012	0,0046		
Q	0,0635	0,9068	0,2402	0,3051		
Íleo						
7	17,58	20,96	21,2	23,19	0,0365	0,3691
14	22,31	21,72	26,81	27,05	0,0402	0,6964
21	26,33	26,71	29,8	31,96	0,0491	0,7865
28	27,05	27,57	31,45	35,69	0,0461	0,7753
35	30,03	31,44	34,75	37,4	0,0482	0,3679
42	30,8	32,15	37,09	39,67	0,0421	0,2113
L	0,0040	0,0032	0,0050	0,0007		
Q	0,0667	0,2507	0,1888	0,3841		

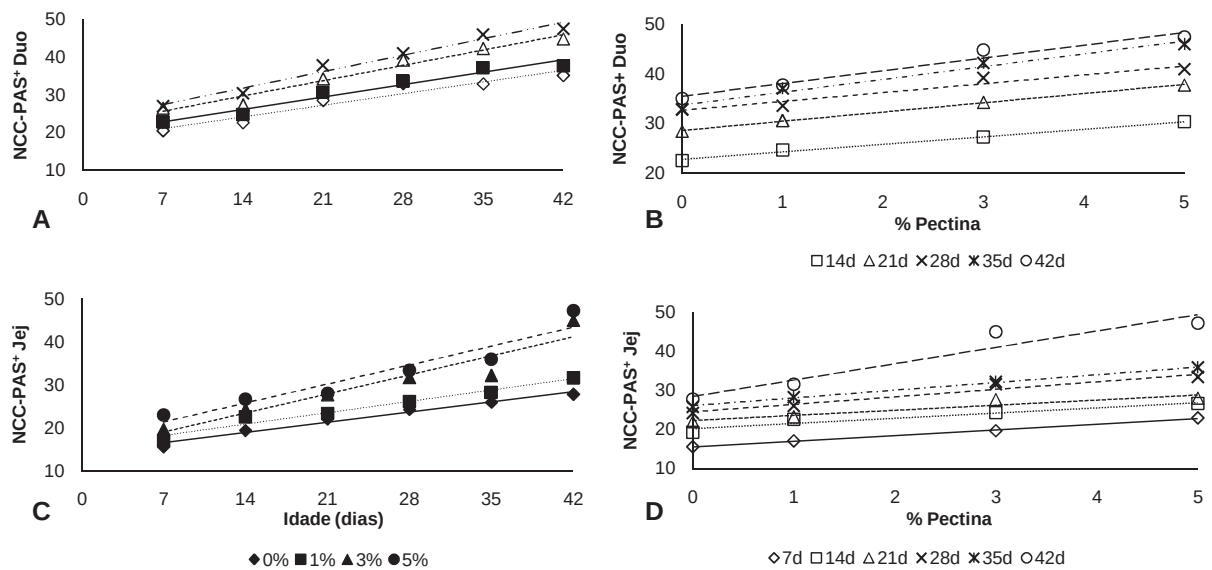


Figura 6 - Regressão para: (A) Número de células caliciformes PAS⁺ (NCC-PAS⁺) do duodeno em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,4408x + 17,939$, $R^2 = 0,92$; $y(1\%) = 0,4695x + 19,595$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = 0,5762x + 21,619$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 0,6208x + 23,063$, $R^2 = 0,97$], (B) NCC-PAS⁺ do duodeno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = 1,5102x + 22,867$, $R^2 = 0,99$; $y(21d) = 1,8449x + 28,666$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = 1,7649x + 32,716$, $R^2 = 0,95$; $y(35d) = 2,5666x + 33,758$, $R^2 = 0,98$; $y(42d) = 2,5788x + 35,47$, $R^2 = 0,96$], (C) NCC-PAS⁺ do jejuno em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3376x + 14,198$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 0,3784x + 15,551$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 0,6311x + 14,645$, $R^2 = 0,90$; $y(5\%) = 0,6302x + 16,927$, $R^2 = 0,91$] e (D) NCC-PAS⁺ do jejuno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14 dias de idade [$y(7d) = 1,4595x + 15,539$, $R^2 = 0,99$; $y(14d) = 1,3478x + 20,197$, $R^2 = 0,93$; $y(21d) = 1,291x + 22,353$, $R^2 = 0,89$; $y(28d) = 1,9392x + 24,484$, $R^2 = 0,95$; $y(35d) = 1,9876x + 26,1$, $R^2 = 0,99$; $y(42d) = 4,1808x + 28,516$, $R^2 = 0,92$].

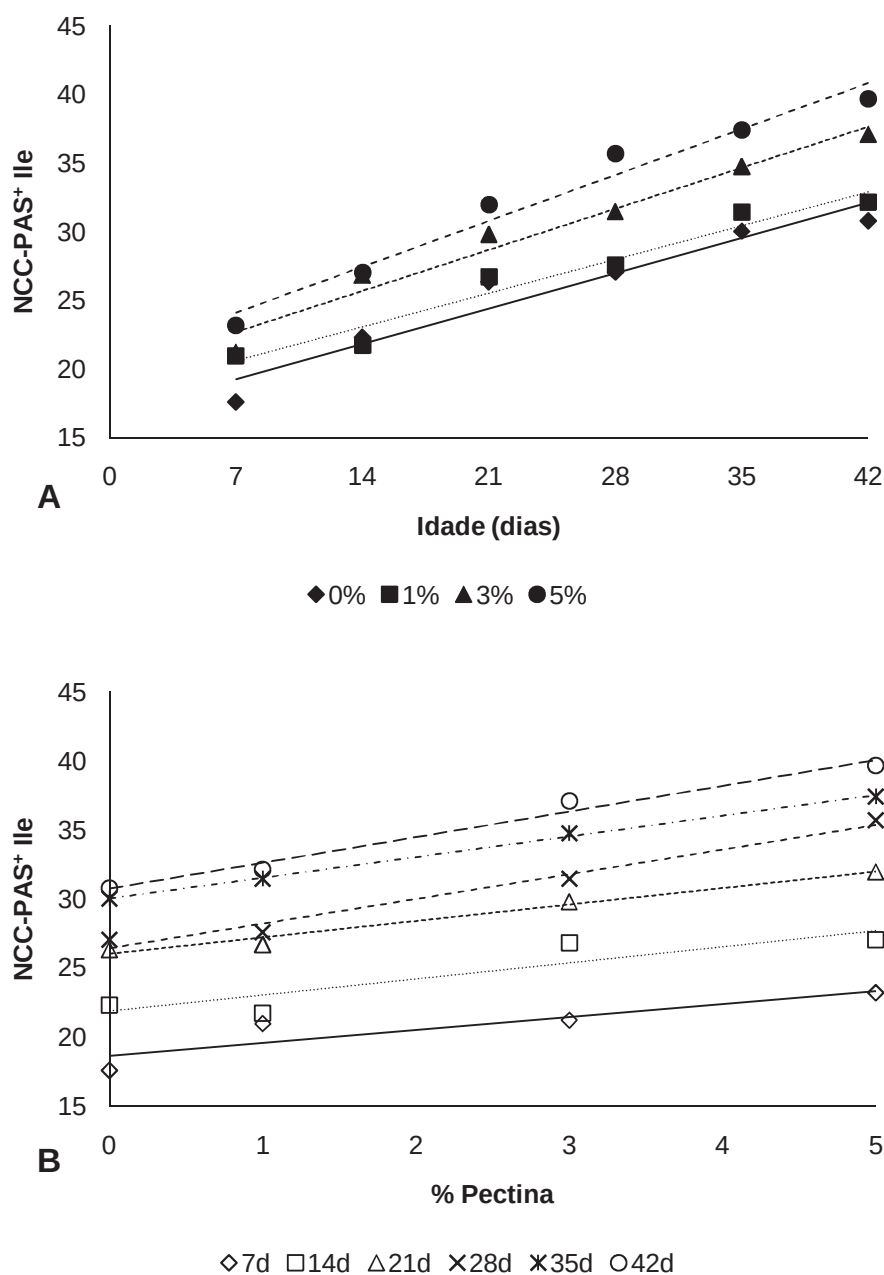


Figura 7- Regressão para: (A) Número de células calciformes PAS⁺ (NCC-PAS⁺) do íleo em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3673x + 16,685$, $y(1\%) = 0,3509x + 18,161$, $R^2 = 0,95$; $y(3\%) = 0,4282x + 19,691$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 0,4783x + 20,775$, $R^2 = 0,97$] e (B) NCC-PAS⁺ do íleo em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 0,9436x + 18,609$, $R^2 = 0,81$; $y(14d) = 1,1625x + 21,857$, $R^2 = 0,82$; $y(21d) = 1,1939x + 26,014$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = 1,7905x + 26,411$, $R^2 = 0,98$; $y(35d) = 1,4946x + 30,042$, $R^2 = 0,99$; $y(42d) = 1,8592x + 30,744$, $R^2 = 0,98$].

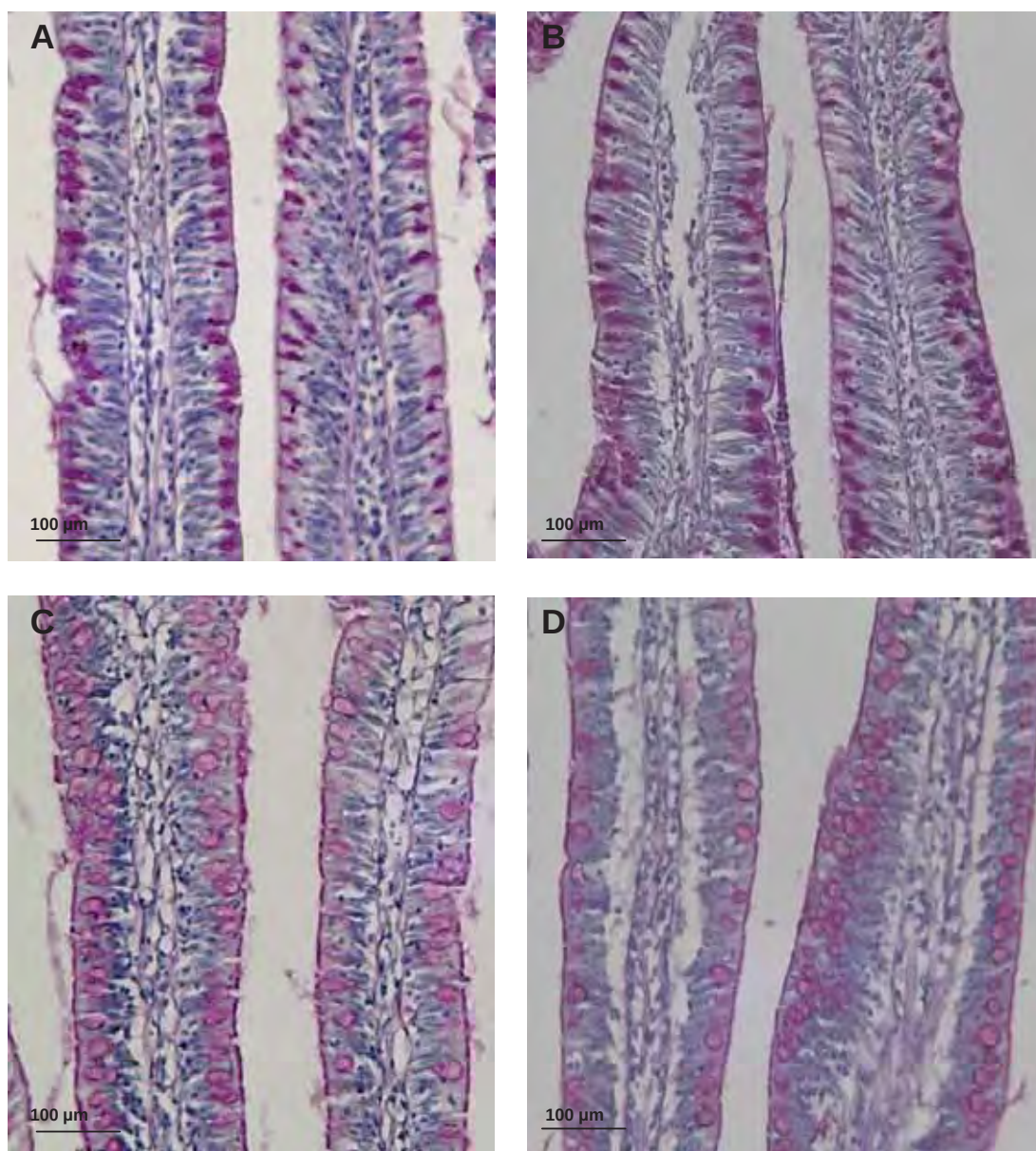


Figura 8 –Fotomicrografias de secções histológicas do intestino de frangos de corte corados com Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detecção de células caliciformes secretoras de mucina neutra (CC- PAS⁺). Frangos que não consumiram pectina (A), consumiram 1% (B), 3% (C) e 5% (D) da fibra.

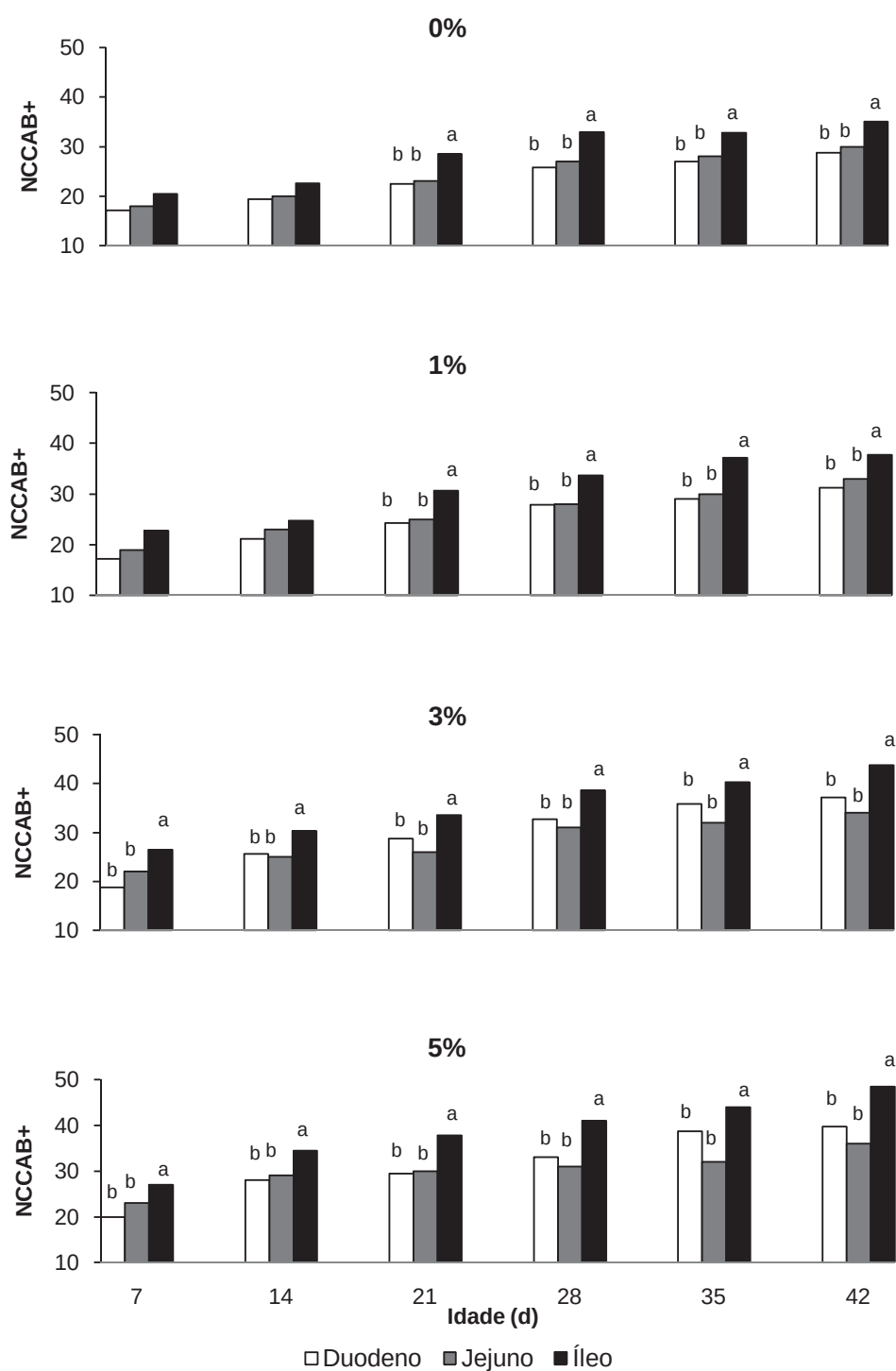


Figura 9 – Comparação entre o NCCAB⁺ do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte alimentados com dieta sem (0%) e com pectina (1, 3 e 5%) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade. a-c: letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

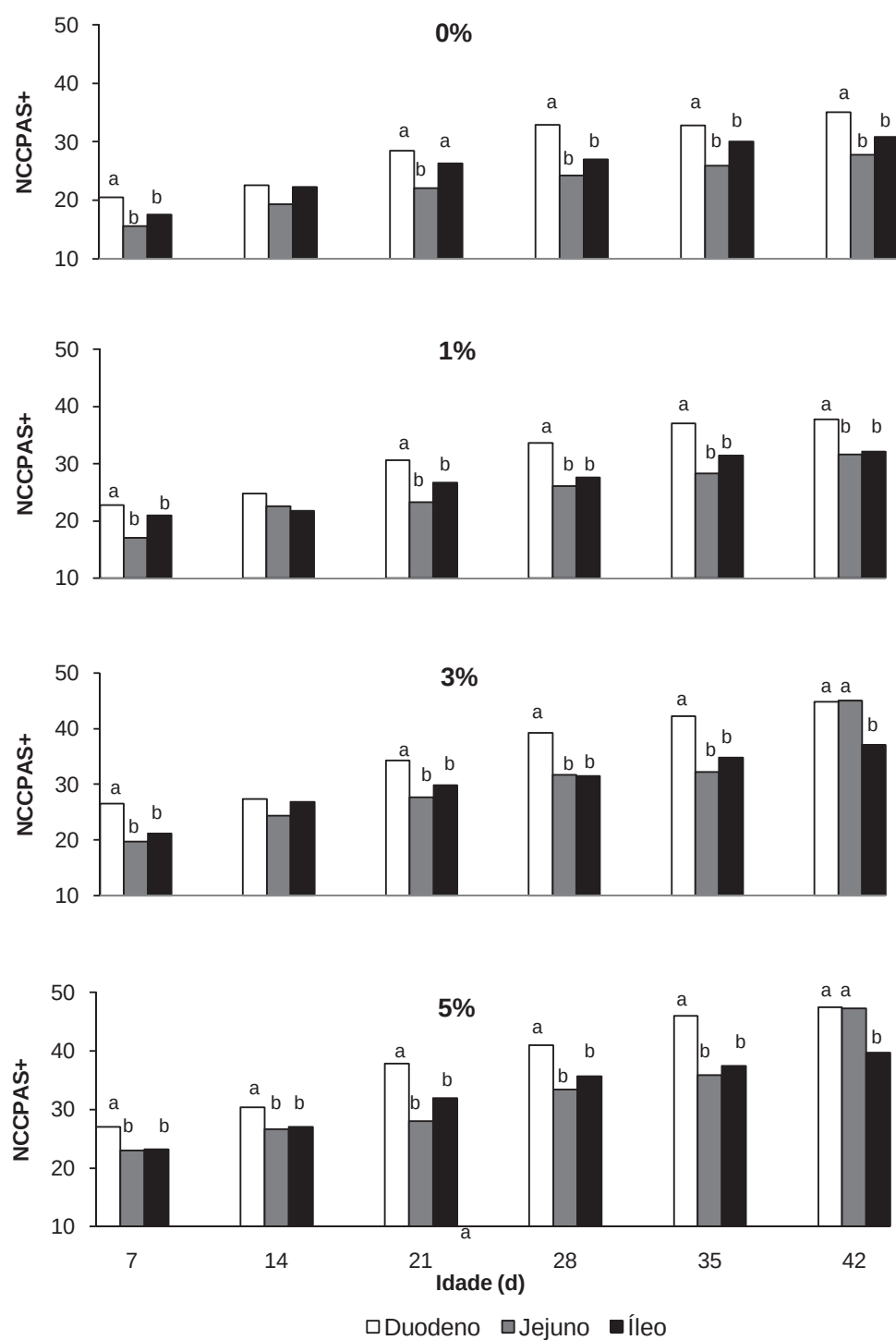


Figura 10 – Comparação entre o NCCPAS⁺ do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte alimentados com dieta sem (0%) e com pectina (1, 3 e 5%) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade. a-c: letras não similares diferem significativamente (p<0,05).

DISCUSSÃO

1. pH jejunal e ileal

De acordo com os dados, as aves que receberam 3 e 5% de pectina na ração apresentaram redução do pH do jejuno e do íleo ao longo da idade, enquanto que nas aves que receberam 0 e 1% da fibra o pH foi mantido constante até os 42 dias. Além disso, a partir do 14º dia de idade, o pH dos dois segmentos intestinais diminuiu com o aumento da porcentagem da fibra na ração, sendo que a diferença no valor de pH jejunal e ileal entre as aves que não receberam pectina e as que receberam 5% da fibra aumentou de 0,86 aos 14 dias de idade para 2,23 unidades aos 42 dias de idade no jejuno e de 0,72 para 1,73 unidades no íleo. O pH no intestino delgado é o resultado de secreções gástricas (HCl), extremamente ácidas (pH 2,5) que chegam junto com o bolo alimentar e secreções pancreáticas, básicas (pH 8- 8,3) (ANDRIGUETTO et al., 1981). Segundo DROCHNER e COENE (1986), o consumo de dieta fibrosa pode aumentar a secreção de suco gástrico. Assim, é possível que a acidificação jejunal e ileal registrada para os frangos no presente estudo tenha sido resultante de aumento da secreção gástrica. Por outro lado, a inclusão de pectina aumenta o número total de microorganismos anaeróbicos em todo o intestino delgado (SHAKOURI et al., 2006), sendo seu efeito mais acentuado no íleo, no qual ocorre aumento significativo na atividade de bactérias do gênero *Enterococci*, *Bacteroidaceae*, *Clostridia* e *E. coli* (LANGHOUT et al., 1999). Essas bactérias produzem ácido acético, láctico e fórmico através da fermentação da glicose, o que por sua vez, ocasiona uma acentuada diminuição do pH do meio (JAWETZ et al., 1989). Assim, não se pode deixar de considerar a possibilidade de que a diminuição do pH jejunal e ileal registrada no presente estudo para frangos que ingeriram porcentagens maiores de pectina tenha envolvido maior atividade dessas bactérias, entre outras. Cada enzima tem um pH ótimo ou uma faixa de pH ideal para que possam desenvolver sua atividade catalítica. Valores de pH superior ou inferior podem suprimir ou desnaturar as mesmas (CAMPESTRINI et al., 2005), reduzindo a digestibilidade da dieta e o crescimento do animal (CORRING e BOURDON, 1987; NITSAN et al., 1991). Dentre as enzimas que

atuam no intestino delgado, as principais são a amilase, a lipase e a tripsina, que atuam na digestão do amido, tri- e diglicerídeos, e proteínas e polipeptídeos, respectivamente. Segundo dados do Worthington Biochemical Corporation (2010), o pH ótimo para a atividade da tripsina, amilase e lipase é de 7,8-8,7, 6,7-7,0 e 8,0. Dessa forma, nossos dados mostram que o pH intestinal dos frangos que ingeriram 3 e 5% de pectina ficou abaixo dos valores considerados ótimos para a atividade dessas enzimas pancreáticas. Silva (2010) verificou que frangos alimentados com ração contendo 3 e 5% de pectina apresentaram menor digestibilidade de matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo, bem como menor desempenho que os que ingeriram 0 e 1% da fibra na ração. Nossos dados indicam que o baixo desempenho desses frangos pode ter ocorrido pelo fato da ingestão de pectina ter proporcionado diminuição do pH intestinal, o qual se manteve abaixo do intervalo considerado ótimo para a ação das enzimas.

Similarmente ao registrado para frangos de corte no presente estudo, Wenk (2001) e Carneiro et al. (2008), verificaram que altos níveis de fibra solúvel na dieta também reduzem o pH dos segmentos intestinais em suínos, o que mostra similaridade dos efeitos da ingestão de fibra solúvel sobre o pH intestinal entre aves e mamíferos.

O pH ao longo do intestino delgado varia de 6,0 a 8,0, ou seja, de levemente ácido para básico do duodeno ao íleo (MACARI et al., 2002), sendo o pH médio do jejuno e do íleo das aves de 6,6 e de 7,2, respectivamente (STURKIE, 1986). Comparando o pH do jejuno e íleo nas diferentes idades, nossos resultados mostram que a ingestão de fibra alterou a variação de pH ao longo dos segmentos intestinais e a duração da mesma. O pH do íleo foi maior que o do jejuno até 28 dias de idade nas aves que não ingeriram pectina e nas que ingeriram 1%, e até os 35 e 42 dias de idade, nas que ingeriram 3 e 5% da fibra. Isso mostra que a diferença de pH entre o jejuno e o íleo foi mantida por períodos maiores de idade quanto maior foi o percentagem de pectina ingerido. Contudo, o pH ao longo do jejuno e íleo variou de 6,4 a 7,8; 6,6 a 7,5; 5,8 a 7,3 e 5,0 a 7,2 nas aves que ingeriram 0, 1, 3 e 5% de pectina, mostrando que apesar da diferença de pH entre jejuno e íleo ter sido mantida por mais tempo nas aves

que ingeriram mais fibra, o pH intestinal nessas aves foi mantido por período maior dentro de uma faixa mais ácida (5,0 a 7,3) e, conseqüentemente, um valor médio de pH jejunal (0%: 6,91; 1%: 6,87; 3%: 6,02 e 5%: 5,52) e ileal (0%: 7,42; 1%: 7,33; 3%: 6,61 e 5%: 6,38) também mais ácido. Dentre tais valores, os valores de pH registrados para as aves que ingeriram 3 e 5% de pectina foram os que mais diferiram dos valores mencionados por Sturkie (1986). Assim, nossos dados mostram que o pH intestinal de tais aves foi mantido mais ácido e por mais tempo, o que pode ter provocado a piora da digestibilidade da ração e do desempenho das aves constatada por Silva (2010). Essa acidificação do quimo pode estar relacionada com a maior perda de epitélio e apoptose registrada no jejuno em relação ao íleo, no Capítulo 4.

2. Número de células caliciformes (NCC)

Os resultados mostram que o NCC-AB⁺ e o NCC-PAS⁺ do duodeno, jejuno e íleo aumentaram com o aumento da idade dos frangos, com e sem ingestão de dieta contendo pectina. Aumento no número de células caliciformes resulta em aumento da síntese e secreção de mucinas (NIMMERFALL e ROSENTHALER, 1980). A camada de muco que recobre o epitélio da mucosa intestinal exerce o papel de barreira entre o conteúdo luminal e a área absorptiva do intestino, o que protege o epitélio do atrito provocado pela passagem da digesta, da ação de enzimas digestivas, suco gástrico e agentes patogênicos, (BOLELI et al., 2002), evita a perda de água através da parede intestinal (MURPHY, 2002) e exerce função transportadora e seletiva (UNI et al., 2003). Frangos alimentados ou não com ração contendo pectina apresentam aumento no consumo de ração com a idade (SILVA, 2010). Considerando que a passagem da digesta provoca erosão na camada de muco, o aumento no NCC produtoras de mucinas ácidas e neutras, mostrado por nossos dados, parece ser uma resposta adaptativa da mucosa intestinal dos frangos ao aumento do consumo de alimentos e estar relacionado com a reposição da camada de muco, bem como com o aumento no número de sítios de ligação para microbiota.

Nos três segmentos intestinais dos frangos, o NCC-AB⁺ e o NCC-PAS⁺ aumentaram linearmente com o aumento da porcentagem de pectina na ração. De acordo com Ito et al. (2005), em ratos, existe aumento do número de células caliciformes com o aumento da viscosidade da digesta proporcionado pela ingestão de dietas fibrosas. Considerando que pectina aumenta a viscosidade intestinal de frangos de corte (SILVA, 2010) e que fibras solúveis têm efeito erosivo sobre a camada de muco intestinal (SCHNEEMAN et al., 1982), nossos dados indicam que o aumento no NCC observado nos três segmentos intestinal de frangos deve ser uma resposta adaptativa dessas aves à ação abrasiva da dieta. Entretanto, esse efeito da ingestão de pectina sobre o NCC-AB⁺ ocorreu no duodeno e no íleo somente a partir dos 14 dias de idade, o mesmo ocorrendo sobre o NCC-PAS⁺ no duodeno, indicando que o início do efeito da fibra sobre as células caliciformes pode variar de um segmento para outro. O maior NCC aliado à maior síntese de mucinas aumenta a espessura da camada de muco que recobre o epitélio intestinal, limitando a taxa de absorção de nutrientes, principalmente para compostos lipossolúveis (NIMMERFALL e ROSENTHALER, 1980). Além disso, a maior produção de mucinas também envolve um maior gasto energético para a manutenção intestinal, que normalmente equivale a aproximadamente 20% da energia bruta consumida pela ave (MCBRIDE e KELLY, 1990). Dessa forma, nossos dados indicam que o aumento no NCC com o aumento no porcentagem de pectina na dieta (nossos dados) também pode ter contribuído para o pior desempenho dos frangos que ingeriram dieta contendo 3 e 5% da fibra (SILVA, 2010).

