

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

**Respostas fisiológicas de pintos submetidos a diferentes
períodos de jejum: parâmetros hematológicos e intestinais.**

Eliana Saiuri Nakage
Zootecnista

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
2007

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

**Respostas fisiológicas de pintos submetidos a diferentes
períodos de jejum: parâmetros hematológicos e intestinais.**

**Eliana Saiuri Nakage
Prof. Dra. Isabel Cristina Boleli**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal,
como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutora em
Zootecnia (Produção Animal).

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
Janeiro de 2007

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ELIANA SAIURI NAKAGE – Natural de Jaboticabal – SP, nasceu no dia 24 de outubro de 1977. Em março de 1996 iniciou o curso de graduação em Zootecnia, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista – Câmpus de Jaboticabal, formando - se Zootecnista em julho de 2000. Ingressou no curso de pós-graduação em Zootecnia (Área de concentração: Produção Animal), em nível de Mestrado, em março de 2001, e concluiu o curso em janeiro de 2003. Em Março de 2003 iniciou o curso de doutorado (Área de concentração: Produção Animal) na mesma Instituição na qual realizou o curso de Graduação e Mestrado e concluiu o curso em janeiro de 2007. Foi bolsista do CNPq durante a Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado.

Aos meus pais,
Alberto e Saeko,
Por esses anos de ensinamentos,
Pelo amor, confiança e total apoio
durante a minha formação,
A minha dedicação especial.

*Ao meu marido e amigo,
José Otávio Berti Sorbara,
Pela compreensão nos momentos em que ficamos distantes,
Pelo amor, carinho, cumplicidade e incentivo,
O meu agradecimento especial.*

*À minha orientadora,
Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli,
Pelos ensinamentos e dedicação,
Pela paciência e confiança,
A minha homenagem especial.*

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Vera Maria Barbosa de Moraes, Ana Vitória Fisher da Silva, Alex Maiorka e Renato Luis Furlan, pelas valiosas sugestões e correções deste trabalho.

À minha irmã Ana Paula e meu cunhado Rodrigo, pelo auxílio e apoio nos momentos difíceis e por me dar um tesouro chamado Livia Miyuki.

Ao meu irmão Luis Alberto, por estar sempre ao meu lado me fazendo sorrir.

À Tia Luzia, por me acolher nesses 11 anos de estudo em Jaboticabal.

À Professora Laura Satiko Okada Nakaghi (Tia Satiko), por ser um exemplo de dedicação, e ao Tio Neno, Du, Léo e Ri, pelo total apoio nesses anos.

Aos demais familiares por saberem a importância do aprendizado e por todos os momentos felizes que passamos juntos.

Aos Professores Danísio Prado Munari e Elias Nunes Martins, pela colaboração e orientação nas análises estatísticas.

Ao Sr. Orandi, pela colaboração e dedicação, para que esse trabalho fosse realizado.

Aos amigos Dayane, Viviane, Elton e Rafael, pelo auxílio nos experimentos e pela disposição em sempre ajudar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida.

A todos aqueles que contribuíram e participaram de mais uma etapa da minha vida.

Sumário

	Página
I. CAPÍTULO 1 - Considerações gerais.....	1
II. CAPÍTULO 2 - Resposta hematológica de pintos machos e fêmeas submetidos a diferentes períodos de jejum.....	10
III. CAPÍTULO 3 - Parâmetros morfométricos do intestino delgado de pintos de corte submetidos a diferentes períodos de jejum.....	32
IV. CAPÍTULO 4 - Número de células caliciformes no intestino delgado de pintos de corte submetidos ao jejum pós-eclosão seguido de alimentação.....	59
V. CAPÍTULO 5 - Efeito da duração do jejum sobre a presença de células apoptóticas no intestino delgado de pintos machos e fêmeas.....	73
VI. CAPÍTULO 6- Considerações Finais	85

ABREVIATURAS

AB	Alcian blue
AVD	Altura dos vilos do duodeno
AVI	Altura dos vilos do íleo
AVJ	Altura dos vilos do jejuno
AVCLD	Área dos vilos do duodeno em corte longitudinal
AVCLJ	Área dos vilos do jejuno em corte longitudinal
AVCLI	Área dos vilos do íleo em corte longitudinal
CD	Comprimento do duodeno
CGP	Concentração de glicose plasmática
CID	Comprimento do intestino delgado
CJI	Comprimento do jejuno + íleo
CPP	Concentração de proteína plasmática
DVD	Densidade de vilos do duodeno
DVI	Densidade de vilos do íleo
DVJ	Densidade de vilos do jejuno
FVCA	Freqüência de vilos com células apoptóticas
H	Porcentagem de heterófilos
H/L	Relação heterófilo/linfócito
HCT	Taxa de hematócrito
HGB	Concentração de hemoglobina
I	Idade
L	Porcentagem de linfócitos
PAS	Ácido periódico de Shiff
PCD	Profundidade de cripta do duodeno
PCI	Profundidade de cripta do íleo
PCJ	Profundidade de cripta do jejuno
PVCTD	Perímetro do vilo do duodeno em corte transversal
PVCTI	Perímetro do vilo do íleo em corte transversal
PVCTJ	Perímetro do vilo do jejuno em corte transversal
RBC	Contagem global de hemácias
S	Sexo
TJ	Tempo de jejum
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

	Página
 CAPÍTULO 2	
Tabela 1. Peso corporal e concentração plasmática de glicose (CGP) e proteína total (CPP) de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	23
Figura 1. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a concentração plasmática de glicose (CGP) e proteína total (CPP), em pintos de corte.....	24
Tabela 2. Contagem global de hemácias (RBC), concentração de hemoglobina (HGB), taxa de hematócrito (HCT) e volume corpuscular médio (VCM), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	25
Figura 2. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a contagem global de hemácias (RBC), concentração de hemoglobina (HGB), taxa de hematócrito (HCT), em pintos de corte.....	26
Tabela 3. Porcentagem de heterófilo (H) e linfócito (L) e a relação entre eles (H/L), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	27
Figura 3. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a porcentagem de heterófilos (H) e a relação entre eles (H/L), em pintos de corte, aos cinco dias de idade.....	28
 CAPÍTULO 3	
Tabela 1. Peso corporal, comprimento total do intestino delgado e seus segmentos, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	46
Figura 1. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre o comprimento do duodeno, em pintos de corte.....	47
Tabela 2. Densidade de vilos do duodeno (DVD), jejuno (DVJ) e íleo (DVI), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	48
Figura 2. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a densidade de vilos do duodeno (DVD), jejuno (DVJ) e íleo (DVI), em pintos de corte com dois, três e cinco dias de idade.....	49

	Página
Tabela 3. Perímetro dos vilos em corte transversal do duodeno (PVCTD), jejuno (PVCTJ) e íleo (PVCTI), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	50
Tabela 4. Altura dos vilos (AV, μm) do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	51
Tabela 5. Área do vilo em corte longitudinal (AVCL, μm^2) dos vilos do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	52
Figura 3. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a área dos vilos (μm^2) do jejuno e íleo, em pintos de corte com dois e três dias de idade.....	53
Tabela 6. Profundidade de cripta (μm) do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	54
Figura 4. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a sobre a profundidade de cripta (μm) do duodeno, jejuno e íleo, em pintos de corte com um, quatro e cinco dias de idade.....	55