Acredita-se que a mucina ácida, produzida pelas CC-AB⁺, apresente sítios de ligação para a microbiota intestinal e que ambas, mucinas ácida e neutra, formem uma barreira seletiva além de protetora para o epitélio intestinal (FONTAINE et al., 1996; ROBERTON e WRIGHT, 1997; UNI et al., 2003).

De acordo com os resultados obtidos, o NCC-AB⁺ foi maior no íleo do que no duodeno e jejuno; enquanto que o NCC-PAS⁺ foi maior no duodeno do que nos outros dois segmentos intestinais. Esses dados devem estar relacionados à função auxiliar de neutralização do efeito da acidez gástrica e do atrito da digesta

sobre a mucosa intestinal duodenal ou higroscopicidade da fibra e barreira física imunológica devido a certa atividade microbiana migratória do ceco-cólon (ARRUDA et al., 2008).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a ingestão de pectina causa redução do pH e aumento no número de células caliciformes produtoras de mucina ácida e neutra do intestino delgado.

REFERÊNCIAS

- ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. et al. **Nutrição animal. As bases e os fundamentos da nutrição animal – os alimentos**. 4.ed. São Paulo: Nobel, 1981. v.1, 395p.
- ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, R.T.V.; SILVA, J.M.; LOPES, D.C. avaliação morfo-histológica da mucosa Intestinal de coelhos alimentados com diferentes Níveis e fontes de fibra. **Revista Caatinga**, v.21, n.2, p.1-11, 2008.
- BOLELI, I.C; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 75-95.
- CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-67, Artigo Numero 27 nov./dez, 2005.
- CARNEIRO, M.S.C.; LORDELO, M.M.; CUNHA, L.F.; FREIRE, J.P.B. Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.124-36, 2008.

CÓRDOVA, K.R.V.; THAÍS, M.M.; TAVARES BASTOS GAMA, T.M.M.T.B.; WINTER, C.M.G.; KASKANTZIS NETO, G.; FREITAS, R.J.S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa Degener) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.23, n.223, p.222, 2005.

CORRING, T.; BOURDON, D. Exclusion of pancreatic exocrine secretion from intestine in the pig: existence of a digestive tract and the pig: existence of a digestive compensation. **Journal Nutrition**, v.107, n.7, p.1216-21, 1987.

DROCHNER, W.; COENEN, M. Pflanzliche Strukturstoffe em Schweineernährung der, Übers, **Tierernährg**, v.14, p.1-50, 1986.

FONTAINE, N.; MESLIN, J. C.; LORY, S.; ANDRIEUX, C. Intestinal mucin distribution in the germ-free rat and heteroxenic rat harbouring a human bacterial flora: Effect on insulin in the diet. **Brazilian Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 75, n. 6, p. 882-92, 1996.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. **Brazilian Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 86, p. 53–61, 2001.

HEDEMANN, M.S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H. N.; PEDERSEN, C.; INDBERG, J. E.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K. E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber Properties. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.1375-86, 2006.

ITO, H.; SATSUKAWA, M.; ARAI, E.; SUGIYAMA, K.; SONOYAMA, K.; KIRIYAMA, S.; MORITA, T. Soluble fiber viscosity affects both goblet cell number and small intestine mucin secretion in rats. **The Journal of Nutrition**, v.139, n.9, p.1640-47, 2005.

KRITCHEVSKY, D.; STORY, J.A. Influence of dietary fiber on cholesterol metabolism in experimental animals. In: SPILLER, J.A. (ed.). **Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**. CRC Press, Boca Raton, p. 129-142, 1986.

LANGHOUT D.J.; SCHUTTE, J.B.; VAN LEEUWEN, P.; WIEBENGA, J.; TAMMINGA, S. Effect of dietary high-and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestine wall of broiler chicks. **British Poultry Science**, v.40, p. 340-47, 1999.

LEV, R.; SPICER, S. Specific staining of sulfate groups with alcian blue at low pH. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Baltimore, v. 12, p.309, 1964.

LI, Y. et al. Effects of stress simulated by dexamethasone on jejunal glucose transport in broilers. **Poultry Science**, v.88, p.330–37, 2009.

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

MARTINS, J.M.; RITTOT, M.; ABREU, M.A.; VIEGAS-CRESPO, A.M.; LANÇA, M.J.; ALMEIDA, J.A.; FREIRE, J.B.; BENTO, O.P. Cholesterol-lowering effects of dietary blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in intact and ileorectal anastomosed pigs. **Journal of Lipid Research**, v.46, p. 1539-1547, 2005.

MCBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. **Journal of Animal Science**, v.68, p. 2997-3010, 1990.

McMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, Baltimore, v. 23, p. 99-108. 1948.

MONTAGNE, L.; PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.95-117, 2003.

MURPHY, J. High-quality post-weaning diet is critical to piglet's transition to grain-based diet. **Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs**. Disponível em: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/swine/facts/postwean.html>. Acesso em: 7 dez. 2010.

NIMMERFALL, F.; ROSENTHALER, J. Significance of the goblet-cell mucin layer, the outermost luminal barrier to passage through the gut wall. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v.94, p. 960–66, 1980.

NITSAN, Z.; BEM-AVRAHAM, G; ZOREF, Z.; et al. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **Brazilian Poultry Science**, v.32, p.515-23, 1991.

PIEL, C.; MONTAGNE, L.; SEVE, B.; LALLES, J.P. Increasing digesta viscosity using carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates goblet cell numbers and maturation. *The Journal of Nutrition*, v.135, p.86–91, 2005.

ROBERTON, A.M.; WRIGHT, D.P. Bacterial glycosulfatases and sulfomucin degradation. **Canadian Journal of Gastroenterology**, Oakville, v. 11, p. 361-66, 1997.

ROLANDELLI, R.H.; KORÃOEDA, M.J.; SETTLED, R.G.; LESKIWJ, T.M.J; ROSEBROUGH, R.W.; STEELE, N.C.; MCMURTRY, J.P. et al. Effect of early feed restriction in broilers. II. Lipid metabolism. **Growth**, v.50, p.217-27, 1986.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005.p.189.

SAS Institute, SAS (Statistical Analysis System). Users guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.

SATCHITHANANDAM, S.; JAHANGEER, S.; CASSIDY, M.M.; FLOOR, M.K.; CARVERT, R.J.; LEEDS, A.R.; ALABASTER, O. Quantitative effects of wheat bran feeding on rat intestinal mucin. **The FASEB Journal**, v. 3, A1066, 1989.

SHAKOURI, M.D.; KERMANSHAHI, H.; MOHSENZADEH, M. Effect of different non starch polysaccharides in semi purified diets on performance and intestinal microflora of young broilers chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.6, p. 557-61, 2006.

SILVA, V.K. **Pectina na ração de frangos de corte: digestibilidade, parâmetros zootécnicos e metabolismo lipídico**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2010.

STURKIE, P.D. **Fisiologia Aviária**. 4.ed. New York: Springer-Verlag, 516p, 1986.

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 2, p. 320-327, 2003.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, p.21-33, 2001.

Worthington Biochemical Corporation (2010). Disponível em <http://www.worthington-biochem.com/introbiochem/effectsph.html>. Acesso em: 10 dez. 2010.

CAPÍTULO 3 - FRANGOS DE CORTE (*Gallus domesticus*) RESPONDEM À INGESTÃO DE PECTINA COM AUMENTO NA SUPERFÍCIE LUMINAL DO INTESTINO DELGADO

RESUMO: Este trabalho analisou o efeito de ingestão de pectina sobre os parâmetros morfométricos do intestino delgado de frangos de corte. Foram utilizados 600 pintos machos Cobb®, com um dia de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 6, sendo quatro níveis de pectina na ração (0, 1, 3 e 5%) e seis idades de coleta (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com cinco repetições por tratamento. A ingestão de pectina apenas alterou o tamanho do íleo, cujo comprimento diminuiu com o aumento da fibra. O perímetro do duodeno aumentou com a pectina a partir dos 21 dias, e no jejuno e no íleo a partir dos 14 dias de idade. A área duodenal aumentou com a inclusão de fibra a partir do 7º dia, o mesmo ocorreu com o jejuno no 7º, 14º, 28º e 35º dia, e no íleo, a partir do 21º dia de idade. A altura, largura, perímetro e área das vilosidades dos três segmentos intestinais reduziram com a inclusão de pectina. Contrariamente, a densidade e o número total de vilos, bem como a área total de superfície luminal aumentaram em ambos os segmentos. Do ponto de vista temporal, todos os parâmetros analisados aumentaram até os 42 dias de idade, com exceção da densidade de vilos do duodeno, jejuno e íleo, a qual diminuiu até a idade de abate. Conclui-se que a ingestão de pectina não inibe o desenvolvimento morfológico do intestino delgado dos frangos. Entretanto, diminui o tamanho e aumenta a densidade dos vilos, resultando em aumento da superfície de digestão e absorção do duodeno, jejuno e íleo.

Palavras-chave: área de superfície total, fibra solúvel, morfologia, vilo,

CHAPTER 3 - BROILER (*Gallus domesticus*) RESPOND TO THE INTAKE WITH PECTIN INCREASE IN THE SMALL INTESTINE luminal surface

ABSTRACT: This study examined the effect of ingestion of pectin on the morphometric parameters of small intestine of broilers. We used 600 male chicks from Cobb ®, with one day of age in a randomized design in a factorial 4 x 6, four levels of pectin in the diet (0, 1, 3 and 5%) and six collection ages (7, 14, 21, 28, 35 and 42 days) with five replicates per treatment. The intake of pectin only changed the size of the ileum, whose length decreased with increasing fiber. The perimeter of the duodenum increased with pectin from 21 days, and in the jejunum and ileum after 14 days of age. The duodenal area increased with the inclusion of fiber from the 7th day, the same happened to the jejunum in the 7th, 14th, 28th and 35th day, and ileum from day 21 of age. The height, width, perimeter and area of the villi of the three intestinal segments decreased with the addition of pectin. In contrast, the density and total number of villi, and the total luminal surface area increased in both segments. From the viewpoint of time, all measured parameters increased up to 42 days, except for the density of villi of the duodenum, jejunum and ileum, which decreased until the age of slaughter. It is concluded that ingestion of pectin does not inhibit the morphological development of the small intestine of chickens. However, decreases the size and increases the density of the villi, resulting in increased surface digestion and absorption in the duodenum, jejunum and ileum.

Keywords: morphology, soluble fiber, total surface area, villus

INTRODUÇÃO

O estudo da mucosa intestinal é um importante aspecto da fisiologia da digestão, pois representa uma extensa área de exposição a agentes exógenos que estão presentes nessa região a partir do início da ingestão, digestão e absorção de nutrientes (MAIORKA et al., 2002). As aves apresentam ao longo do intestino delgado muitas dobras microscópicas, denominadas vilosidades ou vilos, que proporcionam um aumento na superfície interna do órgão e, por consequência, na área de digestão e absorção. O epitélio de revestimento dos vilos é do tipo simples, e constituído por enterócitos (responsáveis pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes), células caliciformes (produtoras de mucinas que protegem o epitélio intestinal e servem de sítio de ligação para a microbiota intestinal) e células entero-endócrinas (reguladoras da atividade do epitélio intestinal e das células das criptas, originam das células do epitélio), (BOLELI et al., 2002).

No período pós-natal, o trato gastrointestinal das aves está anatomicamente completo (OVERTON e SHOUP, 1964; CHAMBERS e GREY, 1979), entretanto sua capacidade funcional, de digestão e absorção ainda está imatura, se comparada à de aves adultas (MAIORKA et al., 2002). Assim, após a eclosão, o intestino sofre um processo de maturação, o qual envolve mudanças morfológicas que proporcionam um aumento na área de superfície de digestão e de absorção. Tais mudanças envolvem aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos, e consequentemente, no número de enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas (IMONDI e BIRD, 1966; BARANYIOVA, 1972; BARANYIOVA e HOLDMAN, 1976). YAMAUCHI e ISSHIKI (1991) afirmam que a densidade de vilos/área reduz com o aumento da idade dos frangos, evidenciando aumento no tamanho do vilo ao longo da idade da ave.

É conhecido que o sistema digestório possui uma plasticidade muito grande de resposta à ingestão de uma dieta exógena (ração), que envolve adaptações morfofuncionais do trato gastrointestinal das aves, em especial, no intestino delgado. O consumo de determinados alimentos pode afetar negativamente a mucosa intestinal, além de, comprometer os processos digestórios. (VAN BEERS-

SCHREURS et al., 1998; SPREEUWENBERG et al., 2001; VENTE-SPREEUWENBERG et al., 2003). Estudos avaliando a influência de dietas ricas em fibras solúveis sobre a morfologia intestinal têm sido realizados em ratos e suínos (CERA et al., 1988; MOORE et al., 1988; JIN et al., 1994; NYACHOTI et al., 1997; YU e CHIOU, 1997; KLASING, 1998; TUCCI, 1999; McDONALD et al., 2001). Porém o efeito da ingestão de pectina sobre a manutenção morfológica da mucosa intestinal de frangos ainda está pouco elucidado.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi analisar se a ingestão contínua de pectina altera o desenvolvimento dos vilos, bem como a área de superfície luminal do intestino delgado de frango de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Aves e manejo experimental

O presente estudo foi realizado no aviário experimental, no período de 22/10 a 25/11/2009, e no Departamento de Fisiologia e Morfologia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, da referida Faculdade (protocolo nº 004888-09).

Seiscentos pintos machos (Cobb®), com um dia de idade, obtidos de incubatório comercial, foram pesados individualmente e distribuídos homogeneamente pelo peso corporal (peso médio 45 ± 2 g) em 20 repetições de 30 aves, sendo 5 repetições por tratamento (0, 1, 3, e 5% de pectina na ração). As aves foram alojadas em boxes (2,50 x 1,50m) em galpão de alvenaria, forrados com casca de arroz e equipados com bebedouros de alumínio tipo copo de pressão, comedouro tubular infantil e fonte de aquecimento constituída de uma lâmpada de 200 watts. Após o sétimo dia de idade, foram utilizados bebedouros pendulares e comedouros tubulares com capacidade de 25 kg.

As rações foram à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), ajustadas, de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2005), para as fases inicial

(1 a 21 dias; PB: 21,02%, EM:3000 Kcal/Kg) e de crescimento (22 a 42 dias; PB: 19,02%, EM: 3175 Kcal/Kg) dos frangos. As aves receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental. Elas foram vacinadas no incubatório contra doença de Marek, Gumboro e Bouba Aviária, aos oito dias de idade foram vacinadas contra Gumboro (cepa intermediária Lukert) e New Castle (estirpe La Sota), e aos 18 dias contra a doença de Gumboro (cepa forte Austrália V-877). As vacinações foram realizadas via ingestão de água aos 8 e 18 dias de idades.

A temperatura e a umidade relativa no interior do galpão foram registradas durante todo o período experimental utilizando-se dois termohigrômetros digitais localizados em pontos equidistantes do galpão. Da primeira à sexta semana de experimento, os valores semanais médios de temperatura e de UR, obtidos pela média entre o valor mínimo e máximo, foram 31,3 °C, 29,3 °C, 27,3 °C, 26,4 °C, 23,0 °C, 23,0 °C e de 36,0%, 36,2%, 32,0%, 37,3%, 34,0%, 31,8%, respectivamente. Foi utilizado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves.

2. Coleta das amostras

Com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, 5 aves/tratamento, uma por repetição, foram abatidas por deslocamento cervical para coleta do intestino delgado. Os segmentos intestinais foram delimitados considerando-se como duodeno a porção distal da alça duodenal a partir do piloro, o jejuno desde o final da alça duodenal até o divertículo de Meckel e, o íleo a porção anterior aos cecos.

3. Parâmetros analisados

3.1. Comprimento, perímetro e área dos segmentos intestinais

Imediatamente após coleta, foi aferido o comprimento (cm) do intestino delgado e de seus segmentos (duodeno, jejuno e íleo). Em seguida, amostras de 1.5 cm de comprimento foram retiradas de cada segmento intestinal, e fixadas em Bouin por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período, elas foram desidratadas em série crescentes de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizados em

xilol e incluídos em histosec. De cada amostra, foram realizados 5 cortes transversais semi-seriados de 7µm de espessura, corados com Hematoxilina e Eosina. Os cortes foram utilizados para obtenção do perímetro médio de cada segmento intestinal, sendo realizadas 5 mensurações /segmento/ave/tratamento (1 contagem/corte histológico), utilizando-se um sistema de análise de imagens acoplado a uma lupa (Leica MZ8). A área de cada segmento intestinal foi calculada multiplicando-se o comprimento de cada um deles pelo seu perímetro e expressa em mm².

3.2. Tamanho, área de superfície e densidade de vilos

Para análise da morfometria dos vilos, amostras de três centímetros de comprimento foram coletadas do duodeno, jejuno e íleo. Imediatamente após coleta, elas foram abertas longitudinalmente, estendidas, lavadas cuidadosamente com água destilada e fixadas em formaldeído 10% tamponado (pH 7,4) durante 48 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série de concentração crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em histosec em posição para obter-se cortes longitudinais das amostras e, conseqüentemente, dos vilos. De cada segmento intestinal, foram realizados cinco cortes histológicos semi-seriados de 7µm de espessura, corados com HE. Os cortes foram utilizados para obter-se os dados da altura (AV), largura (LV) e perímetro (PV) das vilosidades, sendo analisados 30 vilos por segmento/ave/tratamento. A partir dos dados de AV e LV, estimou-se a área de superfície dos vilos (ArV) multiplicando-se 2π pela LV e o produto pela AV, como proposto por Li et al (2009) ($ArV=2\pi \times AV \times LV$).

Para determinar a densidade de vilos por área (DV), amostras de aproximadamente 3 cm foram coletadas do duodeno, jejuno e íleo, fixadas imediatamente em solução de formol 10% e processadas pelo método histológico de rotina para microscopia de luz, ou seja, desidratadas em série de concentração crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizadas em xilol e incluídas em histosec com orientação para cortes transversais dos vilos. Para cada região intestinal foram realizados 5 cortes histológicos longitudinais semi-seriados dos

vilos, de 7 μ m de espessura, corados com HE. O número de vilos por área correspondeu ao número total de vilos presente em uma área de 1600 μ m².

Todos os dados referentes aos vilos foram obtidos utilizando-se um sistema de análise de imagens (Leica Q win V3) acoplado a um microscópio (Leica-DM 2500).

3.3. Número total de vilos e área total de superfície luminal dos segmentos intestinais

O número total de vilosidades (NTV) presentes em cada segmento foi obtido multiplicando-se a área do segmento (item 3.1.) pela densidade de vilos do segmento (item 3.2.) dada em número de vilos por mm². A área total da superfície luminal (ATS) de cada segmento intestinal foi calculada multiplicando-se o NTV pela a área de superfície dos vilos (item 3.2.).

4. Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida constituído na parcela pelos níveis de pectina (0, 1, 3 e 5%) e na subparcela pelas idades de avaliação (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias). Os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudantizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância e posterior análise de regressão pelo procedimento GLM do programa SAS[®] (SAS Institute, 2002), considerando-se o porcentagem de significância de 5%.

Tabela 1 – Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de criação

Ingredientes	Inicial				Crescimento			
	0%	1%	3%	5%	0%	1%	3%	5%
Milho	47,50	47,50	47,50	47,50	52,50	52,50	52,50	52,50
Farelo de soja	36,92	36,92	36,92	36,92	30,95	30,95	30,95	30,95
Óleo soja	5,75	5,75	5,75	5,75	7,40	7,40	7,40	7,40
Fosfao bicálcico	1,90	1,90	1,90	1,90	1,64	1,64	1,64	1,64
Calcário	0,82	0,82	0,82	0,82	0,75	0,75	0,75	0,75
Sal	0,47	0,47	0,47	0,47	0,43	0,43	0,43	0,43
L-lisina HCL (78%)	0,61	0,61	0,61	0,61	0,30	0,30	0,30	0,30
DL-Metionina (99%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,40	0,40	0,40	0,40
L-treonina	0,14	0,14	0,14	0,14	0,08	0,08	0,08	0,08
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sup. Vit. e Min. ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Inerte ²	5,00	4,00	2,00	0,00	5,00	4,00	2,00	0,00
Pectina*	0,00	1,00	3,00	5,00	0,00	1,00	3,00	5,00
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição calculada								
EM (Kcal/Kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.175	3.175	3.175	3.175
PB (%)	21,62	21,62	21,62	21,62	19,02	19,02	19,02	19,02
Ca (%)	0,92	0,92	0,921	0,92	0,81	0,81	0,81	0,806
Pd (%)	0,46	0,46	0,46	0,46	0,40	0,40	0,40	0,402
Na (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,20	0,20	0,20	0,203
Lis dig (%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,13	1,13	1,13	1,126
Met dig (%)	0,63	0,63	0,63	0,63	0,66	0,66	0,66	0,662
Lis+Met dig(%)	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,912
Thr dig (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,70	0,70	0,70	0,703

¹ Suplemento mineral + vitamínico. Cada quilograma do produto contém: Se 54,6 mg, Cu 25.000 mg, pantotenato de Ca 1.900 mg, Mn 15.252 mg, I 260mg, Zn 18.250 mg, ácido nicotínico 6.930 mg, biotina 32 mg, colina 120 g, Vit A 1.400.000 UI, Vit B1 356 mg, Vit B12 2.000 mcg, Vit B2 1.920 mg, Vit B6 693 mg, Vit D3 600.000, Vit E 5.000mg, Vit K 196mg, antioxidante 100mg, anticoccidiano 25.000mg e promotor de crescimento (bacitracina de zinco) 10.000 mg. ³Inerte: caulin

* Pectina de alto grau de esterificação, alto grau de gelificação, alto teor de carboidratos solúveis (85%), não amidada, extraída de polpa cítrica (pectina GENU® tipo B rapid set-Z, CP Kelco, Limeira, Brasil)

RESULTADOS

1. Comprimento, perímetro e área intestinal

Houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre o nível de pectina na ração e a idade das aves para o comprimento total do intestino, para o comprimento, o perímetro e a área do duodeno e jejuno, e para o perímetro e a área do íleo, bem como efeito significativo do nível da fibra e da idade sobre o comprimento do íleo (Tabela 2).

Os desdobramentos dessa interação para o comprimento do intestino delgado (CID) e para os parâmetros duodenais são mostrados na Tabela 3. O CID, e o comprimento (CD), perímetro (PD) e área (AD) duodenais aumentaram linearmente ($p \leq 0,05$) com a idade em todos os níveis de pectina ingeridos (Figuras 1A-C e 2B). O CID e o CD não foram alterados pelos níveis de pectina ingeridos em nenhuma das idades analisadas. A idade respondeu por mais de 88% da variabilidade do CID e por 91% ou mais da variabilidade no CD. O PD e a AD aumentaram de forma significativa ($p \leq 0,05$) e linear com o aumento da idade e com o aumento do nível de pectina a partir dos 21 e dos 7 dias de idade, respectivamente. A idade foi responsável por mais de 97% da variabilidade encontrada nesses parâmetros (Figuras 2A,C).

A Tabela 4 mostra os dados dos desdobramentos da interação entre o nível de pectina na ração e a idade das aves para o comprimento (CJ), perímetro (PJ) e área (AJ) do jejuno. O CJ aumentou linearmente ($p \leq 0,05$) com a idade em todos os níveis de fibra ingeridos, mas não foi influenciado pelo nível de ingestão de pectina nas idades estudadas ($p > 0,05$). A idade respondeu por mais de 79% da variabilidade encontrada no CJ (Figura 3A). O PJ e a AJ aumentaram linearmente ($p \leq 0,05$) com a idade em todos os níveis de fibra ingeridos, bem como com o aumento do nível de pectina em todas as idades analisadas, exceto para o PJ aos 7 dias, idade na qual não ocorreu efeito do nível da fibra sobre esse parâmetro (Figuras 3B,C, 4A,B). A idade e o nível de fibra na ração responderam por mais de 97% e 94% da variabilidade encontrada no PJ, respectivamente, e por mais de 94% da variabilidade encontrada na AJ.

O comprimento do íleo (CI) aumentou ($p \leq 0,05$) com a idade, independentemente do nível de pectina ingerido, e diminuiu ($p \leq 0,05$) com o aumento do nível da fibra (Tabela 2). Os dados dos desdobramentos da interação entre o nível de pectina na ração e a idade das aves para o perímetro (PI) e a área (AI) do íleo são mostrados na Tabela 5. Ambos os parâmetros aumentaram ($p \leq 0,05$) temporalmente, independente do tratamento, bem como com o aumento dos níveis da fibra, exceção feita aos 7 dias de idade para o PI e aos 14 dias para a AI, idades nas quais não foi registrado regressão significativa (Figura 5A,C, 5B,D). A idade e o nível de pectina responderam por mais de 94% e 98% da variabilidade observada no PI, bem como por 94% e 98% na variabilidade registrada na AI, respectivamente.

Tabela 2 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades (d) sobre os valores médios do comprimento do intestino delgado (CIT), comprimento (CD), perímetro (PD) e área total (AD) do duodeno, comprimento (CJ), perímetro (PJ) e área total (AJ) do jejuno e comprimento (CI), perímetro (PI) e área total (AI) do íleo de frangos de corte.

Pectina (P) ¹	CID (mm)	Duodeno			Jejuno			Íleo		
		CD (mm)	PD (mm)	AD (mm ²)	CJ (mm)	PJ (mm)	AJ (mm ²)	CI (mm)	PI (mm)	AI (mm ²)
0	1410	255	18	5183	1010	17	17881	141	18	2345
1	1428	255	19	5416	1062	18	19524	136	17	2462
3	1480	270	19	5481	1092	20	20641	131	20	2623
5	1416	275	20	5623	1021	21	21028	119	21	2707
Idade (I)²										
7	899	182	12	2229	639	13	8194	76	12	954
14	1100	220	16	3625	782	15	11855	94	15	1631
21	1456	264	17	4623	1065	17	17799	135	18	2370
28	1598	290	20	5508	1181	21	22099	143	20	2841
35	1714	311	23	7698	1238	23	26846	159	23	3561
42	1836	330	26	8263	1339	26	34135	166	24	3955
P	0,0832	0,0295	<0,0001	<0,0001	0,0043	<0,0001	<0,0001	0,0072	<0,0001	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	0,0014	0,0390	<0,0001	<0,0001	0,0072	<0,0001	<0,0001	0,0789	<0,0001	<0,0001
CV (%) ¹	8,5	9,39	0,43	1,56	10,53	0,36	0,42	10,21	0,58	1,71
CV (%) ²	11,69	9,51	6,74	3,27	13,72	3,51	4,15	14,41	5,45	3,51

Tabela 3 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o comprimento do intestino delgado (CID) e comprimento (CD), perímetro (PD) e área do duodeno (AD) de frangos de corte.

Idade (dias)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
CID (mm)						
7	920	924	870	880	0,1660	0,6342
14	1140	1150	1156	956	0,2114	0,1766
21	1486	1520	1428	1398	0,0847	0,8464
28	1520	1600	1592	1680	0,1011	0,9711
35	1550	1660	1880	1706	0,4856	0,2608
42	1846	1722	1956	1880	0,5110	0,9750
L	0,0026	0,0093	0,0001	0,0017		
Q	0,4376	0,0997	0,0910	0,3556		
CD (mm)						
7	188	187	176	178	0,1356	0,4973
14	215	251	215	199	0,3919	0,6069
21	257	275	255	270	0,7952	0,8970
28	264	283	285	339	0,0576	0,2523
35	304	305	332	341	0,6664	0,5903
42	305	307	361	360	0,1146	0,7588
L	0,0009	0,0220	<0,0001	0,0062		
Q	0,2326	0,1518	0,9989	0,4329		
PD (mm)						
7	12	12	12	12	0,3235	0,4329
14	14	16	16	16	0,2099	0,3490
21	15	17	18	18	0,0482	0,2518
28	19	20	22	22	0,0451	0,6267
35	22	23	25	26	0,0428	0,2991
42	23	25	27	27	0,0267	0,5933
L	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,7214	0,6358	0,8719	0,9217		
AD (mm²)						
7	2276	2335	2434	2542	0,0403	0,9355
14	3064	4002	4591	4804	0,0314	0,2469
21	4311	4532	4809	4935	0,0264	0,0594
28	4800	5473	5827	5991	0,0359	0,3002
35	6577	7914	8095	8207	0,0158	0,4108
42	8018	8065	8377	8596	0,0278	0,8804
L	0,0002	0,0007	0,0010	0,0010		
O	0,1199	0,9916	0,8575	0,8774		

Tabela 4 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o comprimento (CJ), perímetro (PJ) e área (AJ) do jejuno de frangos de corte.