CAPÍTULO 4

Figura 1. Fotomicrografias de cortes histológicos de vilos intestinais corados com PAS (A) e Alcian Blue (B), para marcação de células caliciformes produzindo mucinas ácidas e neutras, respectivamente.....	64
Tabela 1. Número de células caliciformes PAS+, presentes nos vilos do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	68
Figura 2. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre o número de células caliciformes PAS+, presentes no duodeno, jejuno e íleo, em pintos de corte.....	69
Tabela 2. Número de células caliciformes AB+, presentes nos vilos do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).....	70
Figura 3. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre o número de células caliciformes AB+, presentes no duodeno de pintos de corte aos cinco dias de idade.....	71

CAPÍTULO 5

Figura 1. Fotomicrografias de cortes histológicos longitudinais de vilos intestinais apresentando (A) ou não (B) células apoptóticas.....	77
Tabela 1. Valores de p das variáveis: tempo de jejum (TJ), idade (I), sexo (S), e suas interações: tempo de jejum x idade (TJ x I), tempo de jejum x sexo (TJ x S), idade x sexo (I x S) e tempo de jejum x idade x sexo (TJ x I x S), sobre a frequência de células apoptóticas, nas vilosidades do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte.....	81
Tabela 2. Valores de p obtidos pelo teste do Qui-quadrado, referentes às comparações das frequências (duas a duas) de vilos com células apoptóticas realizadas entre os tratamentos, para cada sexo, e entre os sexos, para cada tratamento...	82
Figura 2: Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a frequência de vilos do duodeno e do íleo com morte celular do 1º ao 5º dia de idade.....	83

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PINTOS SUBMETIDOS A DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E INTESTINAIS

RESUMO – Foram avaliados parâmetros hematológicos e intestinais de pintos machos e fêmeas submetidos ao jejum de 24 e 48 horas pós-eclosão, seguido de alimentação até o 5º dia de idade. No Capítulo 2, foram avaliados a contagem global de hemácias, concentração de hemoglobina, taxa de hematócrito, volume corpuscular médio e contagem relativa de linfócitos e heterófilos para determinação da relação heterófilo/linfócito, concentração de glicose plasmática, concentração de proteína plasmática. No Capítulo 3, foram avaliados o peso corporal, comprimento do intestino delgado, área e altura de vilo, perímetro do vilo em corte transversal, densidade de vilo e profundidade de cripta, para duodeno, jejuno e íleo. No Capítulo 4, foi estudada a distribuição quantitativa de células caliciformes produtoras de mucinas neutras e ácidas, presentes nos vilos do intestino delgado. No Capítulo 5, foi avaliado se jejum pós-eclosão seguido de alimentação influencia a frequência de vilos com apoptose nos diferentes segmentos do intestino delgado. Jejum pós-eclosão e posterior alimentação não permitiu a recuperação até o 5º dia de idade, da maioria dos parâmetros sanguíneos e intestinais, o que resultou em perda de peso corporal dos pintos. Os dados mostram que jejum de água e ração pós-eclosão deve ser evitado, pois afeta os parâmetros sanguíneos e intestinais, podendo comprometer o desempenho do frango e deixá-lo susceptível à ação de agentes patogênicos e doenças.

Palavras-Chave: hematologia, intestino delgado, jejum, pintainho

PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF BROILERS SUBMITTED THE DIFFERENT PERIODS OF FASTING: HEMATHOLOGICAL AND INTESTINAL PARAMETERS

SUMMARY – The purpose of this present study was to evaluate physiological responses of male and female chicks submitted to fasting during 24 and 48 h post-hatching, followed by feeding until 5 day of age on hemathological and intestinal parameters. In Chapter 2 were carried out the total red blood cell count, haemoglobin concentration, haematocrit volume, mean corpuscular volume, and specific lymphocytes count and heterophil to determine the heterophil/lymphocytes ratio, plasma glucose concentration and plasma protein concentration. In Chapter 3 were evaluated body weight, small intestine length, height and area villus, villus perimeter in transversal slice, villus density and crypt depth, to duodenum, jejunum and ileum. In Chapter 4 was studied quantitative distribution of goblet cells responsible for production and secretion of neutral and acid mucins of small intestinal. On the Chapter 5 was evaluated if fasting post-hatching followed by feeding has influence in frequency of apoptotic cells in villus located in different segments of small intestine. Fasting post-hatching of 24 and 48 h and subsequent feeding had not allowed the recovery until the 5 day of age, from the most of blood and intestinal parameters that resulted in chick's reduced body weight. The results of this current experiment have show that delays in access to feed and water must be avoided because it affects blood and intestinal parameters having possibility to damage the subsequent performance and let them more susceptible to action of pathogenic agents and illness.

Key-words: chick, fast, hematology, small intestine

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

A seleção de aves para o setor de corte nos últimos anos priorizou seqüencialmente linhagens para maior rendimento de peito, maior ganho de peso em menor tempo e melhor conversão alimentar. Nas linhagens comerciais utilizadas atualmente, o peso corporal de frangos de corte aumenta 50 vezes em 40 dias (NOY, 2005). A primeira semana de vida passou a representar em torno de 17% do período de crescimento (LILBURN, 1998) ou menos.

Na fase pós-eclosão, as aves apresentam várias adaptações fisiológicas em resposta à mudança ambiental de intra para extra ovo, bem como, à troca de dieta endógena (fundamentalmente rica em proteínas e lipídeos presentes no saco vitelino) para uma dieta exógena (à base de proteínas e carboidratos complexos) e à aquisição de novos comportamentos. Devido a isso, o manejo inadequado dos pintos no início da vida pós-eclosão pode comprometer a expressão do potencial genético para crescimento do frango.

O desenvolvimento de técnicas adequadas de criação, entretanto, depende do conhecimento da biologia da ave, dos fatores de manejo que interferem negativamente no seu crescimento, e como e onde eles interferem, trazendo perdas econômicas ou reduzindo os ganhos.

Jejum pós-eclosão

Na avicultura industrial, a maioria das incubadoras utiliza o sistema de multi-estágios, onde os ovos provenientes de matrizes de diferentes idades, com diferentes pesos e períodos de estocagem são incubados juntos (MAIORKA, 2002). Além disso, para não influenciar negativamente a taxa de nascimento, opta-se freqüentemente pela retirada de todos os pintos do nascedouro ao mesmo tempo. Essa prática de incubação conhecidamente aumenta o assincronismo da eclosão dos pintos no nascedouro, e

submete os mesmos a períodos desnecessários e excessivos de jejum ainda no nascedouro.

Da eclosão até o alojamento, os pintos são submetidos a um período de jejum de aproximadamente 24 a 48 horas (HAGER & BEANE, 1983), que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e granja. Dessa maneira, os pintos que nascem primeiro podem sofrer cetose momentânea e desidratação (VIEIRA & MORAN, 1999) capazes de provocar efeitos negativos sobre o desempenho do frango e como consequência, perdas na produtividade avícola.

Segundo NIR & LEVANON (1993), a perda de peso dos pintos após atrasos de 24 e 48 horas no alojamento resulta em um aumento de um e dois dias para que as aves atingissem o peso de mercado, respectivamente. Por sua vez, VIERA & MORAN (1999) observaram que o atraso de 24 horas no alojamento provocou uma perda de 170g aos 49 dias de idade, bem como em um aumento de mortalidade. PINCHASOV & NOY (1993) também observaram que os pintos submetidos ao jejum de 48 horas, antes do alojamento, tiveram o ganho de peso comprometido. Adicionalmente, ALMEIDA (2002) verificou que aves com 72 horas de jejum pós-eclosão não apresentam ganho de peso compensatório com a alimentação, chegando aos 42 dias de idade com peso corporal menor que o das aves sem jejum.

Os efeitos negativos do jejum pós-eclosão estão diretamente relacionados com alterações nos processos fisiológicos envolvidos no desenvolvimento e adaptação pós-eclosão dos pintos de corte, e que atingem os aparelhos digestório e respiratório, sistema cardiovascular e células do sangue. Apenas para exemplificar, o jejum pós-eclosão provoca desidratação, acarretando perda de 5 a 10% no peso corporal (BAIÃO & CANÇADO, 1998), menor crescimento dos vilos (YAMAUCHI *et al.*, 1996; SHAMOTO & YAMAUCHI, 2000), perda de epitélio pelos vilos (GOMIDE *et al.*, 2003), menor habilidade de absorção de aminoácidos e outros nutrientes (NEWHEY *et al.*, 1970; BARANYIOVÁ & HOLMAN, 1976) e aumento nos valores de RBC (contagem de células vermelhas) e VCM (volume corpuscular médio), além de hipovolemia (MACARI *et al.*, 2002).

Parâmetros hematológicos

O hemograma é uma ferramenta importante para estabelecer-se um diagnóstico rápido da situação fisiológica dos animais. Alterações nos parâmetros sanguíneos que fujam dos valores de referência da espécie são indicativos da ocorrência de desvios funcionais que podem ser resultantes de problemas nutricionais, respiratórios, imunocitários e infecciosos.

Os dados sobre a série vermelha ou eritrocítica [contagem de glóbulos vermelhos (RBC), a dosagem de hemoglobina (HGB), o hematócrito (HCT) e o volume corpuscular médio (VCM)] fornecem dados sobre deficiências nutricionais e respiratórias, enquanto que os dados da série branca ou leucocitária (contagem total e diferencial de leucócitos) fornecem dados sobre a resposta imunocitária do organismo.

Os animais também podem responder fisiologicamente ao jejum com aumento na concentração total de proteína plasmática (BERRONG & WASHBURN, 1998; MANNING *et al.*, 1990), hematócrito e glicose plasmática, e com redução da taxa de leucócitos circulantes, de glicogênio hepático (BARTON *et al.*, 1987) e da concentração de sais no soro (CHAMBLEE *et al.*, 1989; SARTORIS & PORTNER, 1997).

De acordo com PIRES & BOLELI (2006, 2007), sob jejum pós-eclosão de 72 horas, os pintos apresentam diminuição da concentração de glicose e proteína plasmática, bem como os valores de MCV e HCT, deixando de ter o aumento dos valores de RBC, MCV e HCT observado nos pintos alimentados.

Trato Gastrointestinal

Nas aves, o período de transição de embrião para o estágio pós-eclosão é crítico para o desenvolvimento de todos os sistemas, o que torna imprescindível a utilização de formas de manejo, durante os primeiros dias pós-eclosão, que possam melhorar ou não atrapalhar o desempenho das aves durante todo o seu ciclo de vida.

Durante o desenvolvimento embrionário, os nutrientes são supridos pelo ovo e, após a eclosão, esses animais iniciam a utilização de nutrientes procedentes de dietas relativamente complexas. Essa mudança de forma de alimentação exige um período de adaptação no trato gastrointestinal da ave. A primeira semana de vida da ave tem

especial importância nesse processo de maturação, no qual o tamanho relativo do intestino e a produção enzimática são otimizados.

Imediatamente após a eclosão, as aves apresentam um rápido desenvolvimento estrutural e funcional do trato gastrointestinal, a fim de adaptar sua capacidade de digerir alimentos e assimilar nutrientes à dieta exógena. Esse desenvolvimento tem seu ápice entre o terceiro e o sétimo dia pós-eclosão, posteriormente sua taxa de crescimento é reduzida (MURAKAMI *et al.*, 1992). Dessa forma, um maior e precoce desenvolvimento intestinal deve proporcionar um crescimento maior e/ou mais rápido da ave, possibilitando à mesma, segundo UNI & FERKET (2004), demonstrar seu potencial genético de crescimento, resistir a infecções e doenças metabólicas.

O desenvolvimento funcional do trato digestivo também envolve a produção quantitativa e qualitativa das secreções digestivas (VIEIRA & POPHAL, 2000). No intestino delgado, os processos de digestão são completados e os nutrientes absorvidos pelos enterócitos (células epiteliais de revestimento interno da mucosa intestinal). 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.

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 células caliciformes e células enteroendócrinas, além dos enterócitos já citados, e que respondem pela defesa, processos pela proliferação e diferenciação das mesmas, e pela digestão e absorção (BOLELI *et al.*, 2002). Para que o sistema digestório se desenvolva, é fundamental a presença de alimento no intestino delgado (BARÁNYOVÁ, 1972; BARÁNYOVÁ & HOLMAN, 1976), como fonte de nutriente e de agentes tróficos.

Células caliciformes

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. Quando a secreção glicoprotéica é liberada pela célula, ela se torna altamente hidratada e forma uma camada de muco sobre a superfície do epitélio intestinal. As células caliciformes são menos abundantes no duodeno e aumentam em número em direção ao íleo, (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

A camada de muco tem função protetora, transportadora e seletiva, e seu desenvolvimento é influenciado pelo tempo de jejum ao qual a ave recém-eclodida é submetida (UNI *et al.*, 2003). Segundo GEYRA *et al.* (2001), o atraso no fornecimento da dieta pós-eclosão causa redução na área superficial dos vilos, resultando em diminuição no número de enterócitos e aumento na densidade de células caliciformes produzindo e secretando mucina ácida e neutra para a superfície dos vilos do jejuno e íleo.

Células apoptóticas

A morte celular ocorre por um dos seguintes processos: morte celular programada, apoptose e/ou oncose (HOCKENBERY, 1995; MAJNO & JORIS, 1995).

Morte celular programada ocorre em resposta a um programa genético, que determina quando e onde a mesma irá ocorrer. Ela é detectada normalmente durante a embriogênese, e em processos de regulação do desenvolvimento e da renovação celular (MELLO *et al.*, 2001).

Oncose ocorre quando há uma falha nas respostas adaptativas genéticas e metabólicas, que pode acontecer sob ação, entre outras coisas, de hipertermia, hipóxia ou altas concentrações de substâncias tóxicas, que geram uma falha catastrófica no metabolismo (GERSCHENSON & ROTELLO, 1992).