Idade (dias)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
CJ (mm)						
7	645	652	622	631	0,2770	0,7496
14	819	792	845	775	0,3109	0,3968
21	1065	1147	1042	1002	0,2658	0,6753
28	1103	1181	1230	1208	0,2302	0,1054
35	1174	1264	1376	1238	0,4628	0,0576
42	1360	1298	1430	1365	0,5869	0,9984
L	0,0050	0,0184	0,0003	0,0016		
Q	0,5962	0,0506	0,0786	0,4187		
PJ (mm)						
7	13	13	13	14	0,1237	0,7430
14	13	14	15	17	0,0385	0,6282
21	15	16	18	19	0,0346	0,8321
28	20	20	22	23	0,0429	0,8870
35	22	22	24	25	0,0225	0,1115
42	23	24	28	29	0,0111	0,5654
L	0,0003	0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,6640	0,6104	0,6395	0,8731		
AJ (mm²)						
7	7753	8072	8307	8645	0,0142	0,6327
14	10668	11061	12535	13159	0,0145	0,5549
21	16892	17749	18203	18358	0,0196	0,2745
28	20097	21325	22843	24790	0,0127	0,9148
35	22308	24483	28655	29894	0,0087	0,1791
42	31109	34457	35627	35908	0,0155	0,3185
L	0,0004	0,0004	<0,0001	<0,0001		
O	0,4773	0,3069	0,0758	0,1775		

Tabela 5 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o perímetro (PI) e área (AI) do íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
PI (mm)						
7	11	11	12	13	0,0751	0,7293
14	14	14	15	17	0,0396	0,4234
21	16	17	19	21	0,0106	0,4056
28	18	20	23	24	0,0199	0,6583
35	21	23	25	25	0,0240	0,1947
42	22	23	25	28	0,0191	0,4827
L	0,0003	0,0007	0,0003	0,0003		
Q	0,6625	0,7210	0,2403	0,2008		
AI (mm ²)						
7	901	953	975	989	0,0950	0,3596
14	1516	1623	1662	1723	0,0566	0,5425
21	2298	2340	2378	2467	0,0146	0,5735
28	2566	2639	2998	3162	0,0139	0,6962
35	3294	3384	3663	3994	0,0043	0,1462
42	3721	3838	4066	4196	0,0087	0,1721
L	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,3892	0,4382	0,0894	0,1798		

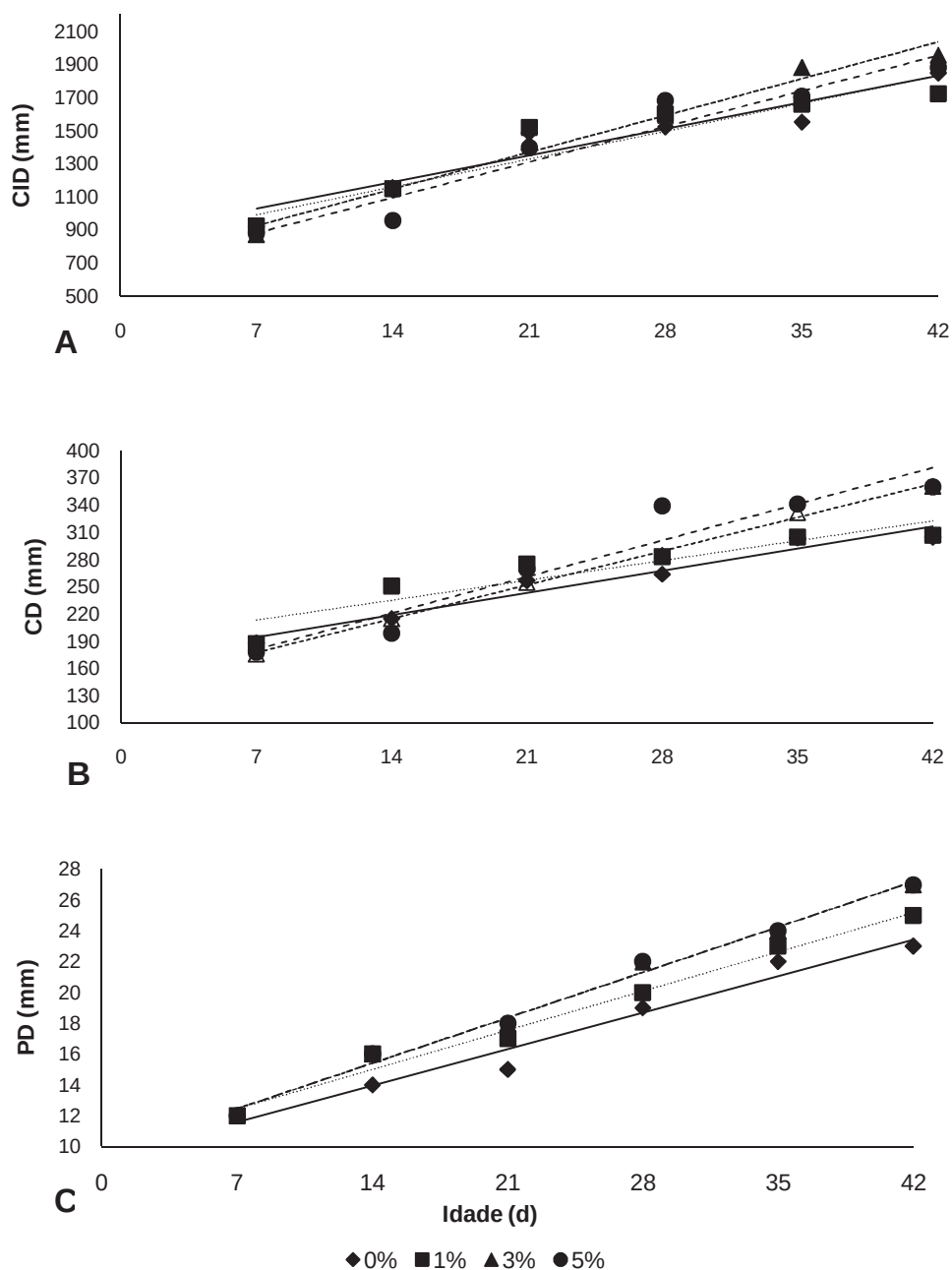


Figura 1 - Regressão para: (A) Comprimento do intestino delgado (CID) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 24,057x + 820,93$, $R^2 = 0,92$; $y(1\%) = 22,857x + 869,33$, $R^2 = 0,88$; $y(3\%) = 31,698x + 703,73$, $R^2 = 0,98$; $y(5\%) = 30,743x + 663,47$, $R^2 = 0,93$], (B) Comprimento do duodeno (CD) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 3,5061x + 169,6$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = 3,1429x + 191$, $R^2 = 0,85$; $y(3\%) = 5,3306x + 140,07$, $R^2 = 1,0$; $y(5\%) = 5,7347x + 140,67$, $R^2 = 0,92$] e (C) Perímetro do duodeno (PD) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3388x + 9,2$, $R^2 = 0,97$; $y(1\%) = 0,3633x + 9,9333$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 0,4204x + 9,5333$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 0,3944x + 10,468$, $R^2 = 0,99$].

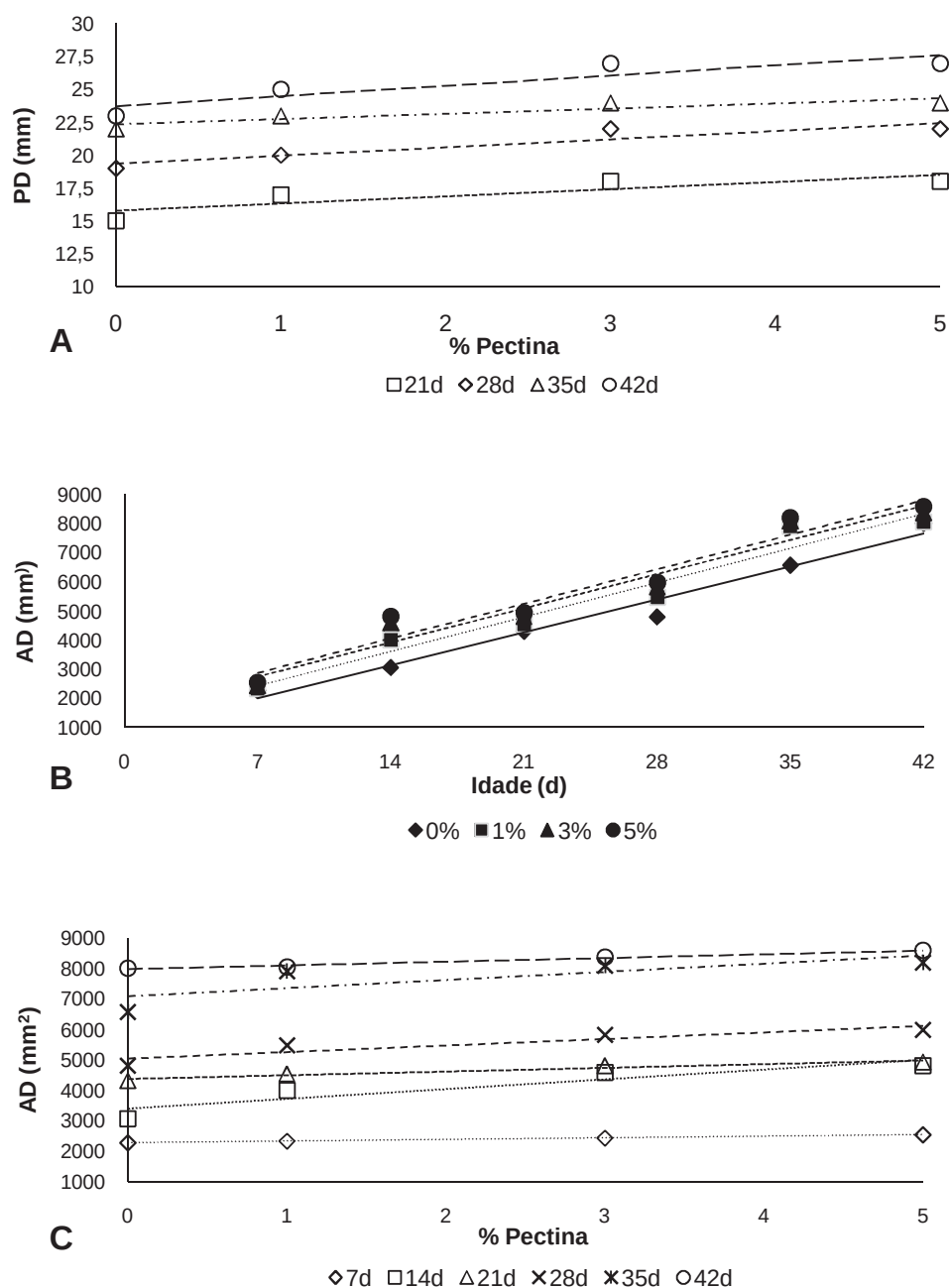


Figura 2 - Regressão para: (A) Perímetro do duodeno (PD) em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(21d) = 0,5424x + 15,78$, $R^2 = 0,72$; $y(28d) = 0,6271x + 19,339$, $R^2 = 0,86$; $y(35d) = 0,3898x + 22,373$, $R^2 = 0,82$; $y(42d) = 0,7797x + 23,746$, $R^2 = 0,82$], (B) Área do duodeno (AD) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 162,2x + 867,49$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 168,67x + 1254,8$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 168,34x + 1564,8$, $R^2 = 0,95$; $y(5\%) = 169,54x + 1692,8$, $R^2 = 0,95$] e (C) AD em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 52,568x + 2278,7$, $R^2 = 0,9994$; $y(14d) = 322,69x + 3389,8$, $R^2 = 0,84$; $y(21d) = 122,8x + 4371$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = 217,36x + 5034,2$, $R^2 = 0,8322$; $y(35d) = 267,92x + 7096$, $R^2 = 0,62$; $y(42d) = 121,95x + 7989,9$, $R^2 = 0,98$].

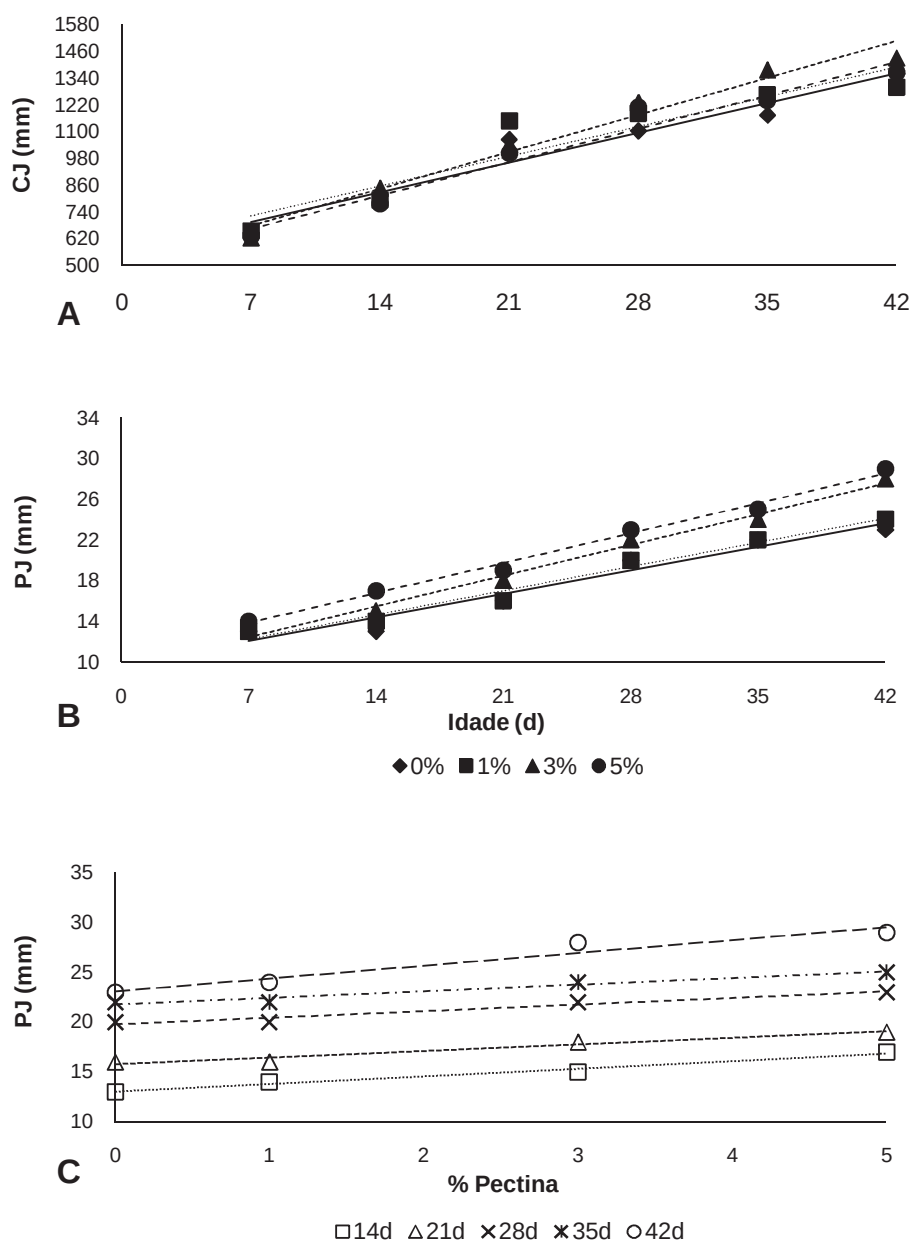


Figura 3 - Regressão para: (A) Comprimento do jejuno (CJ) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 19,094x + 559,87$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = 19,102x + 587,67$, $R^2 = 0,87$; $y(3\%) = 23,759x + 508,73$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 21,49x + 510$, $R^2 = 0,96$], (B) Perímetro do jejuno (PJ) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3306x + 9,7333$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = 0,3388x + 9,8667$, $R^2 = 0,98$; $y(3\%) = 0,4327x + 9,4$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 0,4204x + 10,867$, $R^2 = 0,99$] e (C) PJ em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = 0,7627x + 13,034$, $R^2 = 0,98$; $y(21d) = 0,661x + 15,763$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = 0,661x + 19,763$, $R^2 = 0,95$; $y(35d) = 0,661x + 21,763$, $R^2 = 0,95$; $y(42d) = 1,2881x + 23,102$, $R^2 = 0,94$].

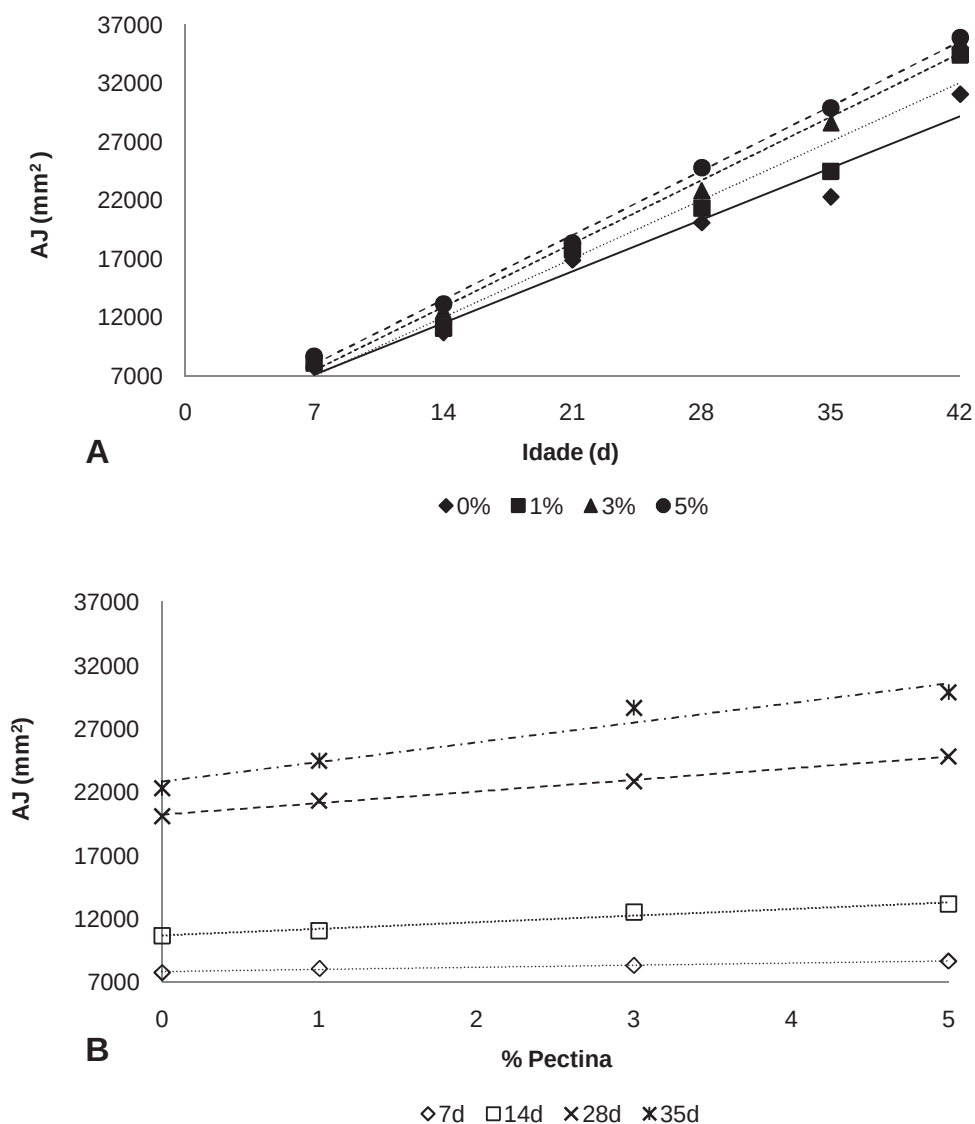


Figura 4 - Regressão para: (A) Área do jejuno (AJ) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 632,27x + 2647,4$, $R^2 = 0,97$; $y(1\%) = 717,42x + 1947,7$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = 773,88x + 2068,4$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 787,57x + 2496,9$, $R^2 = 1,0$] e (B) AJ em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 28 e 35 dias de idade [$y(7d) = 167,43x + 7817,7$, $R^2 = 0,97$; $y(14d) = 526,03x + 10672$, $R^2 = 0,97$; $y(28d) = 910,54x + 20215$, $R^2 = 0,99$; $y(35d) = 1552,6x + 22842$, $R^2 = 0,94$].

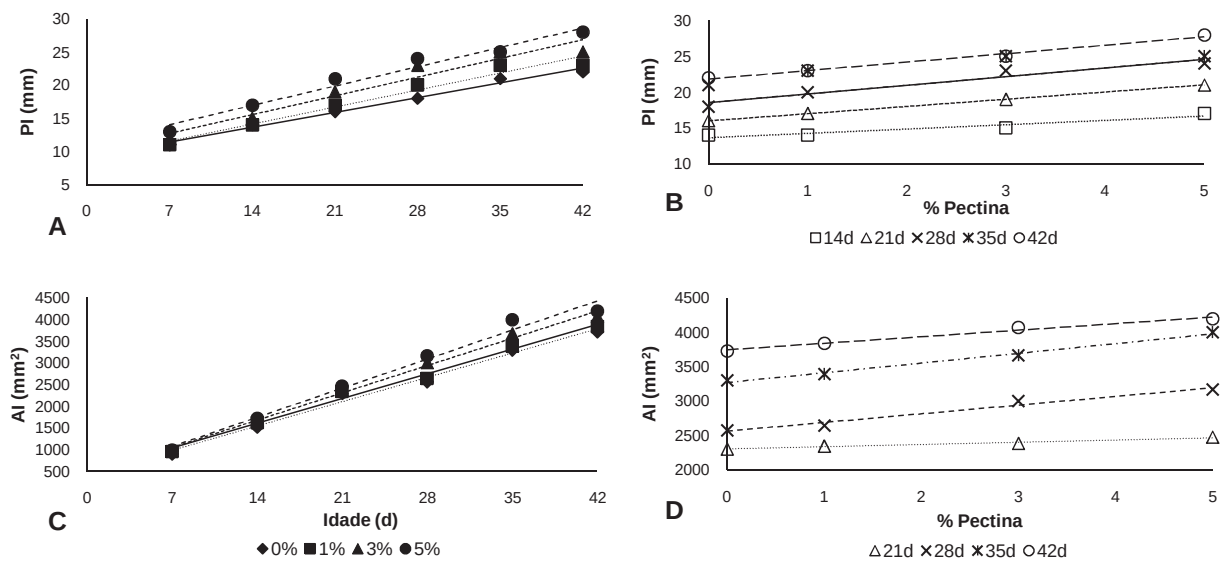


Figura 5 - Regressão para: (A) Perímetro do fígado (PI) em função da idade em frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 0,3184x + 9,2$, $R^2 = 0,99$; $y(1\%) = 0,3673x + 9$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 0,4041x + 9,9333$, $R^2 = 0,94$; $y(5\%) = 0,4163x + 11,133$, $R^2 = 0,97$] e (B) PI em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(14d) = 0,6102x + 13,627$, $R^2 = 0,92$; $y(21d) = 0,7047x + 16,059$, $R^2 = 1,00$; $y(28d) = x + 16$, $R^2 = 1$; $y(35d) = 1,2034x + 18,542$, $R^2 = 0,94$; $y(42d) = 1,1864x + 21,831$, $R^2 = 0,99$]; (C) Área do fígado (AI) em função da idade em frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 80,399x + 412,98$, $R^2 = 0,99$; $y(1\%) = 81,676x + 461,67$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 90,109x + 415,95$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 96,092x + 400,97$, $R^2 = 0,98$] e (D) AI em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7,14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(21d) = 32,003x + 2298,5$, $R^2 = 0,97$; $y(28d) = 126,89x + 2555,6$, $R^2 = 0,97$; $y(35d) = 141,63x + 3265,2$, $R^2 = 0,99$; $y(42d) = 96,234x + 3738,7$, $R^2 = 0,98$].

2. Tamanho, área e densidade de vilos

O efeito da pectina e da idade das aves sobre a morfometria das vilosidades do duodeno encontra-se na Tabela 6. A densidade (DVd) de vilos por área da mucosa duodenal foi influenciada pela porcentagem de ingestão de fibra e idade das aves, e não houve interação significativa entre ambos para esse parâmetro ($p>0,05$), mostrando que quanto maior a inclusão da fibra na dieta e a idade maior o DVd (Figuras 6A,B). Houve interação significativa ($p\leq 0,05$) entre pectina e idade para a altura (AVd), perímetro (PVd) e área (ArVd) das vilosidades do duodeno, sendo os desdobramentos da interação apresentados na Tabela 7. Independente da porcentagem de pectina presente na ração, ambos os parâmetros aumentaram linearmente com o tempo (Figuras 6C, 7A,C), sendo a idade responsável por mais de 92% da variabilidade encontrada. Por outro lado, em todas as idades, a adição de fibra reduziu esses parâmetros de forma também linear, e, nesse caso, a variação nos níveis de pectina respondeu por mais de 90% da variação nesses parâmetros (Figuras 6D, 7B,D).

Os dados correspondentes aos parâmetros morfométricos dos vilos do jejuno constam na Tabela 8. A densidade de vilos por área da mucosa jejunal (DVj) teve efeito da pectina e da idade, mas não foi encontrada interação significativa ($p\leq 0,05$) entre ambos. Tal parâmetro aumentou com o aumento da ingestão de fibra e com a idade (Figuras 8A,B). Foi verificada interação significativa ($p\leq 0,05$) entre pectina e idade para a altura (AVj), largura (LVj), perímetro (PVj) e área (ArVj) dos vilos jejunais, sendo os desdobramentos da interação apresentados na Tabela 9. Em todos os níveis de inclusão da fibra, todos os parâmetros aumentaram linearmente até os 42 dias de idade (Figuras 8C, 9A,C e 10A). Contrariamente, os mesmos diminuíram com o aumento da inclusão de pectina, independentemente da idade (Figuras 8D, 9B,D e 10B). A idade e a quantidade de fibra na dieta responderam por mais de 88% e 89% da variabilidade encontrada, respectivamente.

Os efeitos da pectina e da idade das aves sobre a morfometria das vilosidades ílfacas são apresentados na Tabela 10. Houve efeito significativo ($p\leq 0,05$) da pectina e da idade sobre a densidade de vilos (DVi), mas não foi

observada interação significativa entre ambos. A Dvi aumentou com o aumento da inclusão da fibra na dieta e ao longo da idade (Figuras 11A,B). Foi verificada interação significativa entre pectina e idade ($p \leq 0,05$) para a altura (AVi), largura (LVi), perímetro (PVi) e área (ArVi) dos vilos. Os desdobramentos das interações com suas respectivas probabilidades constam na Tabela 11. Todos os parâmetros aumentaram linearmente até a idade de abate, independente da porcentagem de pectina utilizada (Figuras 11C, 12A,C e 13A). Além disso, tais parâmetros diminuíram de forma linear com o aumento na adição da fibra em todas as idades analisadas (Figuras 11D, 12B,D e 13B). Nesse caso, a idade e a variação da inclusão de fibra foram responsáveis por mais de 83% e 92% da variabilidade, respectivamente.

Tabela 6 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre altura (AVd), largura (LVd), perímetro (PVd), área (ArVd), e densidade de vilos (DVd) do duodeno de frangos de corte.