Apoptose ocorre quando a morte celular programada é induzida ou antecipada. Apoptose tem papel oposto ao da mitose no controle da proliferação celular (GERSCHENSON & 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 fossem alteradas por fatores como, por exemplo: jejum, estresse térmico, radiação, drogas, metais pesados, álcoois, hipóxia, inibidores metabólicos, agentes

oxidantes e infecções víricas (GERSCHENSON & ROTELLO, 1992; HOCKENBERY, 1995; MAJNO & JORIS, 1995).

De acordo com as definições acima, o processo de renovação celular (proliferação, diferenciação, morte e extrusão) consiste de um evento geneticamente programado, mas que pode ser minimizado ou acentuado pela ação de diferentes agentes, podendo tornar-se um processo envolvendo apoptose,

Segundo MAIORKA *et al.* (2001), sob jejum hídrico e/ou de ração após a eclosão ocorre aumento na densidade de vilos intestinais de pintos machos. Em caso de jejum prolongado, as células epiteliais passam a apresentar grandes vacúolos autofágicos lisossomais, caracterizando morte celular, sugerindo que o jejum provoca digestão intracelular (YAMAUCHI *et al.*, 1996), levando a um provável aumento na taxa de extrusão e conseqüente redução na altura dos vilos.

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi estudar respostas fisiológicas (gastrointestinais e sangüíneas), de pintos submetidos a diferentes períodos de jejum.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, J. G. **Efeito do intervalo de tempo entre o nascimento e o alojamento no desempenho, característica de carcaça e viscerais de frangos de corte provenientes de matrizes de diferentes idades.** 2002. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.V. Efeito do intervalo entre nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho dos frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 191-194, 1998.
- BARÁNYOVÁ, E. Influence of deutectomy, food intake and fasting on liver glycogen content in chickens after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v. 41, p. 149-159, 1972.

- BARANYIOVÁ, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed fasted chicken in the first week after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v. 45, p. 151-158, 1976.
- BARTON, B.A.; SCHRECK, C.B.; BARTON, L.D. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 2, p. 173-185, 1987.
- BERRONG, S.L.; WASHBURN, K.W. Effects of genetic variation on total plasma protein, body weight gains, and body temperature responses to heat stress. **Poultry Science**, v. 77, p. 379-385, 1998.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzáles, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 1ª ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 75-95.
- CHAMBLEE, T.N., *et al.* Effect of refeeding following short-term deprivation of feed or water, or both, on selected physiological parameters for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 68, p. 1619-1623, 1989.
- GERSCHENSON, L.E.; ROTELLO, R.J. Apoptosis: a different type of cell death. The **FASEB Journal**, v. 6, p. 2450-2455, 1992.
- GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of young chick. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 53-61, 2001.
- GOMIDE, M.H.J. *et al.* Efeitos da injeção de ácido ascórbico *in ovo* sobre a integridade dos vilos intestinais de pintos fêmeas submetidos a jejum pós-eclosão. **Anais do XV Congresso de Iniciação Científica - UNESP. Anais...**, 2003.
- HAGER, J.E.; BEANE, W.L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 62, p. 247-254, 1983.
- HOCKENBERY, D. Defining apoptosis. **American Journal of Pathology**, v. 146, p. 16-19, 1995.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 540 p.
- LILBURN, M.S. Practical aspects of early nutrition for poultry. **Journal Applied Poultry**

Research, v. 7, p. 420-424, 1998.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 1ª ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.

MAIORKA, A. *et al.* Effect of feed and/or water withdrawal on intestinal mucosa development in broiler chicks after hatching. **Poultry Science**, v. 80, p. 393-, 2001.

MAIORKA, A. **Efeito da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pinto de corte**. 2002. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

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

MANNING, R.O.; WYATT, R.D.; FLETCHER, O.J. Effect of cold acclimation on the broiler chicks' resistance to dietary aflatoxin. **Poultry Science**, v. 69, p. 915-921, 1990.

MELLO, M.L.S.; VIDAL, B.C.; MARIA, S.S. Morte celular. In: Carvalho, H.F.; Recco-Pimentel, S.M. **A célula 2001**. 1ª ed. Barueri: Manole, 2001. p. 275-281.

MURAKAMI, H.; AKIBA, Y.; HORIGUCHI, M. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal residual yolk. **Growth, Development and Ageing**, v. 56, p. 75-84, 1992.

NEWAY, H.; SANFORD, P.A.; SMITH, D.H. Effects of fasting on intestinal transfer of sugars and amino acids in vitro. **Journal of Physiology**, v. 208, p. 705-724, 1970.

NIR, I, LEVANON, M. Effect of posthatch holding time on performance and on residual yolk and liver composition. **Poultry Science**, v. 72, p. 1994-1997, 1993.

NOY, 2005. **Critical care: early nutrition in poultry**. In: Proceedings of Alltech's 21st Annual Symposium: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Nottingham, 2005.

PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v. 34, p. 111-120, 1993.

PIRES, D.L.; BOLELI, I.C. **Efeito do sexo e do jejum alimentar sobre parâmetros sangüíneos de pintos recém-eclodidos.** In: Anais da 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa, 2006.

PIRES, D.L.; MALHEIROS, E.B.; BOLELI, I.C. Efeito do sexo, da idade e do jejum alimentar sobre parâmetros sangüíneos e peso corporal, da bursa de fabrícius e do saco de vitelo de pintos de corte de pintos recém-eclodidos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2007 (submetido).

SARTORIS, F.J.; PORTNER, H.O. Increased concentrations of haemolymph Mg ++ protect intracellular pH and ATP levels during temperature stress and anoxia in the common shrimp *Crangon crangon*. **Journal of Experimental Biology**, v. 200, p. 785-792, 1997.

SHAMOTO, K.; YAMAUCHI, K. Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. **Poultry Science**, v. 79, p. 718-723, 2000.

UNI, Z., FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **Poultry Science**, v. 60, p. 101-111, 2004.

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**, v. 82, p. 320-327, 2003.

VIERA, S.L.; MORAN, E.T. Effects of egg of origin and chicks post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, p. 125-142, 1999.

VIEIRA, S.L.; POPHAL, S. Nutrição pós-eclosão de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, p. 189-199, 2000.

YAMAUCHI, K.; KAMISOYAMA, H.; ISSHIKI, Y. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. **British Poultry Science**, v. 37, p. 909-921, 1996.

CAPÍTULO 2 – Resposta hematológica de pintos machos e fêmeas submetidos a diferentes períodos de jejum.

Resumo - Foi avaliado o peso corporal e os parâmetros hematológicos de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos a diferentes períodos de jejum alimentar e hídrico (0, 24 e 48 h) seguido de alimentação *ad libitum* de água e ração. As aves foram analisadas com 1, 2, 3, 4 e 5 dias de idade. Foram analisados o peso corporal, hemograma (contagem global de hemácias, concentração de hemoglobina, taxa de hematócrito, volume corpuscular médio, porcentagem de linfócitos e heterófilos, relação heterófilo/linfócito, concentração de glicose e proteína plasmática. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Os pintos submetidos ao jejum pós-eclosão seguido de alimentação apresentaram alterações em todos os parâmetros analisados, exceção feita ao volume corpuscular médio e contagem relativa de linfócitos. Não ocorreu recuperação dos valores dos parâmetros alterados durante o período de alimentação pós jejum experimental. Os dados indicam que jejum pós-eclosão deve ser evitado.

Palavras-Chave: hemograma, jejum, pintainho

Introdução

Alterações nos parâmetros sanguíneos que fujam do intervalo padrão da espécie são indicativos da ocorrência de desvios funcionais que podem ser resultantes de problemas nutricionais, respiratório, imunocitários e infecciosos. Dessa forma, análise quantitativa e qualitativa dos componentes do sangue é uma maneira rápida de se obter informações do estado de saúde do animal. Diferentemente do que ocorre nos mamíferos, apenas recentemente é que o perfil hematológico das aves começou a receber maior atenção por parte dos pesquisadores.

Os dados sobre a série vermelha ou eritrocítica [contagem de glóbulos vermelhos (RBC), dosagem de hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT) e volume corpuscular médio (VCM)] fornecem dados sobre o estado nutricional e respiratório, enquanto que os dados da série branca ou leucocitária (contagem total e diferencial de leucócitos) fornecem dados sobre a resposta imunocitária do organismo.

Os linfócitos são os leucócitos predominantes nos frangos. A linfocitose pode ser decorrente de resposta fisiológica, estimulação antigênica e neoplasia linfóide. A linfopenia pode ocorrer devido à infecção sistêmica aguda, drogas imunossupressivas, radiação, administração de corticosteróides exógenos ou liberação de corticosteróides endógenos em situações de estresse. O heterófilo é a primeira linha de defesa em processos inflamatórios e apresenta atividade fagocítica eficiente. A heterofilia pode ocorrer devido às respostas fisiológicas, excesso de corticosteróides exógenos ou endógenos, processo inflamatório ou infeccioso (LATIMER & BIENZLE, 2000).

A razão heterófilo: linfócito (H:L) tem sido considerada indicadora de estresse em vários estudos (GROSS & SIEGEL, 1980; DAVIDSON & FLACK, 1981; GROSS & SIEGEL, 1983; GONZALES *et al.*, 2003; THRALL *et al.*, 2004) e tem sido aplicada como critério de avaliação do desempenho na produção e reprodução de frangos (AL-MURRANI *et al.*, 2006).

Da eclosão até o alojamento, os pintos são submetidos a um período de jejum de aproximadamente 24 a 48 horas (HAGER & BEANE, 1983), que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e granja. O jejum pode ser um fator de estresse para os animais, os quais podem responder fisiologicamente com perda de

peso corporal, elevação na razão H:L (GROSS & SIEGEL, 1986), elevação na concentração total de proteína plasmática (MANNING *et al.*, 1990; BERRONG & WASHBURN, 1998), e glicose plasmática (BARTON *et al.*, 1987).

Durante curto período de jejum, a concentração de glicose plasmática (CGP) é mantida pela glicogenólise hepática. Entretanto, sob jejum prolongado pode ocorrer hipoglicemia (CAMPBELL, 2004).

A concentração normal de proteínas plasmáticas é essencial à manutenção da pressão coloidosmótica normal que preserva o volume e o pH sanguíneos normais. Contudo, em frangos, hiperproteinemia pode ser estabelecida como resultado de desidratação, inflamação aguda ou crônica (CAMPBELL, 2004).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os parâmetros hematológicos, bem como a concentração de glicose e proteína plasmática, de pintos de ambos os sexos, submetidos a diferentes períodos de jejum hídrico e alimentar (de 0, 24 e 48 horas) seguido de alimentação.

Material e Métodos

Ovos férteis ($57,34 \pm 0,81$ g) de matrizes de 29 semanas de idade (Cobb[®]), obtidos de incubatório comercial, foram incubados a 37,8°C e 60% UR, em duas incubadoras com giro automático a cada duas horas (Modelo IP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG). No 18º dia de incubação, os ovos foram transferidos para os nascedouros (Modelo NP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG), onde foram mantidos, à mesma temperatura e UR de incubação até a eclosão.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, seguindo fatorial 3 x 2, sendo três períodos de jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) e dois sexos (machos e fêmeas), para cada idade (2, 3, 4 e 5 dias de idade), exceto para 1 dia de idade, o qual seguiu fatorial 2 x 2, sendo dois períodos de jejum pós-eclosão (0 e 24 h) e dois sexos (machos e fêmeas).

Após a pesagem e sexagem pela análise das asas, pintos machos e fêmeas recém-eclodidos foram divididos em três grupos submetidos, cada um deles, a um dos

seguintes tipos de regime alimentar: alimentação *ad libitum* com água e ração (jejum de 0 h); jejum de água e ração por 24 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 24 h); jejum de água e ração por 48 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 48 h). Os pintos foram mantidos em criadeiras (CP, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG) e alimentados com ração pré-inicial, formulada à base de milho e farelo de soja com 22% de PB e 2900 kcal de EM/kg. Nas diferentes idades, quatro aves por grupo por sexo foram sacrificadas por decapitação para coleta de sangue.

O sangue foi coletado em “ependorfs” contendo uma gota (EDTA 6 g/dL e KF 12 g/dL) de anticoagulante/3mL de sangue (Glistab, cat. 29, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG). Em seguida, amostras de 20µL de sangue por ave foram utilizadas para contagem global de hemácias (RBC, $\times 10^6/\text{mL}$), concentração de hemoglobina (HGB, g/dL), avaliação da taxa de hematócrito (HCT, %) e volume corpuscular médio (VCM, fL). Foram realizadas duas leituras de cada amostra em um contador automático de células sangüíneas (Mod. 550, Celm, Barueri, SP).

Para contagem diferencial de leucócitos, os esfregaços sangüíneos foram corados individualmente com Rosenfeld modificado (0,97g Giemsa + 054g May-Grunwald + 1L Metanol + 0,5g Wright). Foram analisados 100 leucócitos de cada esfregaço sangüíneo para contagem relativa de linfócitos e heterófilos para determinação da relação heterófilo/linfócito (H/L) (conforme GONZALES *et al.*, 2003).

As amostras de sangue foram centrifugadas por 15 minutos (5000 rpm à 4°C) utilizando-se uma microcentrifuga (Costar). O plasma foi retirado com micropipeta e armazenado em tubos tipo “ependorf”, devidamente identificados, e congelados a – 20°C, em freezer, para posteriores quantificações de concentração de proteína total e de glicose. Para dosagem de glicose plasmática foi utilizado o Kit Glicose PAP liquiform (Labtest, 500mL, cat. 84, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG). As amostras foram preparadas e os cálculos realizados conforme especificações do fabricante. Foram determinadas duas leituras para cada ave no espectrofotômetro com comprimento de onda de 505nm. A concentração de proteína no plasma foi realizada por ensaio bioquímico convencional de Bradford (BRADFORD, 1976), utilizando-se diferentes concentrações de albumina sérica para a obtenção da curva padrão. As amostras de