Pectina (P)¹	AVd (µm)	LVd (µm)	PVd (µm)	ArVd (µm²)	DVd (n°vilo/mm²)
0	1627	113	3174	1154	28
1	1604	109	3018	1110	31
3	1489	108	2894	1009	35
5	1338	103	2781	869	39
Idade (I)²					
7	1240	94	2509	730	60
14	1302	108	2967	883	44
21	1436	113	2863	1018	31
28	1675	117	3206	1230	24
35	1960	119	3541	1466	21
42	2086	125	3677	1642	20
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0075
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	<0,0001	0,1066	<0,0001	0,0001	0,3400
CV (%)¹	1,49	2,44	1,55	2,95	14,57
CV (%)²	20,64	4,65	14,59	19,78	19,13

Tabela 7 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para altura (AVd), perímetro (PVd) e área (ArVd) do vilo do duodeno de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
AVd (µm)						
7	1263	1213	1179	1157	0,0160	0,8545
14	1293	1264	1206	1176	0,0179	0,4679
21	1428	1412	1307	1209	0,0021	0,4204
28	1689	1604	1420	1388	0,0033	0,1520
35	1996	1993	1634	1570	0,0093	0,2610
42	2093	2089	1827	1704	0,0051	0,3460
L	0,010	0,0006	0,0002	0,0008		
Q	0,2709	0,4194	0,2332	0,1010		
PVd (µm)						
7	2533	2486	2347	2339	0,0056	0,7051
14	2702	2642	2529	2456	0,0096	0,5808
21	3001	2816	2671	2570	0,0024	0,8117
28	3357	3152	2901	2812	0,0023	0,7616
35	3639	3364	3042	2962	0,0004	0,6774
42	3814	3650	3257	3191	0,0007	0,6406
L	0,0005	0,0002	0,0002	0,0004		
Q	0,0754	0,3275	0,1110	0,3931		
ArVd (µm²)						
7	746	689	656	611	0,0096	0,8140
14	891	808	691	643	0,0013	0,6731
21	998	956	830	789	0,0075	0,5622
28	1233	1181	986	813	0,0008	0,7328
35	1497	1435	1178	1076	0,0005	0,5532
42	1668	1605	1345	1258	0,0006	0,5570
L	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
O	0,1308	0,1248	0,3342	0,2256		

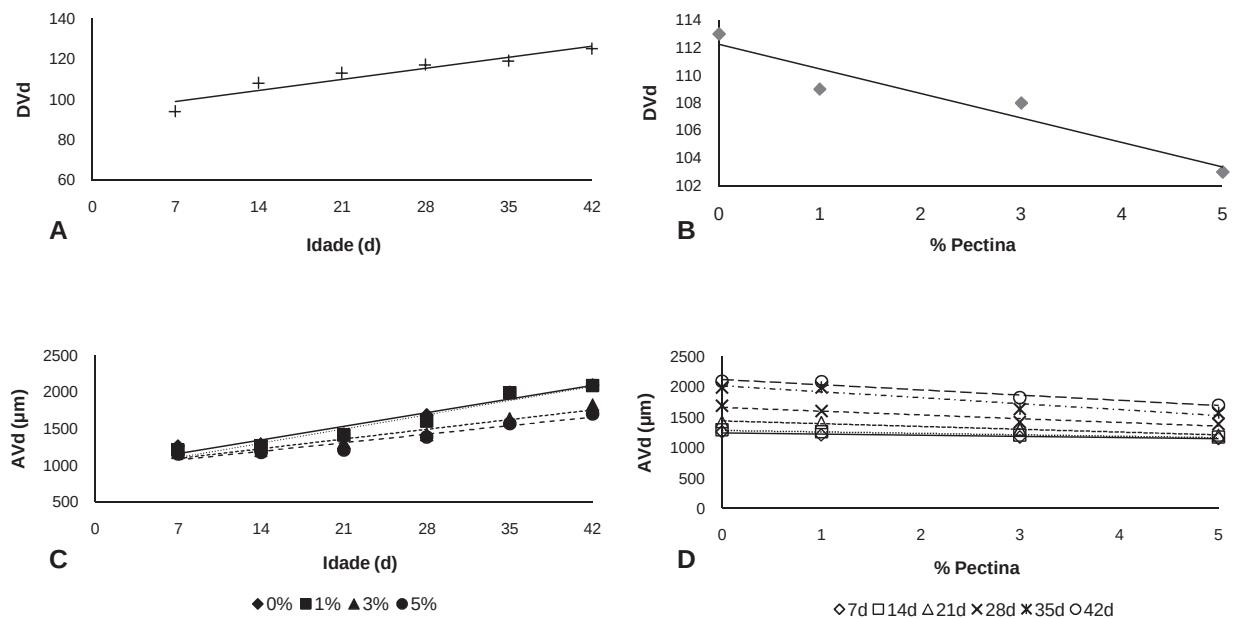


Figura 6 - Regressão para: (A) Densidade de vilos do duodeno (DVd) em função da idade em frangos de corte ($y = -1,2094x + 62,347$, $R^2 = 0,88$), (B) DVd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte ($y = 2,2085x + 27,756$, $R^2 = 1,0$), (C) Altura do vilos do duodeno (AVd) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 26,604x + 975,16$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = 27,579x + 920,09$, $R^2 = 0,94$; $y(3\%) = 18,93x + 965,05$, $R^2 = 0,94$; $y(5\%) = 16,71x + 957,83$, $R^2 = 0,92$] e (D) AVd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -19,766x + 1247,6$, $R^2 = 0,90$; $y(14d) = -23,91x + 1288,5$, $R^2 = 0,98$; $y(21d) = -45,59x + 1441,4$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = -62,561x + 1666$, $R^2 = 0,92$; $y(35d) = -97,605x + 2017,7$, $R^2 = 0,90$; $y(42d) = -85,712x + 2121$, $R^2 = 0,96$].

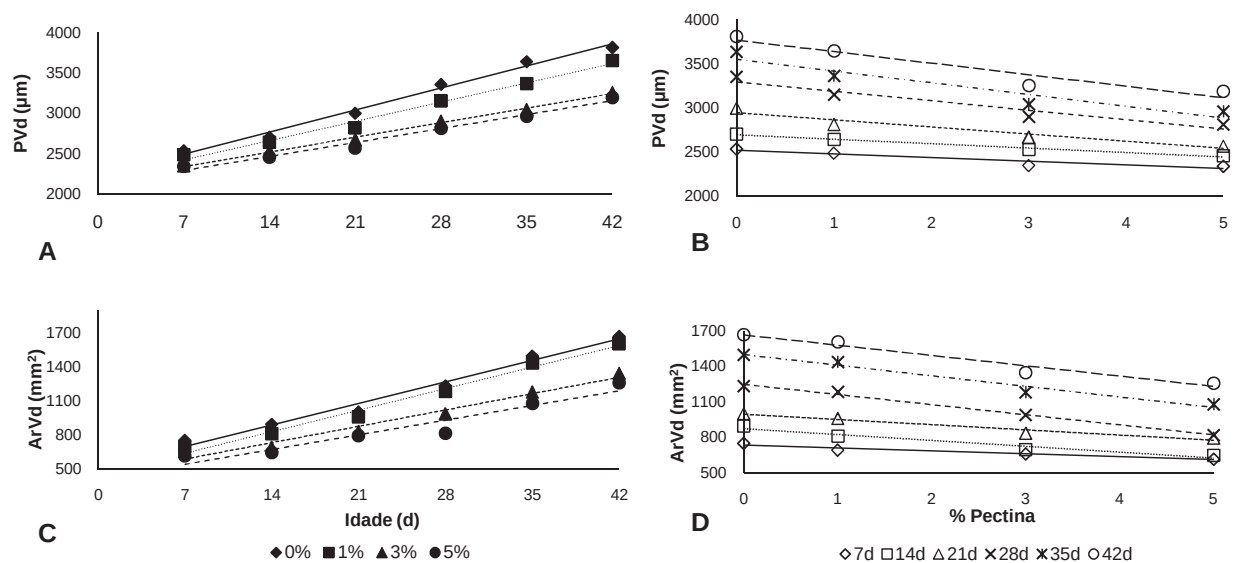


Figura 7- Regressão para: (A) Perímetro do vilô do duodeno (PVd) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 39,065x + 2217,2$, $R^2 = 0,99$; $y(1\%) = 33,96x + 2186,2$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 25,783x + 2159,4$, $R^2 = 1,0$; $y(5\%) = 24,572x + 2119,6$, $R^2 = 0,98$] e (B) PVd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -41,702x + 2520,3$, $R^2 = 0,89$; $y(14d) = -49,571x + 2693,7$, $R^2 = 0,99$; $y(21d) = -81,439x + 2947,3$, $R^2 = 0,93$; $y(28d) = -107,38x + 3297,2$, $R^2 = 0,93$; $y(35d) = -133,17x + 3551,3$, $R^2 = 0,90$; $y(42d) = -130,65x + 3771,9$, $R^2 = 0,92$], (C) Área do vilô do duodeno (ArVd) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 27,194x + 505,9$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 27,296x + 443,57$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 20,649x + 441,63$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 18,6x + 409,16$, $R^2 = 0,92$] e (D) ArVd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -24,922x + 731,77$, $R^2 = 0,94$; $y(14d) = -49,419x + 869,22$, $R^2 = 0,95$; $y(21d) = -44,005x + 992,19$, $R^2 = 0,96$; $y(28d) = -86,408x + 1247,3$, $R^2 = 0,99$; $y(35d) = -89,439x + 1497,7$, $R^2 = 0,97$; $y(42d) = -87,675x + 1666,3$, $R^2 = 0,96$].

Tabela 8 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre a altura (AVj), largura (LVj), perímetro (PVj), área (ArVj) e densidade (DVj) de vilos do jejuno de frangos de corte.

Pectina (P)¹	AVj (μm)	LVj (μm)	PVj (μm)	ArVj (μm)	DVj (n°vilo/mm²)
0	1301	101	2451	860	39
1	1292	100	2338	787	45
3	1055	97	2057	675	48
5	962	94	1949	582	52
Idade (I)²					
7	734	67	1500,	351	76
14	1038	88	2085	572	56
21	1192	102	2266	766	31
28	1347	113	2647	962	27
35	1556	114	2921	1124	26
42	1660	118	3135	1234	22
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	<0,0001	0,0023	0,0156	<0,0001	0,3400
CV (%)¹	3,33	1,63	2,61	3,97	16,59
CV (%)²	19,03	14,50	17,62	30,92	24,13

Tabela 9 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para altura (AVj), largura (LVj), perímetro (PVj) e área (ArVj) dos vilos do jejuno de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
AVj (µm)						
7	841	829	807	778	0,0058	0,4710
14	1061	1023	936	894	0,0097	0,8110
21	1257	1171	1006	983	0,0081	0,7304
28	1498	1390	1138	1066	0,0006	0,8046
35	1588	1527	1376	1222	0,0005	0,4872
42	1666	1647	1502	1328	0,0002	0,2600
L	0,0011	0,0001	0,0035	0,0002		
Q	0,5993	0,3705	0,1100	0,6585		
LVj (µm)						
7	71	67	65	64	0,0392	0,5145
14	95	87	87	86	0,0381	0,3794
21	106	104	103	100	0,0432	0,2950
28	118	115	114	110	0,0320	0,3158
35	118	116	115	112	0,0418	0,3301
42	121	120	118	116	0,0391	0,2747
L	0,0048	0,0056	0,0092	0,0047		
Q	0,0530	0,4200	0,8202	0,3440		
PVj (µm)						
7	1726	1660	1503	1412	0,0008	0,5632
14	2126	2048	1810	1752	0,0054	0,9880
21	2339	2185	1992	1870	0,0006	0,6725
28	2672	2586	2190	2046	0,0001	0,5733
35	2931	2865	2417	2376	0,0002	0,6295
42	3267	3129	2914	2786	0,0002	0,3149
L	0,0005	0,0002	0,0002	0,0004		
Q	0,0754	0,3275	0,1110	0,3931		
Árvj (µm²)						
7	339	305	298	285	0,0017	0,5081
14	578	524	452	422	0,0023	0,4096
21	811	791	697	572	0,0016	0,6653
28	1090	951	826	804	0,0005	0,7729
35	1144	1108	1000	913	0,0001	0,4253
42	1244	1251	1063	1003	0,0003	0,1808
L	0,0010	<0,0001	0,0020	0,0002		
O	0,0533	0,9694	0,0717	0,8671		

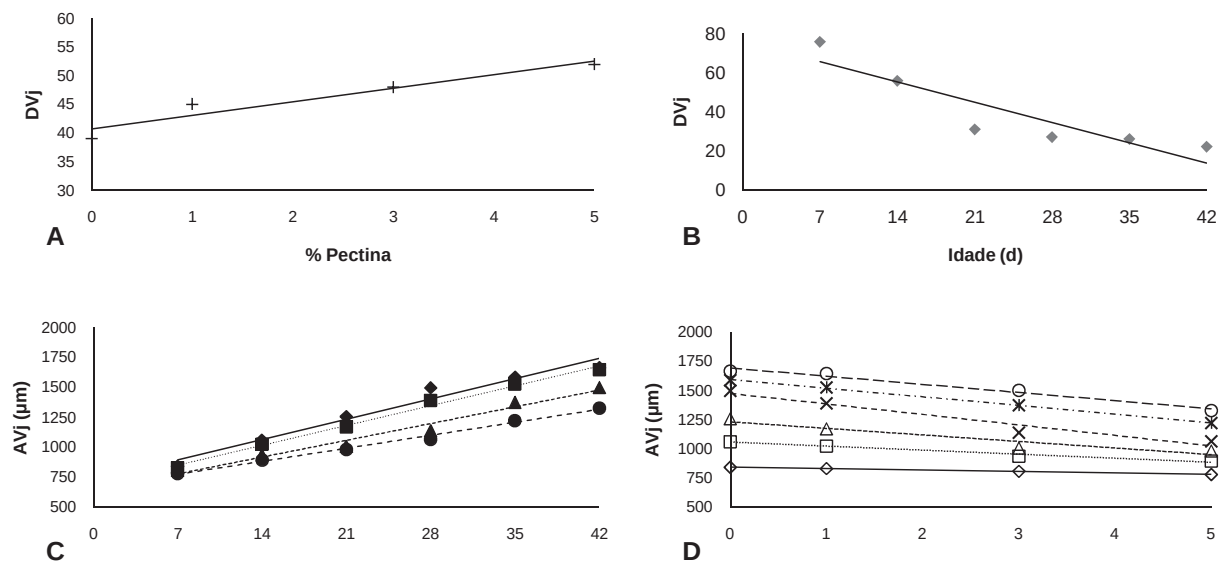


Figura 8 - Regressão para: (A) Densidade de vilos do jejuno (DVj) em função da idade de frangos de corte ($y = -1,4686x + 76,147$, $R^2 = 0,81$), (B) DVj em função da porcentagem de pectina na ração ($y = 2,3x + 41,1$, $R^2 = 0,94$), (C) Altura do vilo do jejuno (AVj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 24,287x + 723,51$, $R^2 = 0,96$; $y(1\%) = 23,763x + 682,47$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 20,104x + 634,84$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 15,566x + 663,61$, $R^2 = 0,99$] e (D) AVj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -12,386x + 841,47$, $R^2 = 1,0$; $y(14d) = -34,283x + 1055,8$, $R^2 = 0,98$; $y(21d) = -56,676x + 1231,8$, $R^2 = 0,91$; $y(28d) = -89,736x + 1474,8$, $R^2 = 0,95$; $y(35d) = -73,971x + 1594,6$, $R^2 = 1,0$; $y(42d) = -69,875x + 1693$, $R^2 = 0,97$].

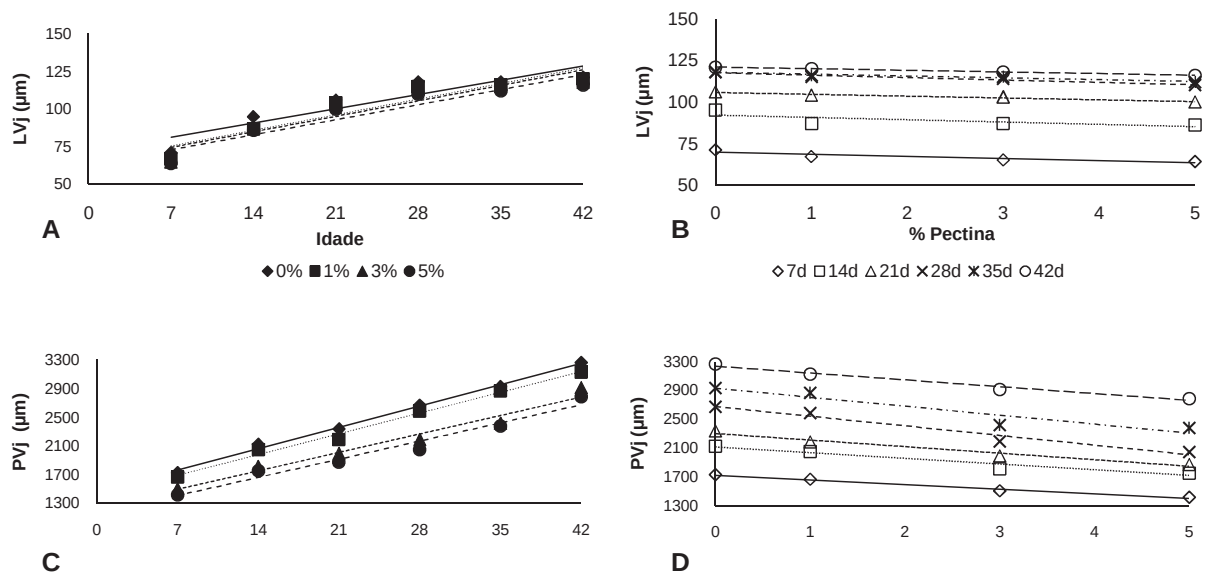


Figura 9 - Regressão para: (A) Largura do vilô do jejuno (LVj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 42,662x + 1464,9$, $R^2 = 1,0$; $y(1\%) = 41,601x + 1393$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 37,047x + 1230$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 36,386x + 1148,9$, $R^2 = 0,97$] e (B) LVj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -64,329x + 1720,1$, $R^2 = 0,99$; $y(14d) = -79,18x + 2112,2$, $R^2 = 0,94$; $y(21d) = -92,019x + 2303,6$, $R^2 = 0,97$; $y(28d) = -133,91x + 2674,8$, $R^2 = 0,96$; $y(35d) = -124,01x + 2926,2$, $R^2 = 0,89$; $y(42d) = -95,975x + 3239,8$, $R^2 = 0,98$] (C) Perímetro do vilô do jejuno (PVj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 1,351x + 71,733$, $R^2 = 0,85$; $y(1\%) = 1,4816x + 65,2$, $R^2 = 0,88$; $y(3\%) = 1,4694x + 64,333$, $R^2 = 0,86$; $y(5\%) = 1,4204x + 63,2$, $R^2 = 0,89$] e (D) PVj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -1,2712x + 69,61$, $R^2 = 0,83$; $y(14d) = -1,4068x + 91,915$, $R^2 = 0,55$; $y(21d) = -1,1017x + 105,73$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -1,4407x + 117,49$, $R^2 = 0,93$; $y(35d) = -1,1017x + 117,73$, $R^2 = 0,9548$; $y(42d) = -x + 121$, $R^2 = 1$].

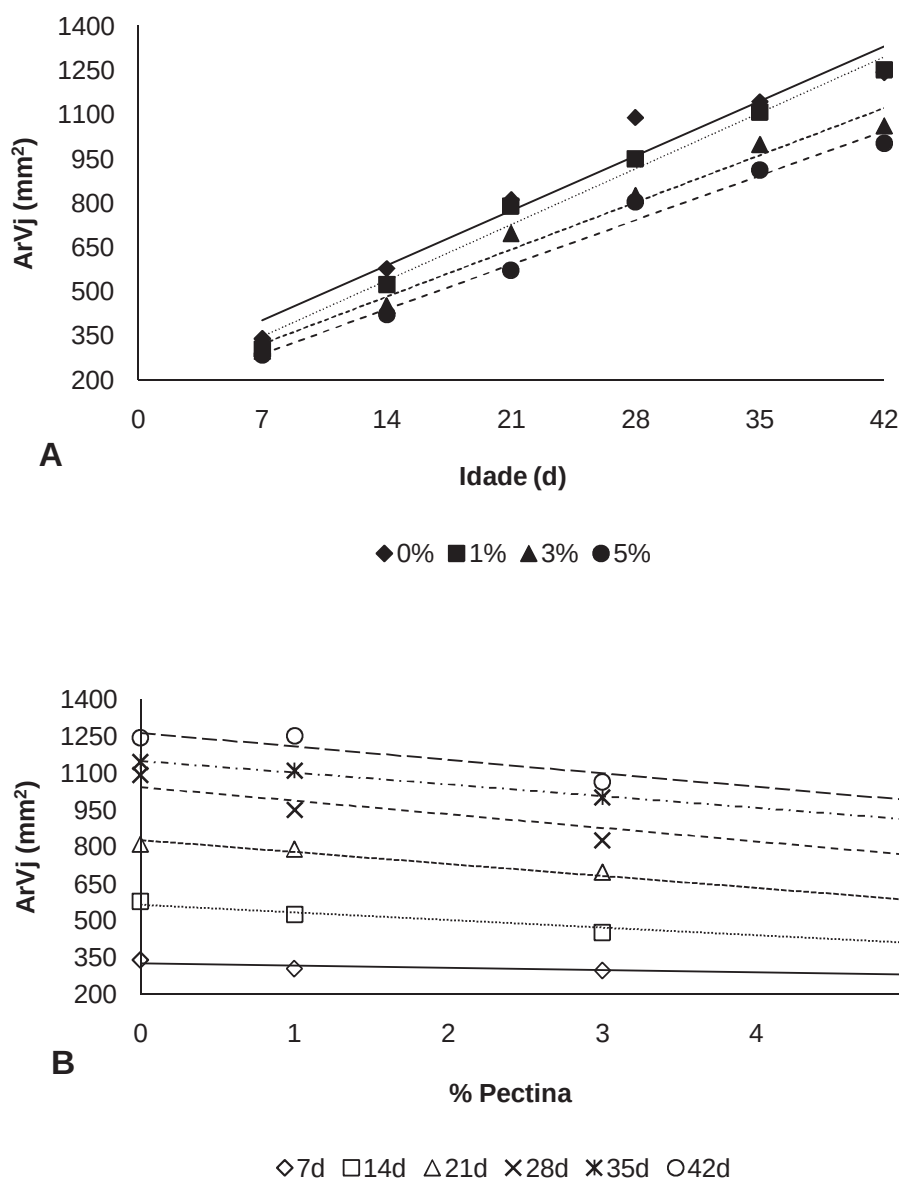


Figura 10 - Regressão para: (A) Área do vilô do jejuno (ArVj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 26,538x + 217,41$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = 27,12x + 157,29$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 22,851x + 162,71$, $R^2 = 0,98$; $y(5\%) = 21,613x + 136,92$, $R^2 = 0,98$] e (B) ArVj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -9,2678x + 327,65$, $R^2 = 0,79$; $y(14d) = -30,912x + 563,4$, $R^2 = 0,95$; $y(21d) = -48,663x + 826,97$, $R^2 = 0,98$; $y(28d) = -55,008x + 1041,6$, $R^2 = 0,85$; $y(35d) = -47,354x + 1147,7$, $R^2 = 1,0$; $y(42d) = -54,72x + 1263,4$, $R^2 = 0,92$].

Tabela 10 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre a altura (AVi), largura (LVi), perímetro (PVi), área (ArVi) e densidade (DVi) de vilos do íleo de frangos de corte.

Pectina (P)¹	AVi (µm)	LVi (µm)	PVi (µm)	ArVi (µm²)	DVi (n°vilo/mm²)
0	762	102	1479	513	50
1	760	101	1397	519	53
3	678	98	1245	455	55
5	537	96	1099	372	56
Idade (I)²					
7	441	63	997	174	84
14	594	93	1126	348	63
21	711	112	1522	500	41
28	812	114	1566	581	39
35	936	117	1816	687	37
42	1065	120	2003	800	36
P	0,0002	<0,0001	<0,0001	0,0033	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	0,0263	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0967
CV (%)¹	3,47	1,60	3,64	3,65	14,54
CV (%)²	12,30	8,05	16,26	10,17	22,87

Tabela 11 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para altura (AVi), largura (LVi), perímetro (PVi) e área (ArVi) do íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
AVi (µm)						
7	545	515	447	422	0,0381	0,9778
14	700	597	533	446	0,0259	0,3347
21	730	668	650	565	0,0031	0,0672
28	913	890	725	711	0,0061	0,4474
35	1003	954	843	804	0,0014	0,6320
42	1077	1060	974	947	0,0003	0,7471
L	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,8975	0,3567	0,3999	0,1962		
LVi (µm)						
7	65	63	60	59	0,0405	0,8042
14	83	80	77	72	0,0175	0,3504
21	111	103	94	88	0,0477	0,0542
28	115	110	105	94	0,0235	0,4329
35	118	113	109	106	0,0090	0,7447
42	120	118	109	107	0,0042	0,9624
L	0,0120	0,0297	0,0373	0,0251		
Q	0,2870	0,4150	0,4290	0,2582		
PVi (µm)						
7	1028	1013	962	916	0,0348	0,4585
14	1194	1110	1047	1003	0,0202	0,3327
21	1396	1340	1128	1066	0,0013	0,3280
28	1578	1522	1420	1345	0,0077	0,7526
35	1825	1821	1648	1574	0,0232	0,3386
42	2015	1971	1864	1752	0,0001	0,5969
L	<0,0001	0,0009	0,0015	0,0054		
Q	0,5822	0,8484	0,6717	0,5652		
ArVi (µm²)						
7	183	173	158	145	0,0207	0,9063
14	313	375	246	202	0,0143	0,0809
21	489	414	360	312	0,0336	0,0894
28	584	536	474	432	0,0194	0,2264
35	697	603	578	534	0,0291	0,8690
42	812	787	667	624	0,0212	0,2401
L	<0,0001	0,0002	0,0006	<0,0001		
O	0,1309	0,1107	0,1460	0,1344		

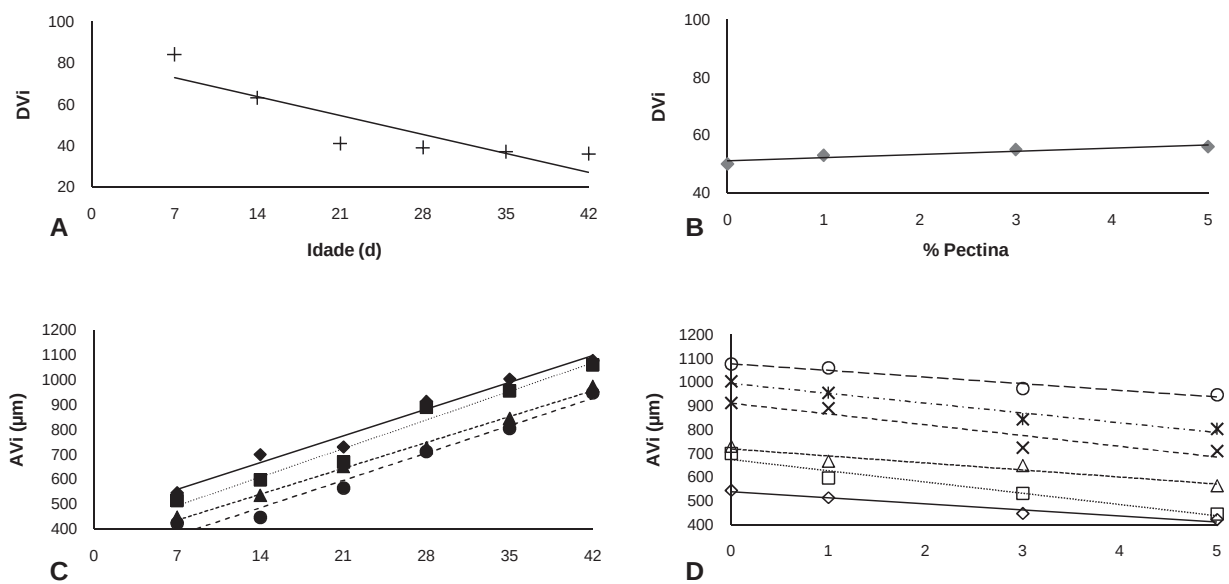


Figura 11 - Regressão para: (A) Densidade de vilos do íleo (Dvi) em função da idade de frangos de corte ($y = -1,3049x + 81,62$, $R^2 = 0,77$), (B) Dvi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte ($y = 1,2305x + 50,581$, $R^2 = 0,92$), (C) Altura do vilos do íleo (AVi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 15,317x + 452,77$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 16,414x + 378,33$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = 14,839x + 331,77$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = 15,697x + 264,55$, $R^2 = 0,98$] e (D) AVi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -25,305x + 539,29$, $R^2 = 0,96$; $y(14d) = -47,119x + 674,92$, $R^2 = 0,95$; $y(21d) = -29,58x + 719,55$, $R^2 = 0,93$; $y(28d) = -45,315x + 911,56$, $R^2 = 0,89$; $y(35d) = -41,068x + 993,55$, $R^2 = 0,96$; $y(42d) = -28,064x + 1077,6$, $R^2 = 0,95$].