plasma foram preparadas utilizando-se 15µL de plasma adicionados a 20 µL de água e 1mL de solução de Bradford (50mg Comassie Brilliant Blue G + 25mL de Etanol 95% + 50mL ácido ortofosfórico 85% + 400mL água bidestilada). Foram realizadas duas leituras por ave no espectrofotômetro com comprimento de onda de 595nm.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, através do procedimento GLM do SAS® (2002). Para atender as pressuposições da análise de variância foram utilizadas transformações individuais por meio do procedimento Guided Data Analysis do SAS (2002). As transformações utilizadas foram $\log_{10}$ para as variáveis: PC, CGP, RBC, HGB, HCT e relação H/L e a inversa para CPP. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O peso corporal (PC) das aves (Tabela 1) foi influenciado pelo sexo, apenas com um dia de idade ($p < 0,05$), sendo as fêmeas mais pesadas do que os machos. O PC também foi influenciado ($p < 0,01$) pelo tempo de jejum e nas cinco idades estudadas. Com um dia de idade, as aves submetidas ao jejum de 24 h apresentaram menor PC do que as alimentadas *ad libitum*. Aos dois e três dias de idade, o PC foi menor quanto maior o tempo de jejum. Com quatro e cinco dias de idade, as aves em jejum de 48 h apresentaram menor PC do que as submetidas a 24 h de jejum e as alimentadas *ad libitum*. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

Esses resultados mostram que jejum de 24 h causa redução significativa no PC dos pintos, mas que o PC é recuperado 24 h após o início da alimentação. Eles parecem explicar porque GONZALES *et al.* (1999, 2000) não registraram efeito do jejum de 24 h sobre o PC à idade de abate em pintos da linhagem Avian Farms. Por outro lado, eles sugerem que o atraso em um dia para atingir o peso de abate, registrado por NIR & LEVANON (1993) para aves alojadas 24 horas após nascimento, pode estar relacionado com fatores adicionais ou fatores outros do que o jejum.

Em relação ao jejum de 48 h, os dados mostram que os pintos não apresentaram recuperação do PC nos três dias de alimentação que se seguiram ao período de jejum,

chegando ao 5º dia de idade com PC em torno de 10% menor do que o grupo controle. Estes dados concordam com os obtidos por BAIÃO & CANÇADO (1998) e explicam porque NIR & LEVANON (1993) registraram dois dias de atraso no ganho de peso de abate nas aves submetidas ao jejum de 48 h.

A concentração de glicose plasmática (CGP) (Tabela 1) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com dois dias de idade e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois, três, quatro e cinco dias de idade. Houve interação ($p < 0,05$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com dois, três, quatro e cinco dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 1) mostrou que, aos dois dias de idade, houve diferença entre machos e fêmeas alimentados *ad libitum*, sendo a CGP maior nos machos do que nas fêmeas. Em relação ao tempo de jejum, houve efeito do mesmo apenas nos machos, tendo as aves submetidas ao jejum de 24 h, menor CGP do que as alimentadas *ad libitum* e as submetidas ao jejum de 48 h. Aos três dias de idade, houve efeito do tempo de jejum em ambos os sexos, sendo que as aves submetidas ao jejum de 24 h apresentaram menor CGP do que as alimentadas *ad libitum* e as submetidas ao jejum de 48 h. Além disso, diferentemente dos machos, as fêmeas submetidas ao jejum de 48 h, apresentaram CGP menor do que as alimentadas *ad libitum*. Aos quatro dias de idade, apenas os machos apresentaram efeito do jejum, e como ocorrido nas fêmeas na idade anterior, os machos submetidos ao jejum de 24 e 48 h apresentaram menor CGP do que os alimentados *ad libitum*. Aos cinco dias de idade, machos submetidos ao jejum de 24 h apresentaram menor CGP do que as fêmeas. Todavia, quando submetidos ao jejum por 48 h, eles apresentaram maior CGP do que as fêmeas. Apenas as fêmeas apresentaram efeito do jejum, sendo que as submetidas a 24 h de jejum apresentaram maior CGP do que as alimentadas *ad libitum* e as submetidas ao jejum de 48 h.

O nível de glicose no plasma é determinado pelo equilíbrio entre a quantidade de glicose que entra e que sai da corrente sangüínea, tendo como principais determinantes a ingestão alimentar, a intensidade de sua entrada nas células dos músculos, tecidos adiposos e outros órgãos, e a atividade glicostática do fígado (GANONG, 1995). Durante o jejum, o glicogênio hepático é decomposto e o fígado lança glicose na corrente sangüínea. Quando o jejum é mais prolongado o glicogênio é esgotado e há

maior gliconeogênese a partir de aminoácidos e do glicerol no fígado, ocorrendo declínio da glicemia, podendo até atingir os níveis de hipoglicemia (GANONG, 1995; CAMPBELL, 2004).

De acordo com os dados, a CGP diferiu durante o jejum, coincidindo com o já registrado por outros autores como GARCIA-RODRIGUEZ *et al.* (1987a, b), SARTORI *et al.*, (1995) e RODRIGUEZ *et al.* (2005). Após o início da alimentação, os machos submetidos ao jejum de 24 h apresentaram quadros de hipoglicemia alternados com quadros de glicemia normal, enquanto que as fêmeas submetidas ao mesmo tratamento apresentaram quadro hipoglicêmico apenas no terceiro dia de idade, ou seja, 48 h após o início da alimentação pós-jejum. Os machos submetidos ao jejum de 48 h apresentaram quadro de hipoglicemia 48 h após o início da alimentação, enquanto que nas fêmeas a redução na taxa de glicemia ocorreu com 24 h de alimentação. Isso mostra que machos e fêmeas diferem quanto à manutenção da glicemia frente ao jejum pós-eclosão e que fêmeas conseguem mantê-la mais facilmente do que os machos. Segundo RODRIGUEZ *et al.* (2005), essas alterações podem estar relacionadas à intensa ingestão de ração e água que ocorre após jejum e ao sistema de controle da CGP pela insulina e glucágon frente à alimentação pós-jejum. Neste caso, as células usam menos glicose acarretando aumento da mesma no plasma (GARCIA-RODRIGUEZ *et al.*, 1987a, b).

A concentração de proteína plasmática (CPP) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas cinco idades e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) no 2º, 3º, 4º e 5º dia de idade (Tabela 1). Houve interação significativa entre sexo e idade para CPP no 2º, 3º e 5º dia (Figura 1). No primeiro dia de idade, os machos apresentaram CPP maior do que as fêmeas, e as aves alimentadas *ad libitum* apresentaram maior CPP do que as aves em jejum de 24 e 48 h, nas demais idades houve interação entre o tempo de jejum e sexo ($p < 0,01$). Aos dois dias de idade, a CPP foi maior nos machos alimentados *ad libitum* e em jejum de 48 h do que nas fêmeas do mesmo grupo. Além disso, machos em jejum de 24 h apresentaram menor CPP do que os alimentados *ad libitum*, enquanto que os submetidos ao jejum de 48 h, apresentaram CPP maiores. As fêmeas, por sua vez, apresentaram maior CPP quanto maior o tempo de jejum. Aos três dias de idade, a CPP continuou maior nos machos alimentados *ad libitum* do que nas fêmeas de mesmo

tratamento. Os machos submetidos ao jejum de 48 apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) na CPP em relação aos machos alimentados *ad libitum*, enquanto que as fêmeas submetidas ao jejum de 24 h apresentaram aumento, e as submetidas a 48 h de jejum um aumento em relação ao grupo controle. Aos cinco dias de idade, os machos apresentaram redução significativa da CPP com o aumento do jejum. Nas fêmeas, apenas as submetidas a 48 h de jejum apresentaram CPP menor do que as alimentadas *ad libitum*.

De acordo com os dados acima, fêmeas submetidas ao jejum de 24 h mantiveram CPP maior que o grupo controle com até 48 h de alimentação pós-jejum, enquanto que as fêmeas submetidas ao jejum de 48 h mantiveram CPP mais elevada durante todo o período analisado. No caso dos machos, os submetidos ao jejum de 48 h tiveram aumento da CPP durante o jejum e com o início da alimentação os valores de CPP ficaram menores do que os do grupo controle (alimentados *ad libitum*). Os machos submetidos a jejum de 24 h mostraram redução da CPP com o início da alimentação, que foi mantida por três dias. Isso significa que, durante o período experimental do presente estudo, machos e fêmeas não conseguiram equilibrar as oscilações na CPP com as variações apresentadas pelos pintos alimentados *ad libitum*.

Nossos resultados concordam com os de AUGUSTINE (1982), que observou que logo após 48 h de jejum perus apresentaram aumento da CPP. Segundo este autor, isso ocorreu devido à redução do volume plasmático provocado pela desidratação das aves durante o período de jejum.

A contagem de glóbulos vermelhos (RBC) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas cinco idades, pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com um, dois, três e cinco dias de idade, e houve interação significativa ($p < 0,01$) entre sexo e jejum no 3º e 4º dia de idade (Tabela 2 e Figura 2). Com um e dois dias de idade, os machos apresentaram maior RBC do que as fêmeas, e as aves ao final do jejum tiveram maior RBC do que as alimentadas. Com três e quatro dias de idade, o RBC foi maior nos machos submetidos a 24 h de jejum do que de 48 h e nos alimentados *ad libitum*, enquanto que nas fêmeas, no terceiro dia, foi registrado valor menor de RBC nas submetidas ao jejum de 48 h. Além disso, tanto no terceiro como no quarto dia de vida, as fêmeas alimentadas

tiveram valores maiores de RBC do que os machos de mesmo tratamento. Já no quinto dia de idade quanto maior o tempo de jejum menor o valor de RBC.

A dosagem de hemoglobina (HGB) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com um, dois e três dias de idade, pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com um, dois, três e cinco dias de idade, e ocorreu interação ($p < 0,05$) entre sexo e jejum no 2º, 3º e 4º dias de idade. Com um dia de idade (Tabela 2), os machos apresentaram maior HGB do que as fêmeas, e as aves em jejum de 24 h apresentaram maior HGB do que as alimentadas *ad libitum*. Aos dois dias de idade (Figura 2), os machos submetidos ao jejum de 48 h apresentaram maior HGB do que os alimentados *ad libitum*. Aos três dias de idade, HGB foi menor nos machos do que nas fêmeas, nas aves submetidas à alimentação *ad libitum*, e foi maior nos machos submetidos ao jejum de 48 h. Além disso, os machos apresentaram maior valor de HGB, quanto maior foi o tempo de jejum, enquanto que nas fêmeas o valor de HGB foi menor, quanto maior foi o tempo de jejum. Aos quatro dias de idade, os machos submetidos à alimentação *ad libitum* continuaram apresentando HGB menor do que nas fêmeas de mesmo tratamento. Os machos submetidos a 24 h de jejum continuaram apresentando HGB maior que os alimentados *ad libitum*. Aos cinco dias de idade, independentemente do sexo, quanto maior o tempo de jejum menor foi o valor de HGB.

O hematócrito (HCT) foi influenciado pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com um, três, quatro e cinco dias de idade, pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com um, três e cinco dias de idade e houve interação entre sexo e jejum ($p < 0,01$) nas aves com três e quatro dias de idade (Tabela 2). Com um dia de idade, os machos apresentaram maior HCT do que as fêmeas, e as aves em jejum de 24 h apresentaram maior HCT do que as alimentadas *ad libitum*. Com dois dias de idade, não houve diferença entre os sexos e entre os tratamentos quanto aos valores de HCT. Aos três e quatro dias de idade (Figura 2), o HCT foi menor nos machos submetidos à alimentação *ad libitum* do que nas fêmeas do mesmo tratamento. Os machos submetidos a 24 h de jejum apresentaram maior HCT do que os alimentados *ad libitum*. Nas fêmeas, ocorreu diferença entre os tempos de jejum apenas no 3º dia de idade, quando fêmeas alimentadas *ad libitum* e submetidas ao jejum de 24 h apresentaram maior HCT do que as submetidas ao jejum de 48 h.

O volume corpuscular médio (VCM) foi influenciado pelo sexo ($p < 0,05$), nas aves com três e quatro dias de idade, pelo jejum ($p < 0,05$) com dois e três dias de idade e não houve interação entre sexo e jejum ($p > 0,05$) em nenhuma das idades (Tabela 2). Assim, com um dia de idade os valores de VCM foram os mesmos para ambos os sexos e para os tratamentos. Com dois dias de idade, machos e fêmeas apresentaram VCM similares, sendo que as submetidas à alimentação *ad libitum* e jejum de 24 h apresentaram maior VCM do que as aves em jejum de 48 h. Com três dias de idade as aves submetidas ao jejum de 48 h apresentaram menor VCM do que as alimentadas *ad libitum*. No quarto dia de idade, os machos continuaram apresentando VCM maior do que as fêmeas e não houve diferença entre os tratamentos. Já no 5º dia de idade, não foram registradas diferenças nos valores de VCM entre os sexos, nem entre os tratamentos.

O eritrograma mostrou que, no início da vida pós-eclosão (1º e 2º dia), os machos apresentam valores maiores de RBC, HCT e HGB do que as fêmeas, e que essa diferença entre os sexos se inverte no 5º dia. Esses dados indicam que machos apresentam maior potencial respiratório do que as fêmeas nos primeiros dias extra-ovo. O fato das fêmeas adquirirem maior potencial respiratório do que os machos no 5º dia sugere uma relação entre aumento do potencial de trocas gasosas com o maior ganho de peso que as fêmeas apresentaram em relação aos machos. Entretanto, de acordo com MAXWELL *et al.* (1986), na terceira e a quinta semana de idade os machos adquirem maior crescimento corporal e, conseqüentemente, maior metabolismo oxidativo do que as fêmeas.

Ainda em relação à série vermelha, os dados mostraram que os valores de RBC, HGB e HCT aumentaram sob jejum, retornaram aos valores apresentados pelo grupo controle quando a ingestão de água e ração foi iniciada, e ficaram menores do que os valores do grupo controle após quatro e cinco dias de ingestão de água e ração.