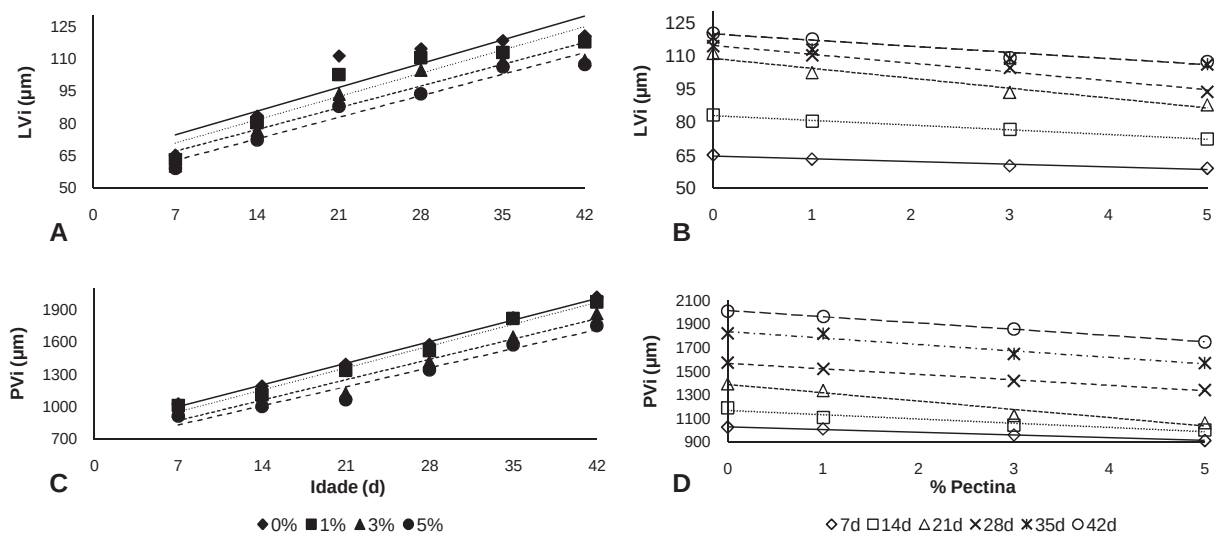


Figura 12 - Regressão para: (A) Largura do vilo do íleo (LVi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 1,5706x + 63,653$, $R^2 = 0,83$; $y(1\%) = 1,5441x + 60,02$, $R^2 = 0,89$; $y(3\%) = 1,4404x + 56,893$, $R^2 = 0,90$; $y(5\%) = 1,5706x + 63,653$, $R^2 = 0,83$], (B) LVi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -1,2068x + 64,615$, $R^2 = 0,95$; $y(14d) = -2,1407x + 82,992$, $R^2 = 1,0$; $y(21d) = -4,5068x + 108,92$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -4,0254x + 114,83$, $R^2 = 0,98$; $y(35d) = -2,2814x + 116,68$, $R^2 = 0,92$; $y(42d) = -2,7678x + 119,95$, $R^2 = 0,94$], (C) Perímetro do vilo do íleo (PVi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 28,624x + 804,65$, $R^2 = 1,0$; $y(1\%) = 28,976x + 752,81$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = 26,965x + 684,3$, $R^2 = 0,96$; $y(5\%) = 25,186x + 659,07$, $R^2 = 0,96$] e (D) PVi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -22,832x + 1031,2$, $R^2 = 1,0$; $y(14d) = -35,895x + 1169,3$, $R^2 = 0,93$; $y(21d) = -70,422x + 1391$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -46,851x + 1571,6$, $R^2 = 0,99$; $y(35d) = -55,358x + 1841,5$, $R^2 = 0,95$; $y(42d) = -52,873x + 2019,5$, $R^2 = 1,0$].

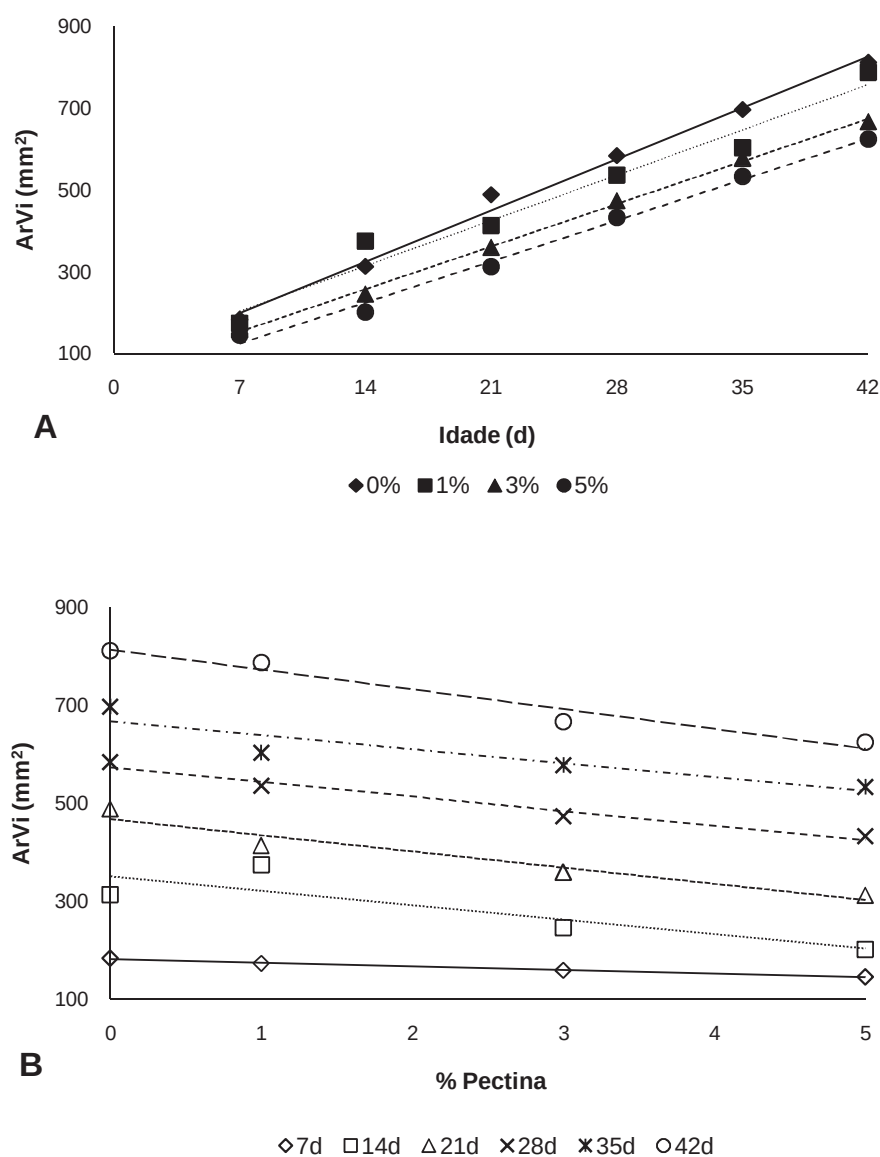


Figura 13 - Regressão para: (A) Área do vilo do íleo (ArVi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 17,914x + 74,027$, $R^2 = 0,99$; $y(1\%) = 15,837x + 93,233$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = 14,908x + 48,333$, $R^2 = 1,0$; $y(5\%) = 14,337x + 23,6$, $R^2 = 0,99$] e (B) ArVi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -7,5153x + 181,76$, $R^2 = 0,99$; $y(14d) = -29,434x + 349,98$, $R^2 = 0,74$; $y(21d) = -70,422x + 1391$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -29,79x + 573,53$, $R^2 = 0,97$; $y(35d) = -28,527x + 666,96$, $R^2 = 0,85$; $y(42d) = -40,266x + 813,12$, $R^2 = 0,96$].

3. Número total de vilos e área total de superfície

Os resultados para o número total de vilos (NTV) e área total de superfície luminal (ATS) de cada um dos três segmentos intestinais estão presentes na Tabela 12. Houve interação significativa ($p < 0,05$) entre pectina e as idades para ambas variáveis, sendo os desdobramentos e suas interações apresentados na Tabela 13. Em cada um dos segmentos intestinais, ambos os parâmetros aumentaram linearmente até os 42 dias de idade, independente da porcentagem de pectina adicionada na dieta (Figuras 14A,C, 15A,C e 16A,C). Além disso, em todas as idades analisadas, o NTV e ATS do duodeno, jejuno e íleo aumentaram com o aumento da inclusão da fibra na ração (Figuras 14B,D, 15B,D e 16B,D).

Tabela 12 – Efeitos da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre o número total de vilos (NTVd) e área total da superfície luminal (ATS) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte.

Pectina (P)¹	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	NTVd	ATSd (mm²)	NTVj	ATSj (mm²)	NTVi	ATSi (mm²)
0	119303	152179	472701	415839	91062	49275
1	132946	147016	523758	474748	102143	55352
3	143403	134812	605324	563311	123536	68920
5	150627	126101	656445	629783	145526	76995
Idade (I)²						
7	119796	65021	509108	183941	92247	19430
14	119664	81686	539465	332274	107004	42767
21	126673	112483	549185	407929	114261	55260
28	133689	139026	571484	593482	120226	72375
35	154433	199249	625846	724874	129488	92143
42	165164	242429	675470	952863	130173	103937
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV (%)¹	3,27	3,89	0,52	3,66	2,14	4,86
CV (%)²	17,67	20,98	29,42	19,59	36,11	20,82

Tabela 13 - Desdobramentos da interação entre pectina na ração e idade para o número total de vilos (NTVd) e área total de superfície luminal (ATSd) do duodeno, jejuno (NTVj) e (ATSj) e íleo (NTVi) e (ATSi) de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
NTVd						
7	90524	110100	126040	152520	0,0067	0,8142
14	94826	116088	132004	135737	0,0085	0,2240
21	113146	120483	135079	137985	0,0166	0,3913
28	119511	131523	139848	143874	0,0054	0,4949
35	139117	156184	159995	162437	0,0090	0,3916
42	158696	163300	167450	171209	0,0134	0,3754
L	0,0083	0,0098	0,0165	0,0323		
Q	0,3928	0,1005	0,4398	0,5658		
ATSd (mm²)						
7	61037	61186	66893	67969	0,0356	0,6651
14	74871	81073	84395	84998	0,0232	0,5066
21	109008	112116	115664	117465	0,0201	0,2890
28	116538	138449	155197	166999	0,0099	0,1819
35	175432	187984	224905	228675	0,0023	0,0749
42	215723	226057	265022	269913	0,0100	0,1943
L	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,3750	0,2490	0,7798	0,4536		
NTVj						
7	405411	486640	546059	605777	0,0248	0,4352
14	437453	498195	573183	622447	0,0146	0,1455
21	462214	516630	601685	671063	0,0035	0,1153
28	465097	554454	639576	743658	0,0080	0,6252
35	468476	587592	716384	807106	0,0174	0,2212
42	591075	758057	855056	897695	0,0406	0,2790
L	0,0255	0,0201	0,0052	0,0005		
Q	0,3176	0,0815	0,1680	0,9008		
ATSj (mm²)						
7	175106	188365	220248	230058	0,0247	0,0736
14	268488	269737	428722	462149	0,0469	0,2921
21	348962	347910	514692	520151	0,0413	0,7658
28	498823	483758	727191	745854	0,0491	0,6724
35	550261	665371	884452	905884	0,0455	0,7525
42	623920	816895	906338	1047583	0,0376	0,1805
L	<0,0001	0,0003	0,0004	<0,0001		
Q	0,4094	0,1502	0,2412	0,9812		

Continuação da Tabela 13.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
NTVi						
7	73005	85772	98435	111780	0,0093	0,4790
14	90950	93544	121319	130758	0,0262	0,7593
21	89622	97613	114094	136101	0,0031	0,1693
28	89810	108677	125933	155245	0,0076	0,9455
35	98816	108272	139141	167551	0,0019	0,6287
42	104171	118983	142296	171725	0,0012	0,6651
L	0,0129	0,0005	0,0063	0,0003		
Q	0,7037	0,9140	0,8194	0,3209		
ATSi (mm ²)						
7	15322	18001	22361	22435	0,0438	0,5958
14	31788	43060	49372	56847	0,0311	0,1250
21	45456	50137	62522	62925	0,0437	0,4948
28	54502	59312	77190	94425	0,0031	0,2959
35	71299	86159	97839	117872	0,0105	0,5005
42	71368	91004	95376	122218	0,0430	0,9216
L	0,0005	0,0006	0,0013	0,0006		
Q	0,1116	0,7501	0,0876	0,3731		

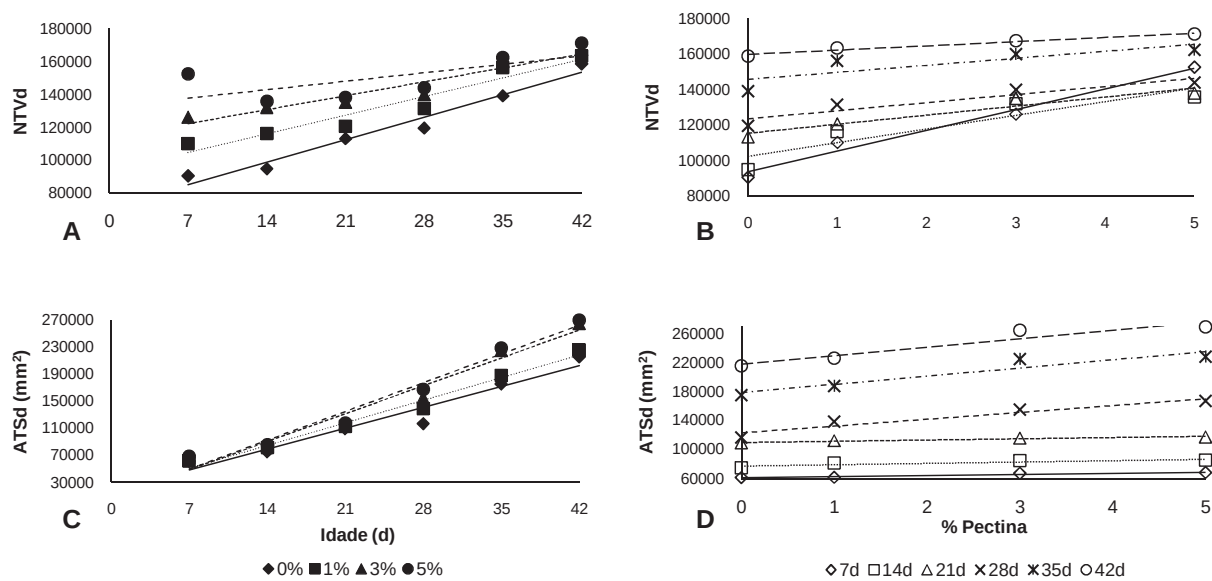


Figura 14 - Regressão para: (A) Número total de vilos do duodeno (NTVd) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 1959,6x + 71294$, $R^2 = 0,97$; $y(1\%) = 1621,7x + 93214$, $R^2 = 0,93$; $y(3\%) = 1207,3x + 113823$, $R^2 = 0,91$; $y(5\%) = 732,38x + 132684$, $R^2 = 0,46$] e (B) NTVd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 11705x + 93459$, $R^2 = 0,98$; $y(14d) = 7716x + 102303$, $R^2 = 0,84$; $y(21d) = 5124,5x + 115143$, $R^2 = 0,92$; $y(28d) = 4558,4x + 123433$, $R^2 = 0,88$; $y(35d) = 3963x + 145516$, $R^2 = 0,70$; $y(42d) = 2387,9x + 159791$, $R^2 = 0,97$], (C) Área total da superfície do duodeno (ATSD) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 5904,9x + 7508,5$, $R^2 = 0,96$; $y(1\%) = 5679,2x + 7874,9$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 4740,4x + 18673$, $R^2 = 0,98$; $y(5\%) = 4353,6x + 19437$, $R^2 = 0,94$] e (D) ATSD em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -981,64x + 67230$, $R^2 = 0,86$; $y(14d) = -1571,2x + 85221$, $R^2 = 0,95$; $y(21d) = -1208x + 115201$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -7364,5x + 155866$, $R^2 = 0,96$; $y(35d) = -9725,7x + 221132$, $R^2 = 0,97$; $y(42d) = -10994x + 267165$, $R^2 = 0,93$].

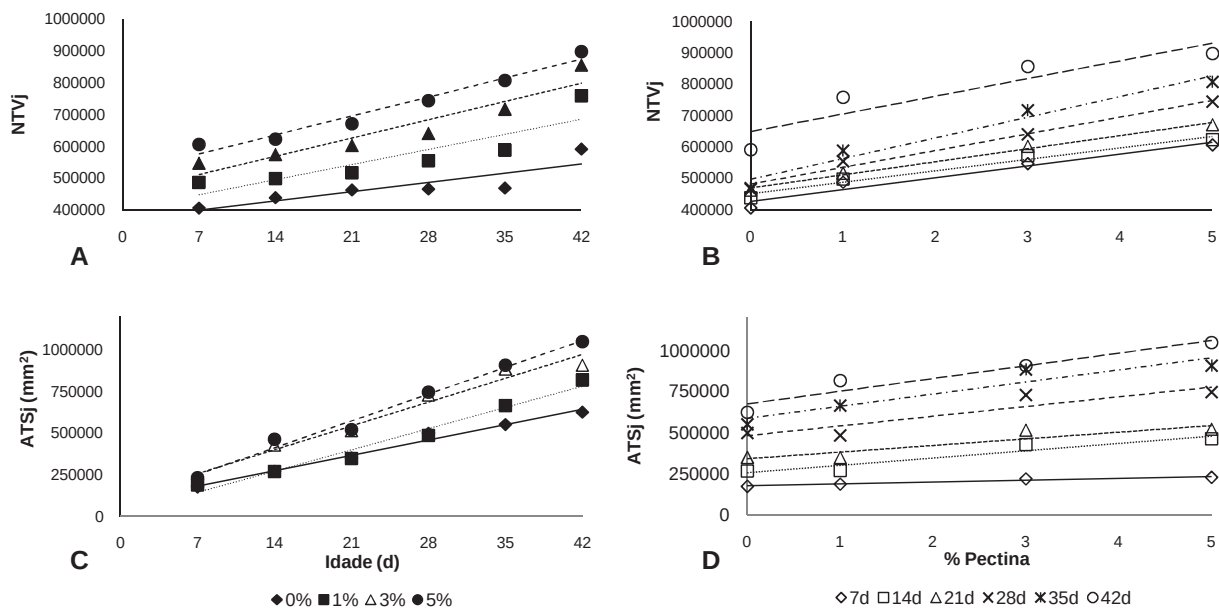


Figura 15 - Regressão para (A) Número total de vilos do jejuno (NTVj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 4180,7x + 369194$, $R^2 = 0,75$; $y(1\%) = 6788,2x + 400618$, $R^2 = 0,7776$; $y(3\%) = 8214,2x + 454076$, $R^2 = 0,8842$; $y(5\%) = 8514,9x + 516008$, $R^2 = 0,96$] e (B) NTVj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 37624x + 426317$, $R^2 = 0,95$; $y(14d) = 36244x + 451270$, $R^2 = 0,97$; $y(21d) = 41418x + 469707$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = 53234x + 480919$, $R^2 = 0,98$; $y(35d) = 65645x + 497188$, $R^2 = 0,97$; $y(42d) = 56438x + 648485$, $R^2 = 0,85$], (C) ATSj em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 13221x + 87002$, $R^2 = 0,98$; $y(1\%) = 18226x + 15466$, $R^2 = 0,9734$; $y(3\%) = 20450x + 112593$, $R^2 = 0,97$; $y(5\%) = 23039x + 87493$, $R^2 = 0,99$] e (D) ATSj em em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 11417x + 177756$, $R^2 = 0,95$; $y(14d) = 44148x + 257941$, $R^2 = 0,91$; $y(21d) = 40433x + 341955$, $R^2 = 0,84$; $y(28d) = 58945x + 481280$, $R^2 = 0,82$; $y(35d) = 73540x + 586026$, $R^2 = 0,89$; $y(42d) = 76994x + 675447$, $R^2 = 0,93$].

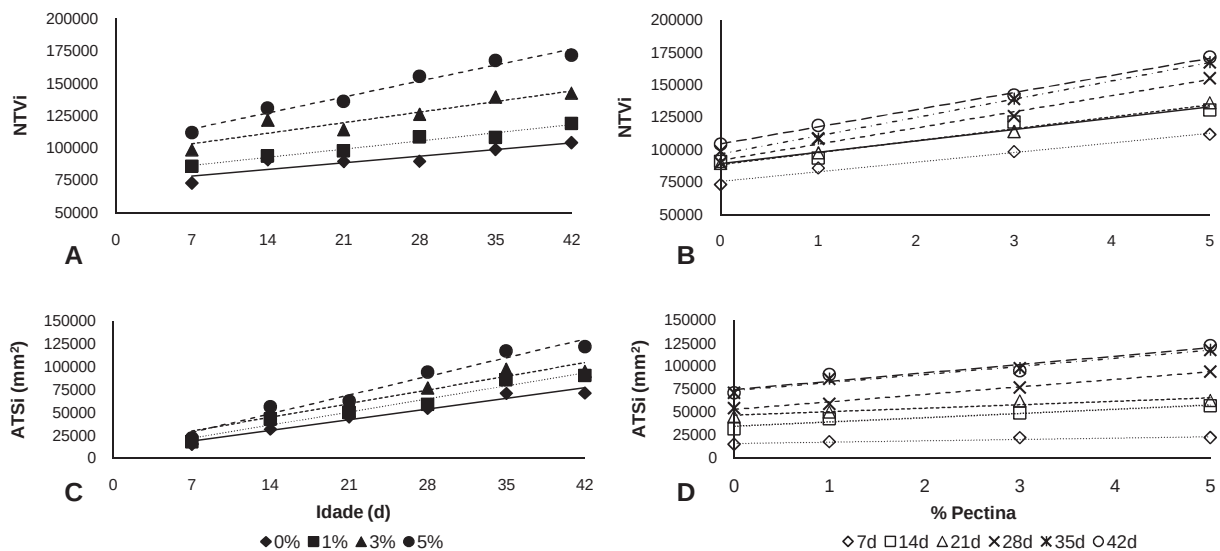


Figura 16 - Número total de vilos do íleo (NTVi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 733,13x + 73101$, $R^2 = 0,82$; $y(1\%) = 903,28x + 80013$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 1161,7x + 95075$, $R^2 = 0,87$; $y(5\%) = 25\ 1752x + 102602$, $R^2 = 0,97$], (B) NTVi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 7440,3x + 75507$, $R^2 = 0,98$; $y(14d) = 8746,2x + 89464$, $R^2 = 0,95$; $y(21d) = 9232,7x + 88584$, $R^2 = 0,99$; $y(28d) = 12438x + 91932$, $R^2 = 0,98$; $y(35d) = 14064x + 96801$, $R^2 = 1,0$; $y(42d) = 13278x + 104418$, $R^2 = 1,0$], (C) Área total da superfície luminal do íleo (ATSi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = 1664,5x + 7508,3$, $R^2 = 0,96$; $y(1\%) = 2055x + 7596,8$, $R^2 = 0,96$; $y(3\%) = 2143,4x + 14929$, $R^2 = 0,94$; $y(5\%) = 2912,2x + 8104,7$, $R^2 = 0,96$] e (D) ATSi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = 1457x + 16251$, $R^2 = 0,86$; $y(14d) = 4610,9x + 34892$, $R^2 = 0,93$; $y(21d) = -3728x + 46872$, $R^2 = 0,88$; $y(28d) = 8189,3x + 52931$, $R^2 = 0,99$; $y(35d) = 8773,3x + 73552$, $R^2 = 0,93$; $y(42d) = 9037,2x + 74658$, $R^2 = 0,92$].

DISCUSSÃO

Até os 42 dias de idade, os frangos ainda estão em fase crescimento e ganho de peso, o que requer maior absorção de nutrientes e, portanto, aumento da área superficial do intestino delgado. No caso das aves, isso é conseguido com aumento no tamanho dos segmentos intestinais, presença de vilos e de microvilos (HILDEBRAND, 1995). Os dados do presente estudo mostram que, com e sem ingestão de pectina, o comprimento e o perímetro do duodeno, jejuno e íleo, bem como o tamanho e número de seus vilos aumentaram até os 42 dias de idade. Isso resultou em aumento da superfície luminal desses três segmentos intestinais, possibilitando o crescimento das aves. Esses dados indicam que os níveis de fibra utilizados não inibiram o desenvolvimento ontogenético do intestino delgado dos frangos.

No presente trabalho, a ingestão de pectina não influenciou o comprimento total do intestino delgado, todavia ela afetou o comprimento do íleo, que foi menor quanto maior foi o nível da fibra, sugerindo que as aves que ingeriram pectina teriam uma menor área ílfaca. Entretanto, isso não ocorreu, pois a partir do 14º dia, o perímetro do íleo aumentou acentuadamente com o aumento na ingestão da fibra, o que resultou em aumento e não em redução do tamanho ($CI \times PI$) desse segmento intestinal. O aumento na ingestão de pectina também aumentou o perímetro do duodeno e do jejuno dos frangos. As fibras solúveis, em especial a pectina, retardam o esvaziamento gástrico por possuírem facilidade de se incorporar à água e formar géis (SMITS e ANNISON, 1996; FIETZ e SALGADO, 1999; GUTKOSHI e TROMBETA, 1999), o que aumenta o volume do bolo alimentar e estimula o crescimento do órgão (FARNESS e SCHNEEMAN, 1982; JIMÉNEZ-MORENO et al., 2009, 2010), devendo responder pelo crescimento em diâmetro ou perímetro dos segmentos intestinais. Ausência de efeito da ingestão de fibras sobre o comprimento do intestino delgado também foi verificado em suínos por Pascoal (2009). Contrariamente, contudo, Jiménez-Moreno et al. (2009, 2010) e Farness e Schneeman (1982) registraram aumento no comprimento total do intestino de frangos e de ratos alimentados com dieta contendo diferentes fontes fibrosas.

O aumento na ingestão de pectina provocou redução na altura e no perímetro dos vilos dos três segmentos intestinais, bem como na largura dos vilos jejunais e ileais, desde os 7 dias de idade. Isso resultou concomitantemente na diminuição do tamanho e no aumento da densidade de vilos (o que deu origem inicialmente à questão do que seria melhor: maior densidade de vilos menores ou menor densidade de vilos maiores). A pectina possui propriedade de geleificação que dificulta a ação hidrolítica das enzimas sobre os nutrientes retidos no interior do gel (PHILIP et al. 1995; CLASSEN, 1996), interferindo na digestão e absorção dos alimentos, reduzindo a disponibilidade de nutrientes e energia para as aves (FERREIRA, 1994). Além disso, a formação de gel aumenta o tamanho do bolo alimentar, retardando o esvaziamento gástrico, o que gera a sensação de saciedade (SMITS e ANNISON, 1996), reduzindo o consumo de ração (HEDEMAN et al., 2006; SILVA, 2010). Assim, a redução no tamanho e conseqüente aumento na densidade dos vilos registrada com o aumento da ingestão de pectina pelos frangos (nossos resultados) pode ter sido resultante também da menor disponibilidade de nutrientes e menor ingestão de ração.

De acordo com nossos dados, o aumento na densidade dos vilos ocorrido com o aumento da ingestão de pectina ocasionou aumento da superfície luminal dos segmentos intestinais. Aos 42 dias de idade, o aumento da densidade dos vilos aumentou a superfície luminal do duodeno das aves que ingeriram 3 e 5% de pectina em cerca 32 vezes, enquanto que nas aves que receberam 0 e 1% da fibra esse aumento foi em torno de 27 vezes. No jejuno, o aumento da superfície luminal nas aves que receberam 0, 1, 3 e 5% de pectina foi de aproximadamente 20, 24, 25 e 29 vezes, respectivamente, enquanto que no íleo o aumento foi de 19, 24, 24 e 29 vezes, respectivamente. Os vilos, bem como o enrolamento e as dobras intestinais e os microvilos, aumentam a área de digestão e absorção (HILDEBRAND, 1995). Nesse contexto, o aumento da superfície luminal do intestino delgado registrado no presente trabalho para os frangos que ingeriram pectina, teoricamente possibilitaria melhor desempenho dessas aves. Entretanto, segundo Silva (2010), frangos que receberam ração contendo as mesmas porcentagens de pectina utilizadas no presente estudo chegam à idade de abate

com peso corporal inferior ao daqueles que não receberam a fibra. Dessa forma, nossos dados mostram que o aumento na superfície luminal do intestino delgado proporcionado pelo aumento do número total de vilos não resultou em melhor desempenho dos frangos.

CONCLUSÕES

Conclui-se que a ingestão de pectina diminuiu o tamanho e aumenta a densidade dos vilos, resultando em aumento da superfície luminal do duodeno, jejuno e íleo.

REFERÊNCIAS

BARANYIOVA, E. Influence of deuteotomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching. **Acta Veterinary Brunensis**, v.41, p.373-84, 1972.

BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinary Brunensis**, v.45, p.151-58, 1976.

BOLELI, I.C; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 75-95.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F. et al. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574-84, 1988.

CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science Tchnology**, n.62, p.21-27, 1996.

CHAMBERS, C.; GREY, R. D. Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine. **Cell Tissue Research**, v.204, p.387-405, 1979.

FARNESS, P.L.; SCHNEEMAN, B.O. Effects of dietary cellulose, pectin and oat bran on the small intestine in the rat. **The Journal of Nutrition**, v.112, p.1315-19, 1982.

FERREIRA, W.M. Componentes da parede celular na nutrição de monogástricos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE NÃO-RUMINANTES, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá, 0.85-113, 1994.

FIETZ, V.R.; SALGADO, M.S. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.19, n.3, p. 3218-21, 1999.

GUTKOSKI, L.C.; TROMBETA, C.; Avaliação dos teores de fibra alimentar e de betaglicanas em Cultivares de Aveia. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v.19, n.3, 1999.

HEDEMANN, M.S.; ESKILDSEN, M.; LAERKE, H.N.; PEDERSEN, C.; LINDBERG, J.; LAURINEN, P.; BACH KNUDSEN, K.E. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2270-78, 1994.

HILDEBRAND, M. Análise da estrutura dos vertebrados. São Paulo: Atheneu, p. 221-39, 1995.

IMONDI, A.R.; BIRD, F.H. The turnover of intestinal epithelium in the chick. **Poultry Science**, v.45, n.1, p.142-46, 1966.

JIMÉNEZ-MORENO, E.; GONZÁLEZ-ALVARADO, J.M.; LÁZARO, R.; MATEOS, G.G. Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and fiber inclusion in the diet on gizzard pH and nutrient utilization in broilers at different ages. **Poultry Science**, v. 88, p. 1925-33, 2009.

JIMÉNEZ-MORENO, E.; GONZÁLEZ-ALVARADO, J.M.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, D.; et al. Effects of type and particle size of dietary fiber on growth performance and digestive traits of broilers from 1 to 21 days of age. **Poultry Science**, v. 89, n.10, p. 2197-212, 2010.

JIN, L.; REINOLDS, L.P.; REDNER, D.A. et al. Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation and morphology in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2270-2278, 1994.

KLASSING, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.1119-25, 1998.

MAIORKA, A.; MACARI, M. ; FURLAN, R.L. ; GONZALES, E. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 113-23.

McDONALD, D.E. **Dietary fibre for the newly weaned pigs: influences on pig performance, intestinal development and expression of experimental post-weaning colibacillosis and intestinal spirochaetosis**. PhD Thesis, Murdoch University, Murdoch, 2001.

MOORE,R.J.; KORNEGAY, E.T.; GRAYSON, R.L.; LINDERMAN, M.D. Growth, nutrient utilization and intestinal morphology of pigs feed high-fiber diets. **Journal Animal of Science**, v.66, n.6, p.1570-79, 1988.

NYACHOTI, C.M.; DE LANGE, C.F.M.; McBRIDE, B.W. et al. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v.77, p.149-163, 1997.

OVERTON, J; SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **Journal of Cell Biology**, v.21, p.75-82, 1964.

PASCOAL, L.A.F. **Fontes de fibra para leitões recém-desmamados**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2009.

PHILIP, J.S.; GILBERT, H.J.; SMITHARD, R.R. Growth, viscosity and beta-glucanase activity of intestinal fluid in broiler chickens feed on barley-based diets with or without exogenous beta-glucanase. **British Poultry Science**, v.36, p.599-605, 1995.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005.p.189.

SAS Institute, SAS (Statistical Analysis System). Users guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.

SMITS, C.H.N.; ANNISON, G. Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. **World's Poultry Science Journal**, London, v.52, n.2, p.203-11, 1996.

SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; GASKINS, H.R.; VERSTEGEN, M.W.A. Small intestinal epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. **Journal of Nutrition**., Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1520-1527, 2001.

SILVA, V.K. **Pectina na ração de frangos de corte: digestibilidade, parâmetros zootécnicos e metabolismo lipídico**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2010.

TUCCI, F. M. **Estudo da adição de virginamicina e beta-glucanase exógena às rações de leitões e seus efeitos sobre o desempenho e morfologia intestinal**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 1999.

VAN BEERS-SCHREURS, H.M.G.; NABUURS, M.J.A.; VELLENGA, L.; KALSBECK-VAN DER VALK, H.J.; WENSING T.; BREUKINK, H.J. Weaning and the weanling diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. **Journal of Nutrition**, v.128, p.947–53, 1998.

VENTE-SPREEUWENBERG, M.A.M.; VERDONK, J.M.A.J.; VERSTEGEN, M.W.A.; BEYNEN, A.C. Villus height and gut development in weaned piglets receiving diets containing either glucose, lactose or starch. **British Journal of Nutrition**, London, v.90, n.5, p. 907-913, 2003.

YAMAUCHI, K.Y.; ISSHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, v.32, p.67-78, 1991.

YU, B.; CHIOU, W.S. The morphological changes of intestinal mucosa in growing rabbits. **Laboratory Animals**. v. 31, p. 254-63, 1997.

CAPÍTULO 4 – RELAÇÃO ENTRE PORCENTAGEM DE PECTINA NA DIETA E RENOVAÇÃO CELULAR E INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE (*Gallus domesticus*)

RESUMO: O presente trabalho analisou o efeito da inclusão de diferentes porcentagens de pectina na dieta sobre o turnover celular e integridade da mucosa do intestino delgado de frangos de corte. Foram utilizados 600 pintos machos Cobb®, com um dia de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 6, sendo quatro níveis de pectina na ração (0, 1, 3 e 5%) e seis idades de avaliação (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com cinco repetições por tratamento. Aves que ingeriram dieta com e sem pectina apresentaram redução linear da profundidade de cripta do duodeno, jejuno e íleo até os 42 dias de idade. Entretanto, a ingestão da fibra não influenciou esse parâmetro em nenhum segmento intestinal. O índice mitótico na cripta dos três segmentos intestinais, aos 42 dias de idade, foi menor quanto maior a inclusão de pectina na dieta. No duodeno, independente da porcentagem da fibra na ração, a maioria dos vilos da mucosa intestinal dos frangos apresentaram perda de epitélio ao longo de todo o período experimental. No jejuno, isso ocorreu somente nas aves que receberam 3 e 5% de pectina, e no íleo, foi verificado a partir dos 21 dias para as aves que consumiram ração contendo 5% da fibra e a partir dos 35 dias de idade para as que receberam 3%. Adicionalmente, em ambos os segmentos intestinais, a porcentagem de vilos normais diminuiu linearmente com o aumento da porcentagem de inclusão da fibra na dieta e ao longo da idade. No duodeno, jejuno e íleo ocorreu aumento na porcentagem de vilos com apoptose à medida que se aumentou a porcentagem de pectina na ração. Além disso, foi verificada diminuição na porcentagem de vilos duodenais com apoptose nas células epiteliais com a ingestão de pectina e um aumento concomitante na porcentagem de vilos com apoptose no conjuntivo e no epitélio+conjunto. No jejuno e no íleo, a ingestão de pectina aumentou as porcentagens de vilos com apoptose no tecido epitelial, no conjuntivo e em ambos. Conclui-se que a ingestão de pectina diminui

a renovação celular e a integridade da mucosa do intestino delgado de frangos de corte, comprometendo a saúde intestinal dos mesmos.

Palavras- chaves: apoptose, fibra solúvel, intestino delgado, mitose.

CHAPTER 4 - THE RELATIONSHIP BETWEEN PERCENTAGE OF DIETARY PECTIN AND CELLULAR RENEWAL AND INTEGRITY OF INTESTINAL MUCOSA IN BROILER (*Gallus domesticus*)

ABSTRACT: This study examined the effect of inclusion of different percentages of dietary pectin on cell renewal and integrity of the small intestinal mucosa of broilers. It was used 600 male chicks from Cobb ®, with one day of age in a randomized design in a factorial 4 x 6, four levels of pectin in the diet (0, 1, 3 and 5%) and six age assessment (7 , 14, 21, 28, 35 and 42 days) with five replicates per treatment. Birds that ate a diet with and without pectin showed a linear reduction in crypt depth from duodenum, jejunum and ileum at 42 days old. However, fiber intake did not influence this parameter in any intestinal segment. The mitotic index in the crypt of the three intestinal segments, at 42 days of age, was lower the higher the inclusion of pectin in the diet. In the duodenum, regardless of the percentage of fiber in the diet, the majority of villous intestinal epithelium showed loss of chickens throughout the experimental period. In the jejunum, this occurred only in birds that received 3 and 5% pectin, and ileum, was verified from 21 days for birds fed diet containing 5% of the fiber and after 35 days of age for receiving 3%. Additionally, in both intestinal segments, the percentage of normal villi decreased linearly with increasing percentage of inclusion of dietary fiber and across the ages. In the duodenum, jejunum and ileum, there was increased percentage of villi with apoptosis as it increased the percentage of pectin in the diet. Moreover, there was a decrease in the percentage of apoptosis with duodenal villous epithelial cells with intake of pectin and a concomitant increase in the percentage of villi with apoptosis in the epithelium and connective + set. In the jejunum and ileum, the intake of pectin increased the percentages of villi with apoptosis in epithelial tissue and connective tissue in both. It is concluded that ingestion of pectin decreases cell turnover and integrity of the mucosa of the small intestine of broilers, impairing its intestinal health.

Keywords: apoptosis, mitosis, small intestine, soluble fiber.

INTRODUÇÃO

A superfície interna do intestino delgado apresenta grande número de vilos, o que proporciona aumento na área superficial interna do órgão. Os vilos são revestidos por epitélio simples e especializado nas funções de digestão final e absorção dos nutrientes, realizadas pelos enterócitos (MONTEIRO et al., 2009). Além dessas células, o epitélio intestinal também possui células caliciformes, produtoras da camada de muco que o protege dos efeitos químicos e abrasivos da digesta e serve de barreira seletiva para os nutrientes que chegam à superfície luminal dos enterócitos e de sítio de ligação para a microbiota (BOLELI et al., 2002), e células enteroendócrinas, que regulam a formação, diferenciação e atividade das células epiteliais (MACARI et al., 2002).

O epitélio intestinal está em constante renovação, frente ao envelhecimento ou esgotamento funcional de suas células e à deterioração das mesmas pelo atrito causado pela passagem da digesta e pela ação de agentes químicos relacionados com os processos de digestão da mesma (pH, enzimas, etc.) (CHENG e LEBLOND, 1974; UNI et al., 1996). Essa renovação epitelial é possível pela presença de células indiferenciadas nas glândulas de Lieberkühn ou criptas, as quais sofrem mitoses, cujas células filhas se diferenciam ao longo da porção basal dos vilos nos tipos celulares que o constituem. As novas células empurram as mais velhas, que ao chegar à extremidade apical dos vilos, entram em morte celular e sofrem extrusão (MACARI et al., 2002)

A renovação celular consiste de um evento geneticamente programado, processo conhecido como apoptose celular, cujo papel é oposto ao da mitose no controle da proliferação celular (GERSCHENSON e ROTELLO, 1992). Ele pode ser induzido, reduzido ou bloqueado, caracterizando a grande plasticidade de resposta do epitélio luminal intestinal à presença e qualidade da dieta, a qual pode modelar a renovação celular, e, conseqüentemente, o tamanho dos vilos. Teoricamente, aumento na taxa de mitoses, com concomitante ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá promover aumento no número de células e, conseqüentemente, aumento no tamanho dos vilos. Por outro lado, se o estímulo levar ao aumento na taxa de extrusão celular, havendo

diminuição da taxa de proliferação celular, o intestino deverá responder com redução no tamanho dos vilos. (MAIORKA et al., 2002, PIRES, 2007). A mucosa intestinal também responde às lesões epiteliais com indução de mitoses, promovendo o reparo da mucosa (MAIORKA et al., 2002). A renovação celular atua como resposta fisiológica, permitindo a remoção de células ou tecidos alterados, exercendo, assim, papel importante na manutenção da estrutura do órgão e/ou tecidos, impedindo que suas funções sejam alteradas por fatores exógenos (GERSCHENSON e ROTELLO, 1992; HOCKENBERY, 1995; MAJNO e JORIS, 1995). Entretanto, taxa maior de extrusão que de formação de células pode deixar os vilos com o tecido conjuntivo exposto, reduzindo as áreas de digestão e absorção, bem como expondo o animal à ação de patógenos que possam ser ingeridos, podendo, portanto, comprometer a saúde aviária e, conseqüentemente, seu desempenho (GOMIDE et al., 2004).

Segundo Goddeeris (2002), de 23 a 36% da energia e de 23 a 38% da proteína absorvidas pelos frangos de corte são utilizados na manutenção do sistema digestório. Dessa forma, aumento na taxa de renovação celular e perda anormal de epitélio podem gerar maior gasto energético e de moléculas estruturais para a manutenção da integridade morfofuncional intestinal, prejudicando o desempenho das aves e causando maiores custos de produção.

Fibras dietéticas podem influenciar a morfologia da mucosa intestinal, alterando a altura das vilosidades, profundidade das criptas, descamação das células epiteliais e o número de células caliciformes (CERA et al., 1988; JIN et al., 1994; NYACHOTI et al., 1997; YU e CHIOU, 1997; KLASING, 1998; TUCCI, 1999). Entretanto, pouco se conhece dos efeitos da ingestão de pectina sobre a manutenção morfológica da mucosa intestinal de frangos.

O presente estudo analisou os efeitos da adição de diferentes porcentagens de pectina na ração sobre a renovação epitelial e a integridade dos vilos intestinais durante o desenvolvimento de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Aves e manejo experimental

O presente trabalho foi realizado no aviário experimental, no período de 22/10 a 25/11/2009, e no Departamento de Fisiologia e Morfologia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, da referida Faculdade (protocolo nº 004888-09).

Seiscentos pintos machos (Cobb[®]), com um dia de idade, obtidos de incubatório comercial, foram pesados individualmente e divididos homogeneamente pelo peso corporal (peso médio 45 ± 2 g) em quatro tratamentos (0, 1, 3, e 5% de pectina na ração), com 5 repetições de 30 aves cada, totalizando 150 aves por tratamento. As aves foram alojadas boxes (2,50 x 1,50m) em galpão de alvenaria, seis boxes por tratamento contendo 30 aves cada, forrados com casca de arroz e equipados com bebedouros de alumínio tipo copo de pressão, comedouro tubular infantil e fonte de aquecimento constituída de uma lâmpada de 200 watts. Após o sétimo dia de idade, foram utilizados bebedouros pendulares e comedouros tubulares com capacidade de 25 kg.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida constituído na parcela pelos níveis de pectina (0, 1, 3 e 5%) e na subparcela pelas idades de avaliação (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias), com seis repetições de 30 aves por porcentagem de pectina, totalizando as 720 aves.

As rações foram à base de milho e farelo de soja (tabela 1), reajustadas, de acordo com as recomendações de ROSTAGNO et al. (2005), para as fases inicial (1 a 21 dias; PB: 21,02%, EM: 3000 Kcal/Kg) e de crescimento (22 a 42 dias; PB: 19,02%, EM: 3175 Kcal/Kg) dos frangos. As aves receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental.

As aves foram vacinadas no incubatório contra doença de Marek, Gumboro e Bouba Aviária, aos oito dias de idade foram vacinadas contra Gumboro (cepa intermediária Lukert) e New Castle (estirpe La Sota), e aos 18 dias contra a

doença de Gumboro (cepa forte Austrália V-877). As vacinações foram realizadas via ingestão de água aos 8 e 18 dias de idade.

A temperatura e a umidade relativa no interior do galpão foram registradas durante todo o período experimental utilizando-se dois termohigrômetros digitais localizados em pontos equidistantes do galpão. Da primeira à sexta semana de experimento, os valores semanais médios de temperatura e de UR, obtidos pela média entre o valor mínimo e máximo, foram 31,3 °C, 29,3 °C, 27,3 °C, 26,4 °C, 23,0 °C, 23,0 °C e de 36,0%, 36,2%, 32,0%, 37,3%, 34,0%, 31,8%, respectivamente. Foi utilizado o manejo de cortinas e de ventiladores para a garantia do conforto térmico das aves.

2. Coleta das amostras

Aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, 5 aves/tratamento, sendo uma por repetição, foram abatidas por deslocamento cervical para coleta do intestino delgado. Os segmentos intestinais foram delimitados considerando-se como duodeno a porção distal da alça duodenal a partir do piloro, o jejuno desde o final da alça duodenal até o divertículo de Meckel e, o íleo a porção anterior aos cecos.

3. Parâmetros Analisados

3.1 Profundidade das criptas e integridade epitelial dos vilos

Amostras de três centímetros do duodeno, jejuno e íleo, foram coletadas, abertas longitudinalmente, estendidas e fixadas com grampos em papelão, lavadas cuidadosamente com água destilada e, imediatamente, fixadas em formaldeído 10% tamponado (pH 7,4) durante 48 horas. Posteriormente, os tecidos foram processados pelo método histológico de rotina para microscopia de luz, ou seja, desidratados em série de concentração crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), diafanizados em xilol e incluídos em histosec. De cada segmento intestinal, foram realizados e analisados cinco cortes histológicos longitudinais semi-seriados de 7µm de espessura, corados com HE. A leitura das lâminas foi realizada utilizando um sistema de análise de imagens (Leica Q win V3) acoplado

a um microscópio (Leica-DM 2500). Para a mensuração da profundidade de cripta foram realizadas 30 leituras por segmento/ave/tratamento (1 contagem/cripta).

Para a obtenção dos dados referentes à perda de epitélio pelos vilos, inicialmente, foi feita a contagem do número total de vilosidades por área, e posteriormente, os mesmos foram analisados quanto ao grau de perda de epitélio: *grau 0*, sem extrusão aparente (vilo normal); *grau 1*, pequena extrusão no ápice do vilo; *grau 2*, perda de epitélio com exposição do tecido conjuntivo no ápice do vilo; *grau 3*, perda de epitélio na porção apical do vilo e exposição do tecido conjuntivo; *grau 4*, perda do epitélio de metade do vilo com exposição do tecido conjuntivo. O grau 0 e o 1 foram considerados dentro da mesma classificação (grau 0+1), a fim de diminuir o número de graus e facilitar a análise dos resultados. Foram analisadas as vilosidades presentes em 10 campos (equivalentes a segmentos de 3200µm de epitélio) por segmento intestinal por ave, sendo calculadas as porcentagens de vilos normais (graus 0 e 1) e com perda de epitélio e exposição do conjuntivo (graus 2, 3 e 4), bem como porcentagem de vilos apresentando os diferentes graus de perda de epitélio (2, 3, 4) (Figura 1).

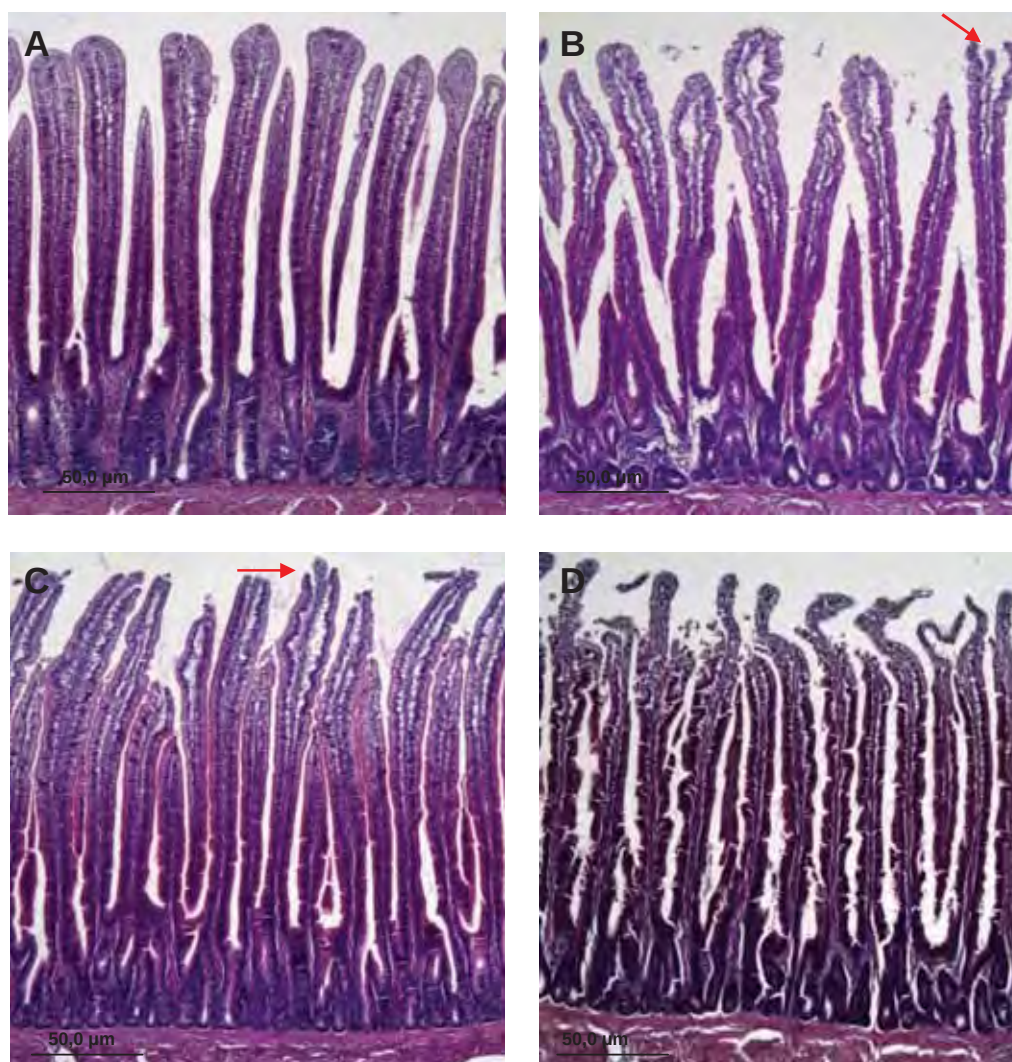


Figura 1 – Fotomicrografia de secções histológicas do duodeno de frangos de corte para classificação dos vilos de acordo com o grau de perda de epitélio. A) grau 0+1: vilos normais ou com pequena perda do epitélio no ápice; B) grau 2 (seta): perda do epitélio no ápice dos vilos; C) grau 3 (seta): perda do epitélio no ápice dos vilos com exposição do tecido conjuntivo; D) grau 4: marcada perda do epitélio na metade superior do vilo com exposição do tecido conjuntivo.

3.2 Índice mitótico nas criptas

Foi utilizada técnica imunohistoquímica para detecção de Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA) nas criptas da mucosa do intestino delgado usando complexo Avidina- Biotina¹. O PCNA é uma proteína de 36 kD associada à atividade proliferativa, sintetizada durante a interfase e que desaparece no final da mitose (CELIS e CELIS, 1985; MIYACHI et al., 1978). Aos 42 dias de idade, dos tecidos fixados em formaldeído 10% (duodeno, jejuno e íleo) e incluídos em histosec foram obtidos dois cortes semi-seriados, com espessura de 7 µm, que foram montados em lâminas carregadas eletricamente. Os cortes foram desparafinizados em xilol e reidratados em série decrescente de etanol. Para o bloqueio da peroxidase endógena, as lâminas foram imersas em solução de metanol/peróxido de hidrogênio (3%) por 10 minutos. Em seguida, foram imersas em soro eqüino (2%) durante 1 hora para bloqueio de ligações inespecíficas. Posteriormente, as secções foram incubadas à temperatura ambiente por 1 hora, em uma câmara úmida, com anticorpo primário contra PCNA² diluído em Tris-HCl (1:100). Em uma fase subsequente, os cortes foram incubados durante 10 minutos com imunoperoxidase utilizando um anticorpo secundário com biotina e, em seguida por 20 minutos com o complexo estreptavidina-peroxidase, em temperatura ambiente. As lavagens entre as etapas foram realizadas em solução tampão Tris-HCl (pH 7,4). A diaminobenzidina (DAB) foi usada como cromógeno para revelação da reação. Por fim, as lâminas foram desidratadas com série crescente de etanol, diafanizadas com xilol e montadas com entelan. Como controle dos resultados obtidos foi gerado controles negativos (sem anticorpo primário). A leitura das lâminas foi realizada utilizando um sistema de análise de imagens (Leica Q win V3) acoplado a um estéreo microscópio (Leica-DM 2500). O índice mitótico de cada região intestinal foi analisado em 30 criptas ao longo de 100µm de epitélio a partir da base da mesmas, e determinado como porcentagem média de células PCNA⁺ presentes em 100 µm.

¹ Kit of detection Starr Trek Universal HRP, Biocare Medical, USA.

² PCNA Clone PC10, Biocare Medical, USA, origem: anticorpo monoclonal de camundongo.

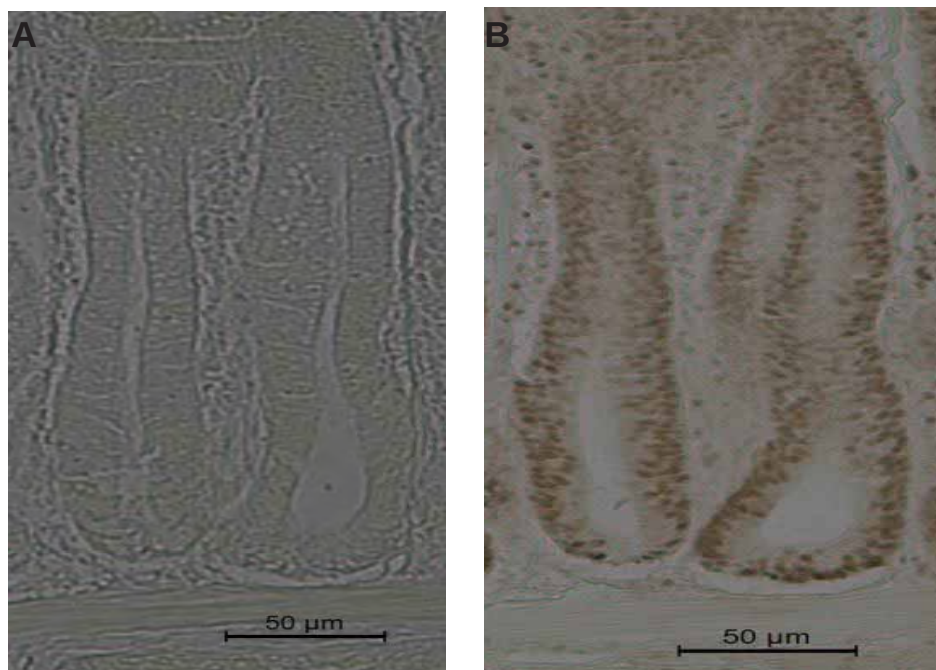


Figura 2 – **Índice de mitose celular**. Fotomicrografias de secções histológicas do duodeno de frangos de corte com 42 dias de idade, submetidos à técnica de imunohistoquímica para marcação de células em mitose, utilizando-se anticorpo para Proteína Nuclear de Proliferação Celular (PCNA). Controle negativo (A) e positivo (B) de células PCNA⁺.

3.3.Morte celular

Para o estudo de morte celular na mucosa intestinal, foi utilizado o método conhecido como TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP Nick end-labeling) que detecta fragmentos de DNA devido à marcação da extremidade 5'-OH do DNA fita simples, resultantes da dissolução e fragmentação do DNA nuclear (Figura 1). O protocolo utilizado para a detecção de morte celular foi o determinado pelo fabricante (kit TDT-FragGelTM, Calbiochem – Cat#QIA33). Aos 42 dias de idade foram obtidos cortes semi-seriados, com espessura de 7 µm, das amostras do duodeno, jejuno e íleo, que foram fixadas em formaldeído 10%, processadas pelo método de rotina para microscopia de luz e incluídas em histosec. Os cortes foram montados em lâminas carregadas eletricamente para melhor fixação e preservação dos mesmos. Após desparafinização e hidratação,

os cortes foram permeabilizados com Proteinase K diluída em Tris-HCl (1:100) por 20 minutos à temperatura ambiente, e, em seguida, imersos em solução de metanol/peróxido de hidrogênio (10%) por 5 minutos, para bloqueio da peroxidase endógena. Posteriormente, foram incubados por 30 minutos, à temperatura ambiente, com tampão de equilíbrio diluído em água destilada (1:5). Em seguida, eles foram imersos em solução de TdT+TdT-enzima durante 1½ hora, em câmara úmida à 37°C, para marcação com biotina. Então, os cortes foram incubados com tampão de parada por 5 minutos seguido de incubação com tampão de bloqueio da marcação por 10 minutos à temperatura ambiente. Os cortes foram imersos em conjugado estreptavidina-peroxidase (1:50) por 30 minutos, para detecção da marcação. As lavagens entre as etapas foram realizadas com solução tampão Tris-HCl (pH 7,4). Para a revelação da marcação foi utilizado solução de 3-3'-diaminobenzidina (DAB)³, cromógeno. A contrastação da marcação foi feita com verde de metila. Em seguida, as lâminas foram desidratadas em série de concentração crescente de etanol, diafanizadas com xilol e montadas com entelan. Como controles dos resultados obtidos foram gerados um controle negativo e dois positivos. O controle negativo consistiu de dois cortes de mucosa do intestino de frangos, e, nesse caso, o anticorpo primário (anti-apoptose) foi omitido da reação e substituído por tampão Tris-HCl. Os controles positivos consistiram de lâminas contendo células HL60 incubadas com 0,5µg/ml de actinomicina D por 19 horas para induzir apoptose e lâminas contendo células HL60 não induzidas (como indicado pelo fabricante do kit). As análises das marcações nos cortes histológicos foram realizadas utilizando um sistema de captura e análise de imagens acoplado a um microscópio (Leica). Os vilos foram analisados quanto à presença de apoptose nas células epiteliais da extremidade apical, nas células do tecido conjuntivo da extremidade apical da lâmina própria ou em ambos.

³ (DABSigma Chemical)

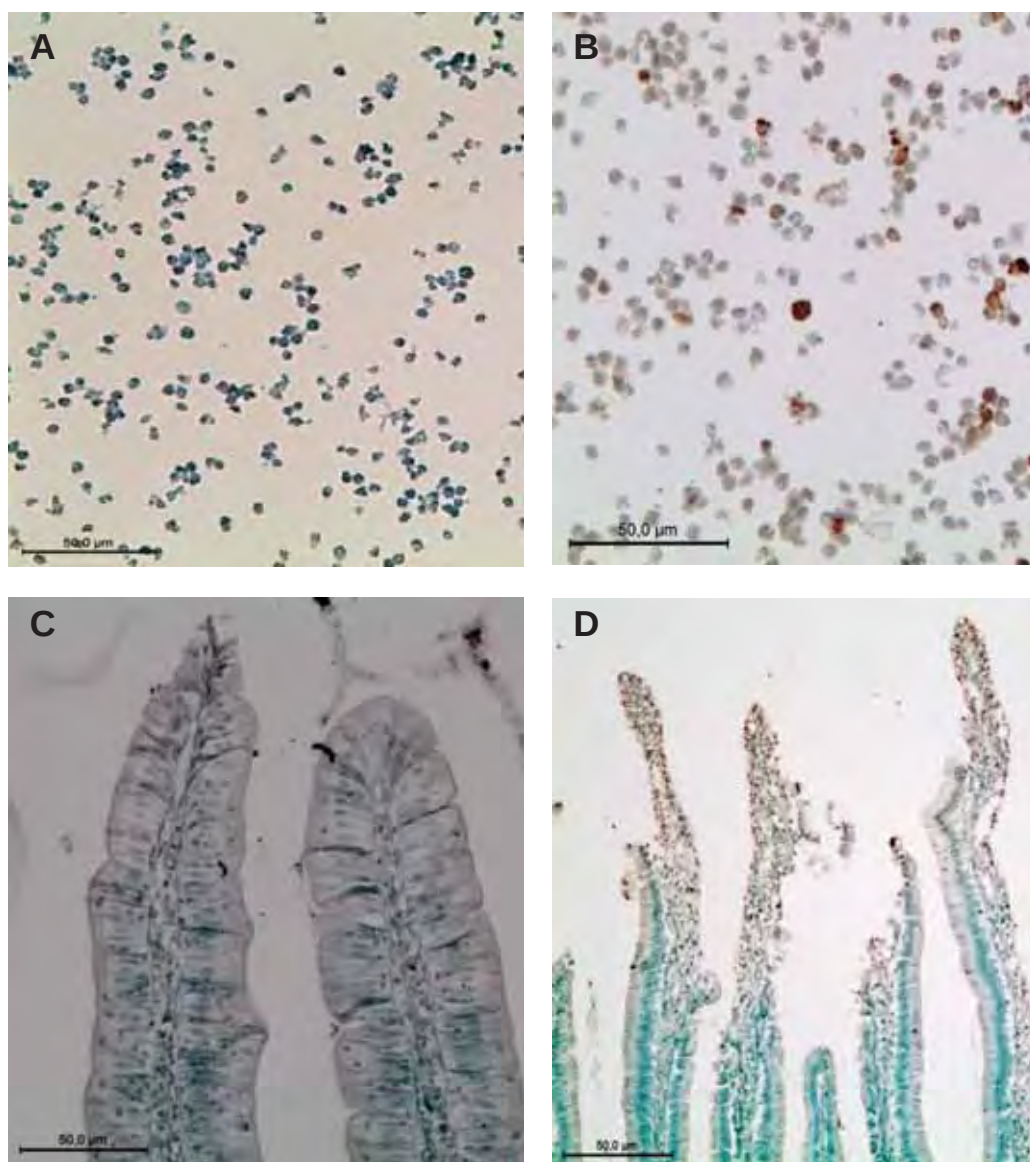


Figura 3 – **Apoptose celular nos vilos**. Fotomicrografias de cultura de células não induzidas e células induzidas à apoptose (A,B) e de secções histológicas do duodeno (C,D) de frangos de corte com 42 dias de idade, submetidos à técnica de imunohistoquímica para marcação de células em apoptose, utilizando-se o kit TDT-FragGelTM. Controles negativos (A e C) e positivos (B e D).

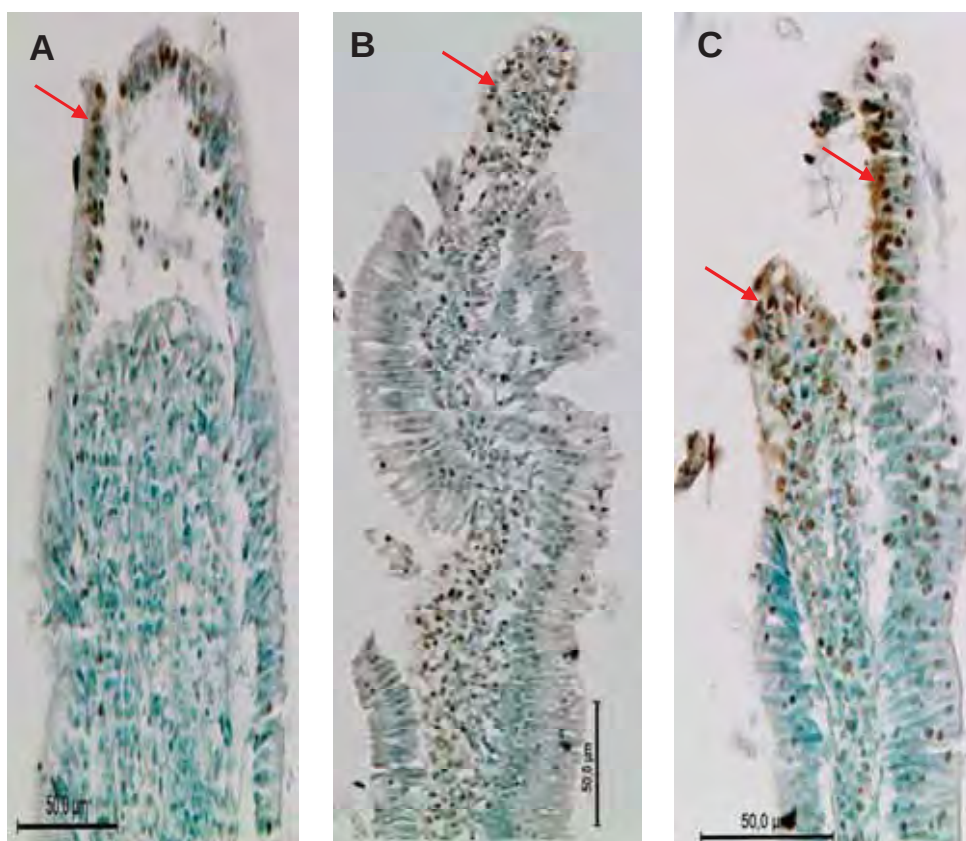


Figura 4 – **Apoptose celular nos vilos.** Fotomicrografia de secções histológicas do duodeno frangos de corte com 42 dias de idade, submetidos à técnica de imunohistoquímica para marcação de células em apoptose, utilizando-se o kit TDT-FragGel™. A) apoptose nas células epiteliais da extremidade apical dos vilos; B) apoptose nas células do tecido conjuntivo da extremidade apical da lâmina própria; C) apoptose no tecido epitelial e conjuntivo.

4. Análises Estatísticas

Os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros studentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Depois de constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos à análise de variância e posterior análise de regressão pelo procedimento GLM do programa SAS® (SAS Institute, 2002), considerando-se o percentagem de significância de 5%. A análise dos dados referente à percentagem de vilos normais e com perda de epitélio foram desenvolvidas através de procedimento

General Linear Models (GLM[®], SAS, 2000), com número diferente de repetições, e as médias ajustadas foram comparadas através do Teste de “F” e Tukey ($p < 0,05$). Quando houve comparação entre parâmetros dentro de cada idade para cada tratamento, os dados foram verificados quanto à presença de *outliers* e testados quanto às pressuposições de normalidade dos erros estudentizados (teste de Cramer-von-Misses) e de homogeneidade de variâncias (teste de Levene). As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Composição percentual e nutricional calculada das rações, segundo as fases de criação

Ingredientes	Inicial				Crescimento			
	0%	1%	3%	5%	0%	1%	3%	5%
Milho	47,50	47,50	47,50	47,50	52,50	52,50	52,50	52,50
Farelo de soja	36,92	36,92	36,92	36,92	30,95	30,95	30,95	30,95
Óleo soja	5,75	5,75	5,75	5,75	7,40	7,40	7,40	7,40
Fosfao bicálcico	1,90	1,90	1,90	1,90	1,64	1,64	1,64	1,64
Calcário	0,82	0,82	0,82	0,82	0,75	0,75	0,75	0,75
Sal	0,47	0,47	0,47	0,47	0,43	0,43	0,43	0,43
L-lisina HCL (78%)	0,61	0,61	0,61	0,61	0,30	0,30	0,30	0,30
DL-Metionina (99%)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,40	0,40	0,40	0,40
L-treonina	0,14	0,14	0,14	0,14	0,08	0,08	0,08	0,08
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sup. Vit. e Min. ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Inerte ²	5,00	4,00	2,00	0,00	5,00	4,00	2,00	0,00
Pectina*	0,00	1,00	3,00	5,00	0,00	1,00	3,00	5,00
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição calculada								
EM (Kcal/Kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.175	3.175	3.175	3.175
PB (%)	21,62	21,62	21,62	21,62	19,02	19,02	19,02	19,02
Ca (%)	0,92	0,92	0,921	0,92	0,81	0,81	0,81	0,806
Pd (%)	0,46	0,46	0,46	0,46	0,40	0,40	0,40	0,402
Na (%)	0,22	0,22	0,22	0,22	0,20	0,20	0,20	0,203
Lis dig (%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,13	1,13	1,13	1,126
Met dig (%)	0,63	0,63	0,63	0,63	0,66	0,66	0,66	0,662
Lis+Met dig(%)	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,912
Thr dig (%)	0,83	0,83	0,83	0,83	0,70	0,70	0,70	0,703

¹ Suplemento mineral + vitamínico. Cada quilograma do produto contém: Se 54,6 mg, Cu 25.000 mg, pantotenato de Ca 1.900 mg, Mn 15.252 mg, I 260mg, Zn 18.250 mg, ácido nicotínico 6.930 mg, biotina 32 mg, colina 120 g, Vit A 1.400.000 UI, Vit B1 356 mg, Vit B12 2.000 mcg, Vit B2 1.920 mg, Vit B6 693 mg, Vit D3 600.000, Vit E 5.000mg, Vit K 196mg, antioxidante 100mg, anticoccidiano 25.000mg e promotor de crescimento (bacitracina de zinco) 10.000 mg. ³Inerte: caulin

* Pectina de alto grau de esterificação, alto grau de gelificação, alto teor de carboidratos solúveis (85%), não amidada, extraída de polpa cítrica (pectina GENU® tipo B rapid set-Z, CP Kelco, Limeira, Brasil)

RESULTADOS

1. Profundidade das Criptas

Os efeitos da pectina na dieta e das idades das aves sobre a profundidade das criptas do duodeno (PCD), jejuno (PCJ) e íleo (PCI) são mostrados na Tabela 2. Houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre as porcentagens da fibra e as idades para a PC dos três segmentos intestinais. De acordo com a Tabela 3 e Figuras 5A-C, independente do nível de inclusão de pectina na dieta, a PCD, a PCJ e a PCI diminuíram linearmente ($p \leq 0,05$) ao longo de todo o período experimental sendo a idade responsável por mais de 88% da variabilidade encontrada nessas variáveis. Em nenhuma das idades analisadas, as porcentagens de ingestão da fibra influenciaram a PC dos segmentos do intestino delgado.

2. Índice Mitótico das Criptas

A Tabela 4 mostra o efeito da pectina na dieta sobre o índice mitótico das criptas do duodeno, jejuno e íleo dos frangos com 42 dias de idade. Nos três segmentos intestinais, a proliferação celular na cripta diminuiu linearmente com o aumento de pectina na dieta (Figuras 6A-C).

3. Integridade epitelial dos vilos

A Tabela 5 mostra os dados referentes aos efeitos da inclusão de pectina na dieta sobre as porcentagens de vilos normais (VN) e de vilos com perda de epitélio e exposição de tecido conjuntivo (VPE) no duodeno, jejuno e íleo, nas diferentes idades analisadas. No duodeno, independente do nível de inclusão da fibra, as aves apresentaram porcentagens maiores de VPE ($p < 0,05$) que de VN em todas as idades. No jejuno, até os 14 dias de idade, as porcentagens de VN foram maiores que as de VPE em todos os níveis de pectina. A partir dos 21 dias de idade, isso continuou ocorrendo apenas nas aves que receberam ração contendo 0 e 1% de pectina. Nas aves que consumiram ração com 3 e 5% da fibra, as porcentagens de VPE foram maiores que as de VN. No íleo, as

porcentagens de VN foram maiores que as de VPE em todos os níveis de pectina também até os 14 dias de idade. No entanto, a partir dos 21 dias de idade, as aves que receberam inclusão de 5% de pectina na dieta passaram a apresentar porcentagens maiores ($p \leq 0,05$) de VPE que de VN, o mesmo ocorrendo a partir dos 35 dias com as aves que consumiram 3% da fibra.

Houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre pectina na ração e as idades das aves para as porcentagens de vilos normais (VN) da mucosa duodenal, jejunal e ilíaca, sendo os desdobramentos das interações e suas respectivas probabilidades apresentados na Tabela 6. Nos três segmentos intestinais, as porcentagens de VN diminuíram ($p \leq 0,05$) com a idade independentemente do nível de fibra na dieta (Figuras 7A,C e 8A). Além disso, as porcentagens de VN diminuíram com o aumento da inclusão de pectina durante todo o período experimental (Figuras 7B,D e 8B).

Nas Tabelas 7, 8 e 9 são apresentadas as porcentagens de VPE registradas no duodeno, jejuno e íleo em cada idade, de acordo com os graus de perda epitelial (graus 2, 3 e 4). Nos três segmentos intestinais, houve aumento do grau de perda de epitélio com o aumento da porcentagem de pectina na ração em todas as idades, bem como aumento com a idade. Independentemente do nível de ingestão da fibra, o duodeno foi o segmento intestinal que apresentou maior grau de perda de epitélio, seguido pelo jejuno, e depois pelo íleo, sendo este último o segmento que apresentou epitélio mais conservado.

4. Apoptose nos vilos

Análise histológica mostrou que, com ou sem ingestão de pectina, ocorreu apoptose nos vilos do duodeno, jejuno e íleo, e que a apoptose ocorreu nas células epiteliais da extremidade apical dos vilos, nas células do tecido conjuntivo da extremidade apical da lâmina própria ou em ambos (Figura 4).

Como mostrado na Tabela 10, e Figura 9, nos três segmentos do intestino delgado, ocorreu aumento linear significativo na porcentagem de vilos com apoptose à medida que aumentou a porcentagem de pectina na ração, a qual

respondeu por 98, 91 e 96% da variabilidade encontrada na porcentagem de apoptose no duodeno, jejuno e íleo, respectivamente.

Como mostrado na Tabela 11, houve diminuição na porcentagem de vilos duodenais com apoptose nas células epiteliais com a ingestão de pectina e um aumento concomitante na porcentagem de vilos com apoptose no conjuntivo e no epitélio+conjunto. No jejuno e no íleo, a ingestão de pectina aumentou as porcentagens de vilos com apoptose no tecido epitelial, no conjuntivo e em ambos.

Tabela 2 – Efeito da pectina na ração (%) e das idades (dias) sobre a profundidade de cripta na mucosa do duodeno (PCD), jejuno (PCJ) e íleo (PCI) de frangos de corte.

Pectina (P)¹	PCD (µm)	PCJ (µm)	PCI (µm)
0	183,3	135,7	100,8
1	172,3	126,7	99,2
3	158,5	103,2	94,5
5	154,7	98,3	92,4
Idade (I)²			
7	238,9	137,5	115,3
14	212,9	121,4	110,6
21	187,4	117,4	93,3
28	135,0	111,1	91,8
35	117,5	105,1	86,3
42	111,6	103,6	83,0
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001
I	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P x I	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV (%)¹	14,23	29,65	19,98
CV (%)²	9,88	21,65	17,49

Tabela 3 - Desdobramentos da interação pectina na ração e idade para a profundidade de cripta na mucosa do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
PCD (µm)						
7	250	247	233	225	0,7380	0,8826
14	233	221	201	197	0,0952	0,8728
21	237	189	165	159	0,0998	0,2873
28	146	145	126	123	0,7960	0,2535
35	121	119	116	114	0,3133	0,6237
42	113	113	111	109	0,2783	0,2523
L	0,0058	0,0007	0,0019	0,0021		
Q	0,8426	0,3211	0,0880	0,1461		
PCJ (µm)						
7	166	136	129	119	0,1468	0,6695
14	141	132	117	116	0,7330	0,0833
21	130	127	113	111	0,5043	0,5042
28	129	124	110	107	0,4960	0,3622
35	121	120	109	107	0,4275	0,6332
42	110	109	97	94	0,3015	0,2459
L	0,0363	0,0159	0,0177	0,0398		
Q	0,8939	0,1889	0,8496	0,2422		
PCI (µm)						
7	119	116	115	111	0,1894	0,8842
14	117	115	105	105	0,5186	0,5662
21	97	94	92	91	0,6840	0,6878
28	96	95	89	87	0,9989	0,3504
35	89	89	85	82	0,7443	0,3641
42	88	86	80	79	0,8839	0,4640
L	0,0065	0,0315	0,0012	0,0010		
O	0,9737	0,3958	0,4770	0,2439		

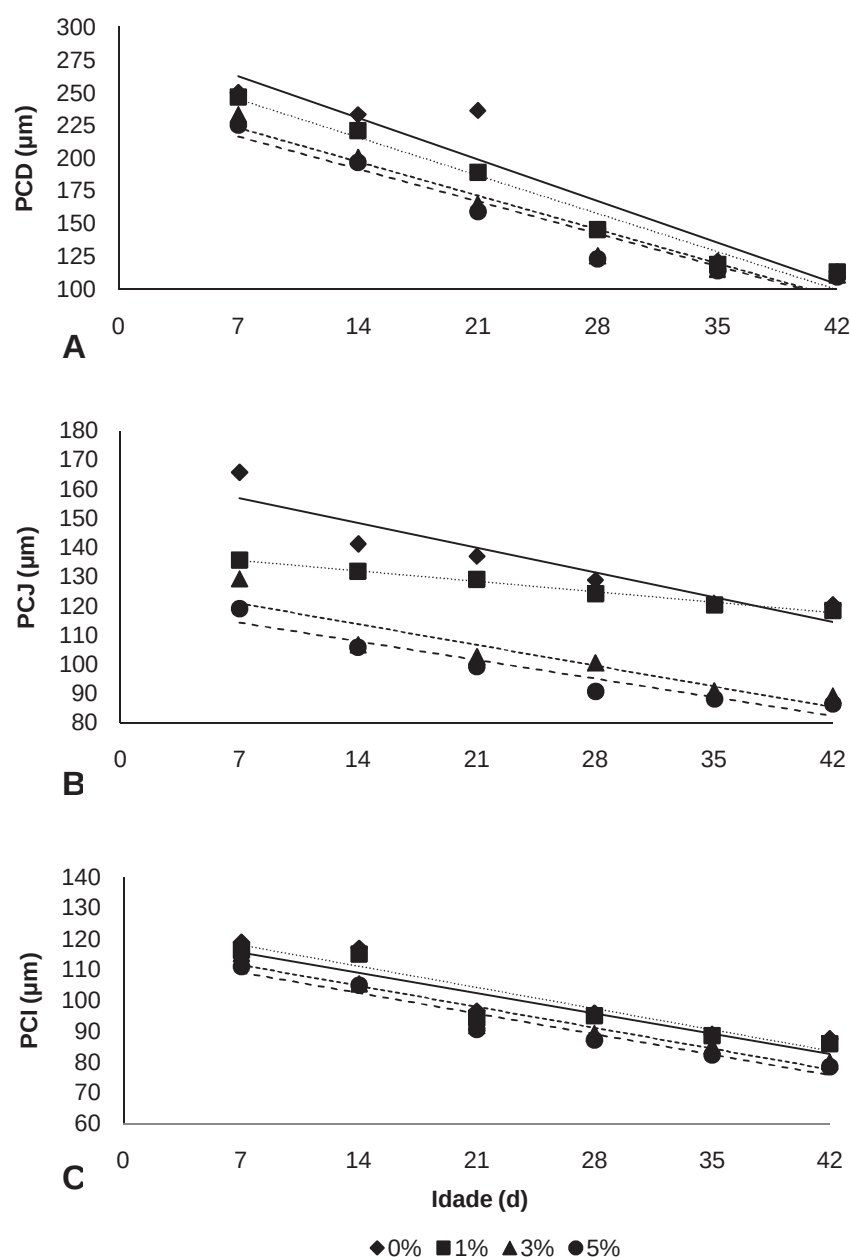


Figura 5 - Regressão para: (A) Profundidade da cripta do duodeno (PCD) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -4,5404x + 294,57$, $R^2 = 0,88$; $y(1\%) = -4,1539x + 274,12$, $R^2 = 0,97$; $y(3\%) = -3,6996x + 249,14$, $R^2 = 0,93$; $y(5\%) = -3,5233x + 240,99$, $R^2 = 0,93$], (B) Profundidade da cripta do jejuno (PCJ) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -1,2086x + 165,36$, $R^2 = 0,88$; $y(1\%) = -0,5147x + 139,29$, $R^2 = 0,99$; $y(3\%) = -1,02x + 128,17$, $R^2 = 0,88$; $y(5\%) = -0,9155x + 120,71$, $R^2 = 0,91$] e (C) Profundidade da cripta do íleo (PCI) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -0,9865x + 124,99$, $R^2 = 0,88$; $y(1\%) = -0,9429x + 122,27$, $R^2 = 0,88$; $y(3\%) = -0,9739x + 118,36$, $R^2 = 0,93$; $y(5\%) = -0,9522x + 115,75$, $R^2 = 0,94$].

Tabela 4 – Efeito da pectina na ração (%) sobre a porcentagem de células PCNA⁺ presentes ao longo de 100 µm de epitélios de cripta do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Pectina (P)	(%) PCNA⁺		
	Duodeno	Jejuno	Íleo
0	68,57	69,90	60,33
1	63,41	65,08	56,94
3	58,09	60,84	48,69
5	56,55	57,22	45,78
P	0,0349	0,0289	0,0201
CV (%)	20,76	12,94	12,39

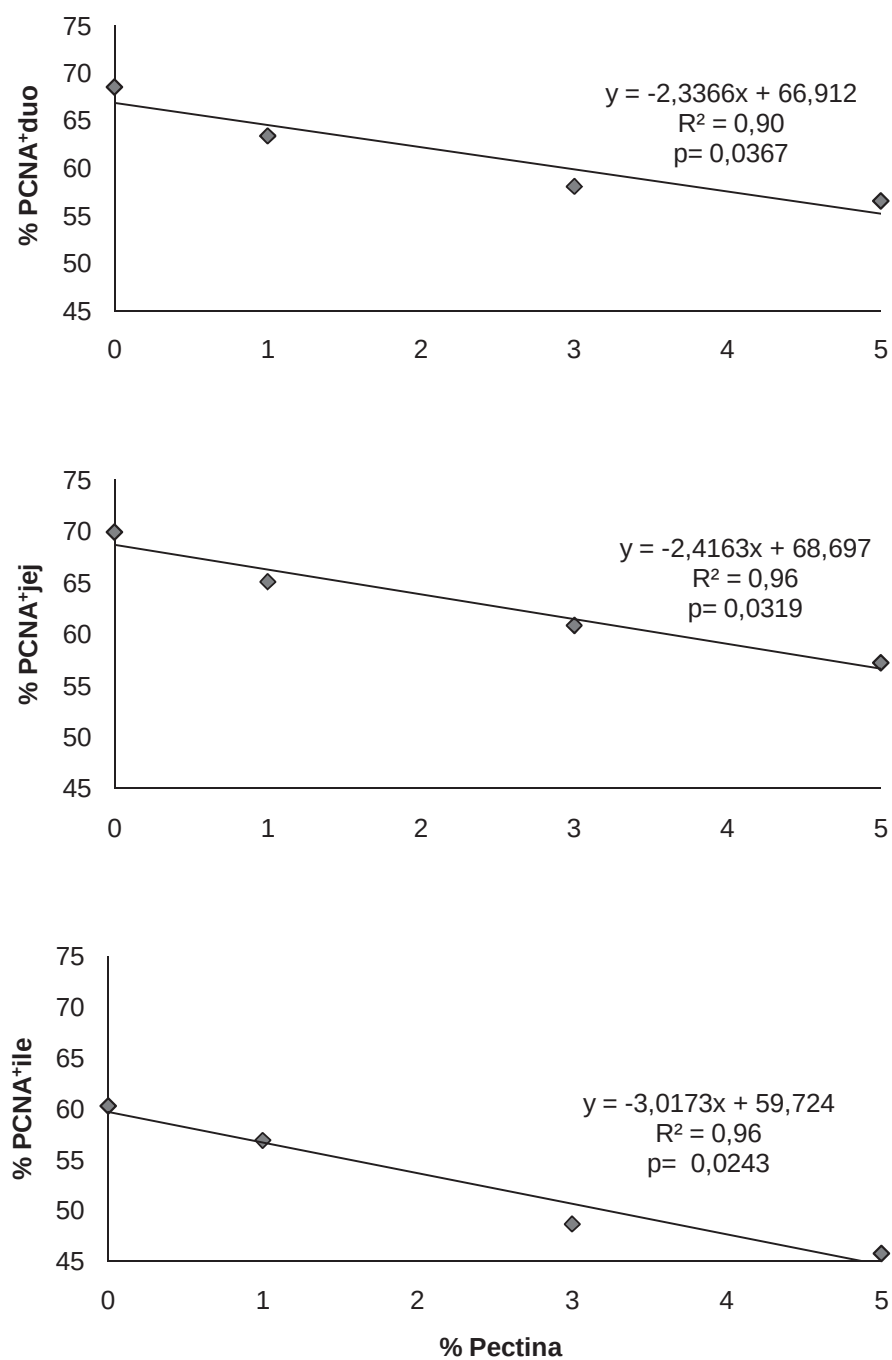


Figura 6 – Regressão para: (A) Porcentagem de células PCNA⁺ presentes na cripta do duodeno em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte, (B) PCNA⁺ presentes na cripta do jejuno e (C) PCNA⁺ presentes na cripta do íleo, em função dos níveis de pectina, para frangos de corte obtidos aos 42 dias de idade.

Tabela 5 – Efeito da pectina na ração (%) sobre as porcentagens de vilos normais (VN) e de vilos com perda de epitélio e exposição de tecido conjuntivo (VPE) no duodeno, no jejuno e no íleo de frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

Pectina (%)	Duodeno		Jejuno		Íleo	
	VN	VPE	VN	VPE	VN	VPE
7 dias						
0	43,7 b	56,30 a	96,0 a	4,0 b	95,0 a	5,0 b
1	37,5 b	62,50 a	86,0 a	14,0 b	90,0 a	10,0 b
3	25,7 b	74,30 a	80,0 a	20,0 b	89,0 a	11,0 b
5	21,0 b	79,00 a	74,0 a	26,0 b	86,5 a	13,5 b
14 dias						
0	29,0 b	71,00 a	85,5 a	14,5 b	85,5 a	14,5 b
1	25,5 b	74,50 a	70,1 a	29,9 b	80,0 a	20,0 b
3	22,7 b	77,30 a	67,8 a	32,2 b	69,5 a	30,5 b
5	19,5 b	80,50 a	61,5 a	38,5 b	58,7 a	41,3 b
21 dias						
0	25,8 b	74,20 a	71,5 a	28,5 b	76,0 a	24,0 b
1	22,1 b	77,90 a	65,5 a	34,5 b	65,5 a	34,5 b
3	19,5 b	80,50 a	46,7 b	53,3 a	52,5 a	47,5 b
5	18,1 b	81,90 a	45,5 b	54,5 a	46,0 b	54,0 a
28 dias						
0	23,1 b	76,90 a	67,5 a	32,5 b	70,5 a	29,5 b
1	18,5 b	81,50 a	61,0 a	39,0 b	59,7 a	40,3 b
3	15,7 b	84,30 a	41,5 b	58,5 a	50,5 b	49,5 b
5	14,2 b	85,80 a	39,5 b	60,5 a	43,5 b	56,5 a
35 dias						
0	22,0 b	78,00 a	63,5 a	36,5 b	63,5 a	36,5 b
1	16,1 b	83,90 a	58,5 a	41,5 b	57,0 a	43,0 b
3	13,9 b	86,10 a	38,5 b	61,5 a	49,5 b	50,5 a
5	11,0 b	89,00 a	37,0 b	63,0 a	37,0 b	63,0 a
42 dias						
0	20,0 b	80,00 a	62,5 a	37,5 b	63,0 a	37,0 b
1	15,0 b	85,00 a	55,0 a	45,0 b	56,0 a	44,0 b
3	11,3 b	88,70 a	29,0 b	71,0 a	45,0 b	55,0 a
5	9,8 b	90,20 a	26,0 b	74,0 a	41,0 b	59,0 a

a-b: comparação entre porcentagens de VN e de VPE para cada segmento intestinal (linhas). Médias seguidas de letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Desdobramentos da interação pectina na ração e idades das aves para s porcentagens de vilos normais (VN) no duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte.

Idade (d)	Pectina (%)				Linear	Quadrático
	0	1	3	5		
VNd (%)						
7	43,7	37,5	25,7	21	0,0059	0,6745
14	29	25,5	22,7	19,5	0,0265	0,8979
21	25	22,1	19,5	18,1	0,0321	0,6504
28	23	18,5	15,7	14,2	0,0333	0,3420
35	22	16,1	13,9	11	0,0293	0,6510
42	20	15	11,3	9,8	0,0251	0,3360
L	0,0010	0,0006	0,0002	0,0008		
Q	0,5609	0,5694	0,3442	0,3450		
VNj (%)						
7	96	86	80	74	0,0156	0,8051
14	85,5	70,1	67,8	61,5	0,0189	0,7608
21	71,5	65,5	46,7	45,5	0,0131	0,6547
28	67,5	61	41,5	39,5	0,0178	0,5666
35	63,5	58,5	38,5	37	0,0209	0,3334
42	62,5	55	29	26	0,0017	0,7656
L	0,0005	0,0002	<0,0001	<0,0001		
Q	0,0574	0,3875	0,2340	0,4391		
VNi (%)						
7	95	90	89	86,5	0,0396	0,6740
14	85	80	69,5	58,7	0,0213	0,8931
21	76	65,5	52,5	46	0,0175	0,7522
28	70	60	50,5	43,5	0,0109	0,4428
35	63	57	49,5	37	0,0107	0,6632
42	63	56	45	41	0,0213	0,7870
L	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		
Q	0,1108	0,1287	0,3321	0,2456		

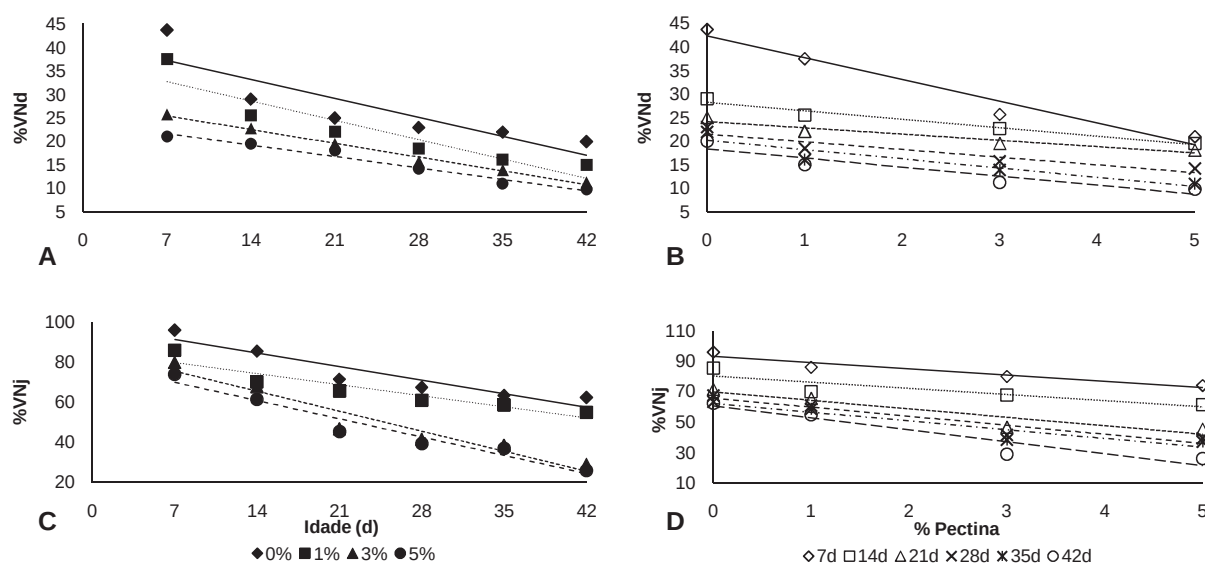


Figura 7 - Regressão para: (A) Porcentagem de vilos normais do duodeno (%VNd) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -0,5776x + 41,267$, $R^2 = 0,76$; $y(1\%) = -0,589x + 36,88$, $R^2 = 0,86$; $y(3\%) = -0,4171x + 28,353$, $R^2 = 0,99$; $y(5\%) = -0,3486x + 24,14$, $R^2 = 0,97$], (B) %VNd em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -4,622x + 42,375$, $R^2 = 0,96$; $y(14d) = -1,7949x + 28,214$, $R^2 = 0,97$; $y(21d) = -1,3203x + 24,146$, $R^2 = 0,93$; $y(28d) = -1,6305x + 21,519$, $R^2 = 0,87$; $y(35d) = -1,9627x + 20,166$, $R^2 = 0,87$; $y(42d) = -1,9203x + 18,346$, $R^2 = 0,88$], (C) Porcentagem de vilos normais do jejuno (%VNj) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -0,9694x + 98,167$, $R^2 = 0,89$; $y(1\%) = -0,7931x + 85,447$, $R^2 = 0,87$; $y(3\%) = -1,4208x + 85,393$, $R^2 = 0,92$; $y(5\%) = -1,3041x + 79,2$, $R^2 = 0,95$] e (D) %VNj em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -4,0678x + 93,153$, $R^2 = 0,92$; $y(14d) = -4,0695x + 80,381$, $R^2 = 0,78$; $y(21d) = -5,6x + 69,9$, $R^2 = 0,89$; $y(28d) = -5,9915x + 65,856$, $R^2 = 0,90$; $y(35d) = -5,7881x + 62,398$, $R^2 = 0,89$; $y(42d) = -7,8729x + 60,839$, $R^2 = 0,91$].

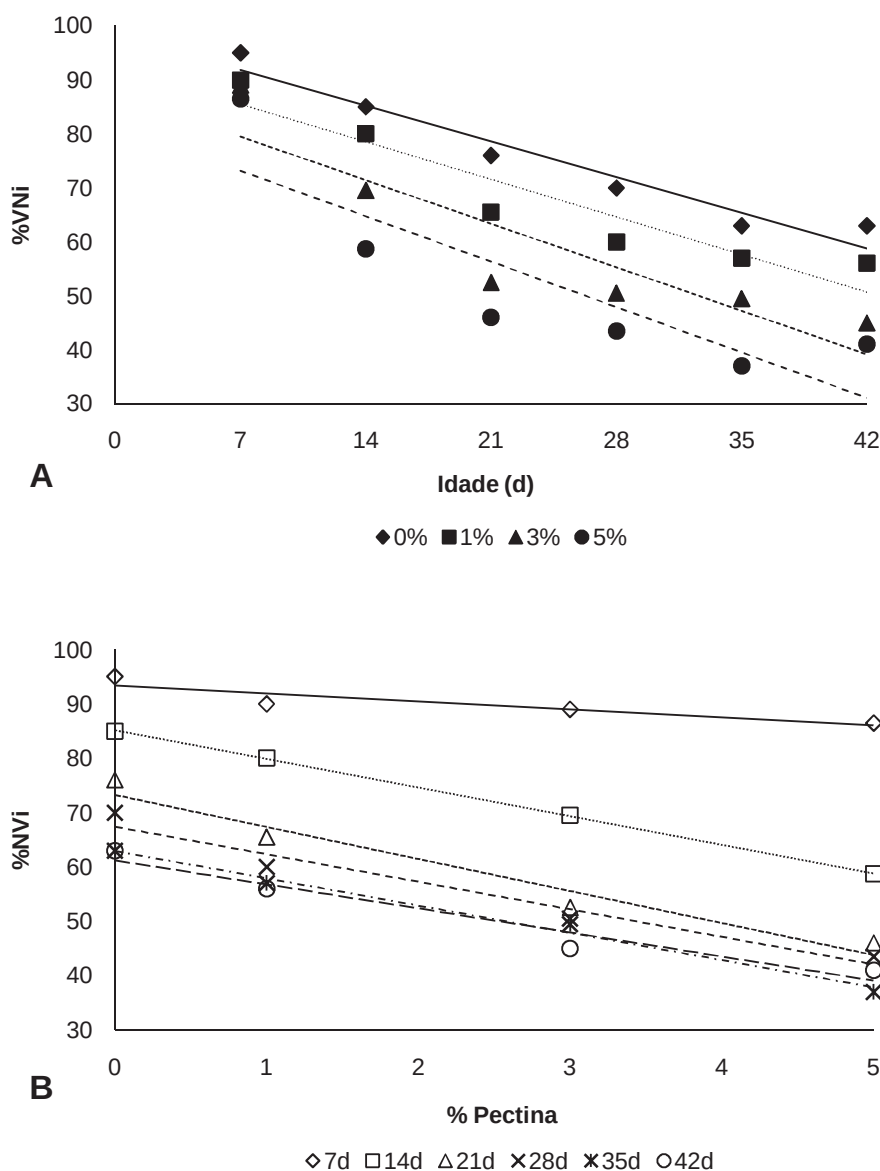


Figura 8 - Regressão para: (A) Porcentagem de vilos normais do íleo (%VNi) em função da idade de frangos de corte que não ingeriram (0%) e que ingeriram 1, 3 e 5% de pectina na ração [$y(0\%) = -0,9469x + 98,533$, $R^2 = 0,95$; $y(1\%) = -0,998x + 92,533$, $R^2 = 0,89$; $y(3\%) = -1,151x + 87,533$, $R^2 = 0,81$; $y(5\%) = -1,2045x + 81,627$, $R^2 = 0,74$], (B) %VNi em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte com 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade [$y(7d) = -1,4661x + 93,424$, $R^2 = 0,83$; $y(14d) = -5,2678x + 85,153$, $R^2 = 1,0$; $y(21d) = -5,8983x + 73,271$, $R^2 = 0,95$; $y(28d) = -5,0847x + 67,441$, $R^2 = 0,96$; $y(35d) = -5,0254x + 62,932$, $R^2 = 0,99$; $y(42d) = -4,4237x + 61,203$, $R^2 = 0,95$].

Tabela 7 – Efeito da pectina na ração (%) sobre a porcentagem de vilos com perda de epitélio e exposição do tecido conjuntivo da mucosa do duodeno de frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

Pectina (%)	Grau 2	Grau3	Grau 4
7 dias			
0	52,0 A	30,0 B	18,0 C
1	49,7 A	29,7 B	20,6 C
3	42,0 A	32,5 B	25,5 C
5	36,0 A	37,0 A	27,0 B
14 dias			
0	48,0 A	33,0 B	19,0 C
1	43,5 A	35,0 B	21,5 C
3	36,1	32,2	31,7
5	35,4	31,1	33,5
21 dias			
0	44,2 A	35,0 B	20,8 C
1	39,9 A	37,0 A	23,1 B
3	32,5	30,4	37,1
5	31,4	30,5	38,1
28 dias			
0	39,7 A	31,1 B	29,2 B
1	35,3	33,0	31,7
3	29,1 B	33,3 AB	37,6 A
5	28,9 B	32,1 AB	39,0 A
35 dias			
0	36,1	30,0	33,9
1	31,0 B	30,8 B	38,2 A
3	25,1 B	27,1 B	47,8 A
5	25,0 B	25,0 B	50,0 A
42 dias			
0	32,5 B	26,0 B	41,5 A
1	27,5 B	24,0 B	48,5 A
3	21,0 B	19,5 B	59,5 A
5	19,0 B	18,0 B	63,0 A

A-C: Médias (linhas) seguidas de letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 8 – Efeito da pectina na ração (%) sobre a porcentagem de vilos com perda de epitélio e exposição do tecido conjuntivo da mucosa do jejuno de frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

Pectina (%)	Grau 2	Grau3	Grau 4
7 dias			
0	100,0 A	0,0 B	0,0 B
1	100,0 A	0,0 B	0,0 B
3	86,8 A	13,2 B	0,0 B
5	85,8 A	14,2 B	0,0 B
14 dias			
0	90 A	10 B	0,0 B
1	87,0 A	13,0 B	0,0 B
3	84,5 A	12,4 B	3,1 B
5	64,2 A	25,4 B	10,4 C
21 dias			
0	73,9 A	21,0 B	5,1 C
1	67,1 A	25,1 B	7,8 C
3	54,7 A	32,5 B	12,8 C
5	41,7 A	40,0 A	18,3 B
28 dias			
0	63,2 A	25,9 B	10,9 C
1	54,7 A	30,0 B	15,3 C
3	39,3 A	39,9 A	20,8 B
5	33,5 B	43,5 A	23,0 C
35 dias			
0	45,0 A	31,4 B	23,6 C
1	40,2 A	35,7 A	24,1 B
3	29,5 B	46,1 A	24,4 B
5	24,5 B	50,5 A	25,0 B
42 dias			
0	36,5 A	38,5 A	25,0 B
1	32,5 B	39,0 A	28,5 B
3	22,0 C	49,0 A	29,0 B
5	14,0 C	55,0 A	31,0 B

A-C: Médias (linhas) seguidas de letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 9 – Efeito da pectina na ração (%) sobre as porcentagens de vilos com perda de epitélio e exposição do tecido conjuntivo do íleo de frangos de corte aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade.

Pectina (%)	Grau 2	Grau3	Grau 4
7 dias			
0	100,0 A	0,0 B	0,0 B
1	100,0 A	0,0 B	0,0 B
3	91,0 A	9,0 B	0,0 C
5	88,9 A	11,1 B	0,0 C
14 dias			
0	90,0 A	10,0 B	0,0 C
1	89,5 A	11,5 B	0,0 C
3	86,3 A	10,5 B	1,2 C
5	67,1 A	26,6 B	6,3 C
21 dias			
0	75,0 A	25,0 B	0,0 C
1	66,4 A	26,2 B	7,4 C
3	62,9 A	27,8 B	9,3 C
5	68,4 A	19,1 B	12,5 B
28 dias			
0	67,0 A	28,0 B	5,0 C
1	60,0 A	29,0 B	11,0 C
3	57,5 A	30,5 B	12,0 C
5	54,0 A	32,0 B	14,0 C
35 dias			
0	61,0 A	30,0 B	9,0 C
1	55,0 A	33,5 B	11,5 C
3	52,0 A	31,0 B	17,0 C
5	49,0 A	29,0 B	22,0 B
42 dias			
0	56,0 A	32,0 B	12,0 C
1	53,0 A	34,0 B	13,0 C
3	48,0 A	32,0 B	20,0 C
5	45,0 A	30,5 B	24,5 B

A-C: Médias (linhas) seguidas de letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 10 – Efeito da pectina na ração (%) sobre a porcentagem de vilos com apoptose da mucosa do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Pectina (P)	(%) Apoptose		
	Duodeno	Jejuno	Íleo
0	80,5	68,3	61,0
1	84,1	71,5	64,8
3	89,7	76,1	67,3
5	93,2	79,5	68,5
P	0,0139	0,0375	0,0411
CV (%)	14,67	11,98	13,77

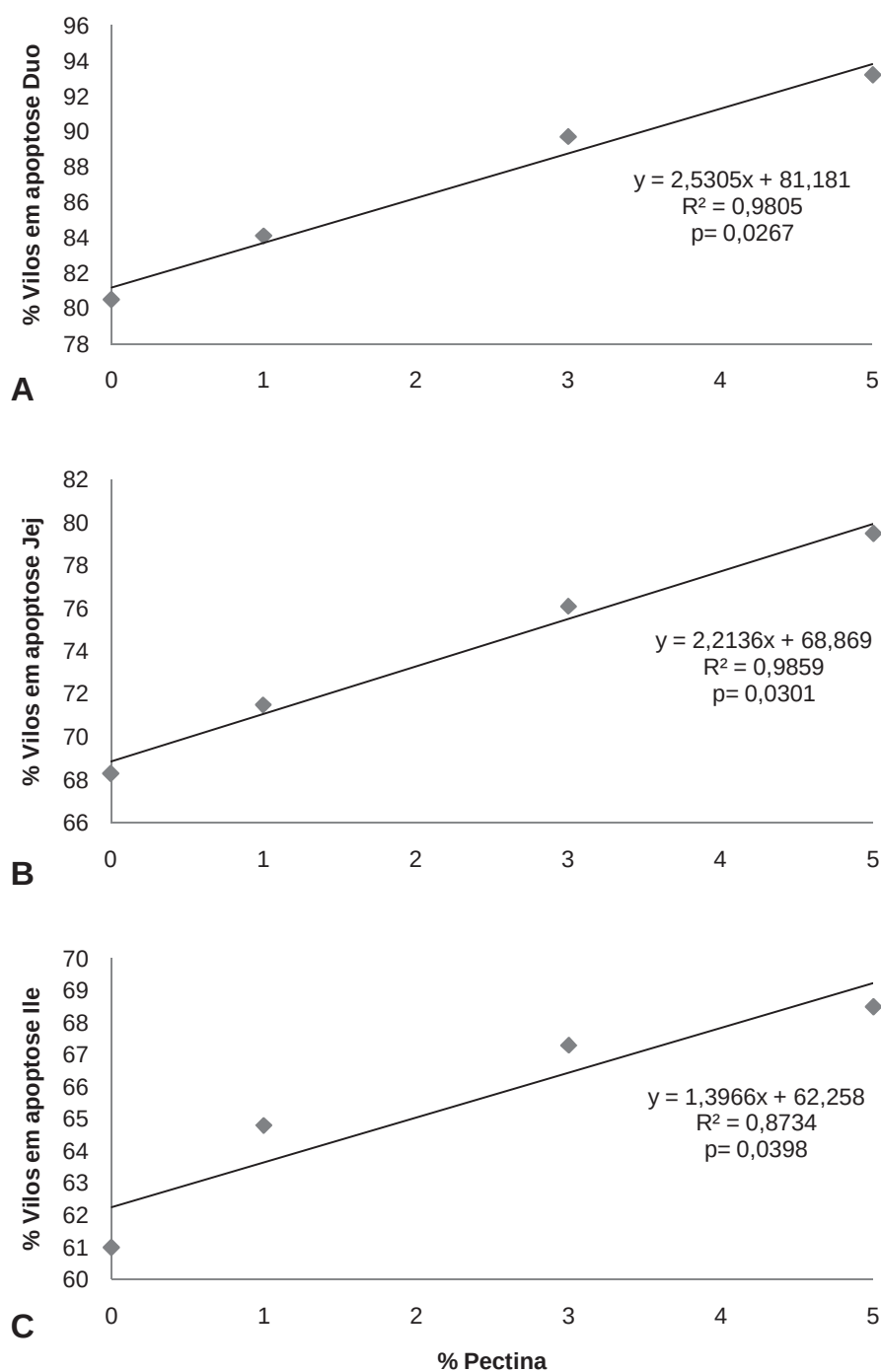


Figura 9 – Regressão para: Porcentagem de vilos com apoptose do duodeno (A), do jejuno (B) e do íleo (C), em função da porcentagem de pectina na ração em frangos de corte obtidos aos 42 dias de idade.

Tabela 11 – Efeito da pectina na ração (%) sobre a porcentagem de vilos com apoptose no epitélio (E), no conjuntivo (C) e em ambos (E + C) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Pectina (P)	(%) Apoptose		
	Epitélio (E)	Conjuntivo (C)	E + C
Duodeno			
0	52,3 A	28,2 B	0,0 C
1	49,2 A	32,8 B	2,1 C
3	35,9 B	40,4 A	13,4 B
5	35,9 B	38,7 A	18,6 A
Jejuno			
0	20,0 A	17,9 B	0,0 C
1	25,6 A	20,0 AB	0,0 B
3	31,9 A	29,1 A	10,0 B
5	34,0 A	25,5 B	15,6 C
Íleo			
0	37,5 A	1,5 B	0,0 B
1	39,5 A	5,5 B	0,0 B
3	48,5 A	6,0 B	0,5 C
5	51,0 A	7,0 B	1,9 C

A-C: médias (linhas) seguidas de letras não similares diferem significativamente ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Os dados mostram que a profundidade das criptas do duodeno, jejuno e íleo diminui com a idade, independentemente da ingestão ou não de pectina. Como mostrado no capítulo 3, o crescimento dos vilos intestinais ocorreu acentuadamente até os 28 dias de idade, a partir desta idade o crescimento diminui. Dessa forma, a redução na profundidade das criptas do intestino delgado parece estar relacionada com a redução no crescimento dos vilos. Concomitantemente à redução temporal na profundidade das criptas, os três segmentos intestinais apresentaram aumento na porcentagem de vilos com perda de tecido epitelial e exposição de tecido conjuntivo. O restabelecimento da continuidade das células epiteliais após injúria é definido como processo de reconstituição de mucosa. Segundo Svanes et al (1982) e Lacy e Ito (1984), a reconstituição epitelial inicia-se com a secreção de espessa camada de muco sobre a área lesada, o que ocorre logo após a injúria. Quando a perda de epitélio atinge grandes áreas da mucosa, o epitélio remanescente torna-se hiperplásico, ocorrendo maior profundidade de cripta (PORUS, 1965; DOWLING, 1992). No presente estudo, não foi constatado a presença de camada de secreção sobre as áreas com perda de epitélio. Assim, a diminuição temporal da profundidade das criptas e o aumento da porcentagem de vilos com perda de epitélio indicam que os vilos dos três segmentos intestinais não estão sofrendo reparo da mucosa. Segundo Pluske et al. (1997) e Maiorka et al. (2002), o crescimento dos vilos ocorre quando o aumento na taxa de mitose é acompanhado de ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão. Quando ocorre diminuição na taxa de mitose e/ou aumento na taxa de extrusão, os vilos diminuem de tamanho. Entretanto, apesar da profundidade das criptas ter diminuído e a perda de epitélio pelos vilos ter aumentado com a idade, os vilos dos três segmentos intestinais continuaram a crescer (Capítulo 3). Isso sugere que a profundidade das criptas não indicou a taxa real de proliferação celular.

No que se refere aos efeitos da pectina, o presente estudo mostra que sua ingestão não influenciou a profundidade das criptas, mas diminuiu seus índices mitóticos, e que seus efeitos tornam-se mais acentuados à medida que aumenta

sua ingestão. Esses dados reforçam nosso ponto de vista de que o parâmetro profundidade das criptas não representou as reais condições de proliferação celular do intestino delgado dos frangos. A diminuição dos índices mitóticos explicam a redução no tamanho dos vilos intestinais apresentada pelos frangos que ingeriram pectina (Capítulo 3).

A ingestão de pectina aumentou a porcentagem de vilos com perda de epitélio e exposição de conjuntivo e a porcentagem de vilos com apoptose, e acentuou tais processos no duodeno, jejuno e íleo. Tais dados chamam atenção, pois demonstram que a ingestão de pectina provocou regressão dos vilos intestinais. A ingestão dessa fibra solúvel provoca redução do pH intestinal (Capítulo 2) e da digestibilidade da ração (SILVA, 2010). Dessa forma, o aumento da perda de epitélio e do processo de apoptose registrado no intestino delgado dos frangos que ingeriram pectina (presente estudo) deve ter sido resultante da acidificação do pH intestinal e da disponibilidade inadequada de nutrientes e energia para a manutenção da mucosa intestinal.

Além de aumentar o processo de morte celular e conseqüentemente a perda de tecidos epitelial e conjuntivo, a pectina também provocou redução no tamanho dos vilos (Capítulo 3), o que demonstra que a ingestão da fibra reduz drasticamente a área de digestão e absorção dos vilos do duodeno, jejuno e íleo. Isso explica porque o aumento na superfície luminal desses segmentos do intestino delgado (Capítulo 3) não propiciou aos frangos que ingeriram pectina melhor desempenho que o dos frangos que não ingeriram a fibra (SILVA, 2010).

De acordo com os resultados, a integridade do duodeno é afetado mais acentuadamente pela ingestão de pectina que o jejuno e íleo. A maior sensibilidade do duodeno tem sido registrada em diferentes tratamentos (PIRES, 2007; TORRES, 2010).

O epitélio de revestimento da mucosa intestinal atua primariamente como barreira de proteção do organismo. Dessa forma, nossos dados mostram que a ingestão de pectina não apenas reduziu a área de digestão e absorção intestinal dos frangos como também os deixou mais susceptíveis à ação de enteropatógenos.

CONCLUSÕES

O presente estudo mostra que a ingestão de pectina diminui a renovação celular e a integridade da mucosa do intestino delgado de frangos de corte. Do ponto de vista prático, mostra que a ingestão da fibra compromete a saúde intestinal.

REFERÊNCIAS

BOLELI, I.C; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 75-95.

CELIS JE, CELIS A. Individual nuclei in polykaryons can control cyclin distribution and DNA synthesis. **EMBO J**, v.4, n.5, p.1187-92, 1985.

CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F. et al. Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **Journal of Animal Science**, v.66, p.574-84, 1988.

CHENG, H.; LEBLOND, C. P. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cells in the mouse small intestine. IV. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. **American Journal of Anatomy**, v.141, p.537-61, 1974.

DOWLING, R.H. Cellular and molecular basis of intestinal and pancreatic adaptation. **Scandinavian Journal Gastroenterology**, v.27, p.64-67, 1992.

GERSCHENSON, R.E.; ROTELLO, R.J. Apoptosis a different type of a cell death. **The FASEB Journal**, v.6, p.2450-55, 1992.

GODDEERIS, B.M.; BOERSMA, W.J.A.; COX, E.; STERDO, V.D.; KOENEN, M.E.; VANCAENEGHEM, S.; MAST, J.; VAN, D. Nutrition and Health of the

Gastrointestinal Tract . In: Poultry Wageningen Academic Publishers, Paises Bajos, 97-134, 2002.

GOMIDE JR, M. H.; STERZO, E. V.; MACARI, M.; BOLELI, I. C. Use of Scanning Electron Microscopy for the Evaluation of Intestinal Epithelium Integrity. **Brazilian Journal of Animal Science**, v.33, n.6, p.1500-05, 2004.

HOCKENBERY, D. Defining apoptosis. **American Journal of Pathology**, v. 146, p. 16-19, 1995.

JIN, L.; REINOLDS, L.P.; REDNER, D.A. et al. Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation and morphology in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2270-2278, 1994.

KLASSING, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.1119-25, 1998.

LACY, E.; ITO, S. Ethanol-induced insult to the superficial rat gastric epithelium: A study of damage and rapid repair. In: ALLEN, A. (ed.). **Mechanisms of protection in the upper gastrointestinal tract**. Raven Press, NY., p.49-56, 1984.

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

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (ed.). **Fisiologia Aviária: Aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p. 113-23.

MAJNO, G.; JORIS, I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. **American Journal of Pathology**, v.146, p. 3-15, 1995.

MIYACHI, K.; FRITZLER, M.J.; TAN, E.M. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. **Journal of Immunology**, v.121, p.2228-34, 1978.

MONTEIRO, C.M.R.; SOUZA, N.T.M.; CARVALHO, R.G.; SOUZA, W.M. **Análise histológica do trato gastrintestinal de avestruzes jovens (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758)**, Biotemas, v.22, n.3, p.149-55, 2009.

NYACHOTI, C.M.; ATKINSON, J.L.; LEESON, S. Sorghum tannins: a review. **World's Poultry Science Journal**, v.53, p.5-21, 1997.

PIRES, D.L. **Efeito da inoculação via esofágica de microbiota intestinal sobre a hematologia, desenvolvimento e integridade intestinal de pintos de corte**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2007.

PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, p.215-36, 1997.

PORUS, R.L. Epithelial hyperplasia following massive small bowel resection in men. **Gastroenterology**, v.48, p. 753-57, 1965.

SVANES, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K.; SILEN, W. Restitution of the surface epithelium of the in vitro frog gastric mucosa after damage with hyperosmolar sodium chloride: Morphological and physiological characteristics. **Gastroenterology**, v.82, p. 1409-142, 1982.

SILVA, V.K. **Pectina na ração de frangos de corte: digestibilidade, parâmetros zootécnicos e metabolismo lipídico**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2010.

TORRES, K.A.A. **Avaliação do desempenho zootécnico, da função da mucosa intestinal e da microbiota ileal quando da substituição do milho pelo sorgo na ração de frangos de corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal-SP, 2010)

TUCCI, F. M. **Estudo da adição de virginiamicina e beta-glucanase exógena às rações de leitões e seus efeitos sobre o desempenho e morfologia**

intestinal. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 1999.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Development of the small intestine in heavy and light starin chicks before and after hatching. **British Poultry Science**, v.36, p.63-71, 1996.

YU, B.; CHIOU, W.S. The morphological changes of intestinal mucosa in growing rabbits. **Laboratory Animals**. v. 31, p. 254-63, 1997.