Segundo THRALL *et al.* (2004), nas aves, como nos mamíferos, o HCT é afetado pela alteração no volume plasmático, bem como pelo número e tamanho dos eritrócitos. Com o fornecimento de água e ração após jejum, entretanto, ocorre queda nos valores dos três primeiros parâmetros, em decorrência, provavelmente, como mencionado anteriormente, à grande ingestão de água, que altera a relação desses parâmetros com

os valores de VCM. Sendo assim, os aumentos nos valores de RBC, HGB e HCT registrados para aves submetidas ao jejum (no presente trabalho) devem estar relacionados com a redução no volume plasmático provocado pelo jejum hídrico, enquanto que a redução dos mesmos após fornecimento de água e ração deve estar relacionada com o grande volume de água ingerido após jejum (ingestão compensatória).

Aumento dos valores de RBC, HCT e HGB sob jejum de água e ração também foi registrado por AUGUSTINE (1982), MAXWELL *et al.* (1990a) e KNOWLES *et al.* (2002).

É importante considerar que redução do volume plasmático sob condições de jejum, ou seja, sem a possibilidade de ingestão de água, leva ao aumento da viscosidade sangüínea, podendo gerar *déficit* respiratório e metabólico em função do *déficit* cardíaco e, portanto, circulatório (ROSÁRIO *et al.*, 2004).

A porcentagem de heterófilos (H) (Tabela 3) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com cinco dias de idade; pelo tempo de jejum ($p < 0,01$), nas aves com quatro dias de idade e houve interação entre sexo e jejum ($p < 0,01$), para aves com cinco dias de idade. Com quatro dias de idade, as aves alimentadas *ad libitum* e em jejum de 24 h apresentaram maior H do que as submetidas a 48 h de jejum. Aos cinco dias de idade, de acordo com a interação sexo e jejum (Figura 3), machos submetidos a 24 h de jejum apresentaram maior porcentagem de H do que as fêmeas.

A porcentagem de linfócitos (L) não foi influenciada pelo sexo e pelo tempo de jejum ($p > 0,05$), e não ocorreu interação entre sexo e jejum em nenhuma das idades analisadas (Tabela 3).

A relação heterófilo: linfócito (H/L) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) no 5º dia de idade, e pelo jejum ($p < 0,01$) no 4º dia de idade e houve interação entre sexo e jejum ($p < 0,01$) no 5º dia, similarmente ao observado e descrito para a porcentagem de H, indicando que os efeitos do sexo e jejum sobre a relação H/L foi na verdade decorrente dos efeitos dos mesmos sobre a porcentagem de H e não de L.

Nossos dados mostraram que o jejum pós-eclosão não provocou alterações na porcentagem de H e L. Algumas alterações foram registradas, mas apenas no 4º e 5º dia de vida, ou seja, três e quatro dias após o final do jejum e em período de ingestão

de ração e água. Machos e fêmeas responderam de forma contrária ao jejum de 24 h, ou seja, os machos apresentaram heterofilia, enquanto as fêmeas apresentaram heteropenia. Esses dados concordam com GROSS (1992), segundo o qual, estresse durante o início da vida da ave pode ter impacto a longo prazo. Segundo MAXWELL *et al.* (1990a), quando ocorre heteropenia, a H/L não pode ser um indicativo seguro de estresse, mas heterofilia pode ser um indicativo seguro de estresse, sendo que os valores 0,2; 0,5 e 0,8 de H/L são representativos de baixo, ótimo e alto grau de estresse, respectivamente. Segundo GROSS & SIEGEL (1983) e THRALL *et al.* (2004), elevação na relação H/L pode ser utilizada como indicador de estresse. Neste contexto nossos dados de leucócitos se tornam muito interessantes, pois sugerem maior sensibilidade dos machos do que das fêmeas ao jejum pós-eclosão, coincidindo com os dados de GOMIDE *et al.* (2003).

Nossos resultados diferiram de MAXWELL *et al.* (1990b), que observaram redução no número de linfócitos em aves restritas, e que as fêmeas apresentavam maior número de linfócitos do que os machos. Eles também discordam dos dados de MAXWELL *et al.* (1990a), que não observaram diferença quanto a H em frangos submetidos à restrição alimentar. Aumento na relação H/L em pintos submetidos a jejum alimentar também foi registrado para pintos submetidos ao jejum por GROSS & SIEGEL (1986).

De acordo com CAMPBELL & DEIN (1984) os parâmetros hematológicos podem variar entre as espécies, sexo, idade, meio ambiente e influências hormonais. Em nosso estudo confirmamos que sexo, idade e alimentação tiveram influência sobre os parâmetros hematológicos.

Conclusões

Pintos machos e fêmeas submetidos ao jejum pós-eclosão de 24 e 48 h, não conseguem recuperar totalmente os valores de PC, CGP, CPP, RBC, HGB, HCT, H e H/L mesmo sendo alimentados com água e ração até o 5º dia de idade. Ou seja. O

jejum pós-eclosão causa um desequilíbrio hematológico não recuperável com alimentação com ração e água durante a primeira semana de vida.

Tabela 1. Peso corporal e concentração plasmática de glicose (CGP) e proteína total (CPP) de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Peso Corporal (g)				
Sexo	Macho	40,14 B	41,55	52,75	65,18	76,52
	Fêmea	41,93 A	42,76	54,15	64,11	77,30
Jejum	0 h	42,54 A	46,11 A	58,68 A	66,72 A	79,62 A
	24 h	39,47 B	42,74 B	53,48 B	67,77 A	78,06 A
	48 h	-	37,65 C	46,56 C	59,82 B	71,80 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,0309	0,4324	0,9305	0,4333	0,6141
	Jejum (J)	0,0014	<0,0001	<0,0001	0,0036	0,0085
	JxS	0,7200	0,2794	0,9183	0,3996	0,7625
CV (%)*		1,16	1,62	1,82	1,78	1,54
		CGP (mg/dL)				
Sexo	Macho	212,48	207,02	207,90	262,94	243,66
	Fêmea	205,98	183,24	200,38	272,37	247,38
Jejum	0 h	220,83	193,75	233,17	301,66	230,93
	24 h	199,30	167,68	167,17	253,02	272,77
	48 h	-	228,88	216,23	248,29	236,49
Probabilidade	Sexo (S)	0,7939	0,0019	0,3256	0,2383	0,8441
	Jejum (J)	0,1248	<0,0001	<0,0001	0,0087	0,0040
	JxS	0,2781	0,0281	0,0023	0,0058	<0,0001
CV (%)*		2,24	1,75	1,57	2,18	1,29
		CPP (g/dL)				
Sexo	Macho	2,79 A	2,92	2,49	2,71 A	2,55
	Fêmea	1,79 B	2,22	2,36	2,34 B	2,18
Jejum	0 h	2,29	2,28	2,35	2,88 A	2,60
	24 h	2,32	2,20	2,61	2,20 B	2,26
	48 h	-	3,36	2,26	2,54 B	2,22
Probabilidade	Sexo (S)	<0,0001	<0,0001	0,0406	0,0009	0,0024
	Jejum (J)	0,8422	<0,0001	0,0006	0,0012	0,0019
	JxS	0,6465	<0,0001	<0,0001	0,1079	<0,0001
CV (%)**		4,62	8,44	6,46	12,77	8,04

A-C: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

** estatística da análise de variância transformada pela inversa ($1/\text{CPP}$).

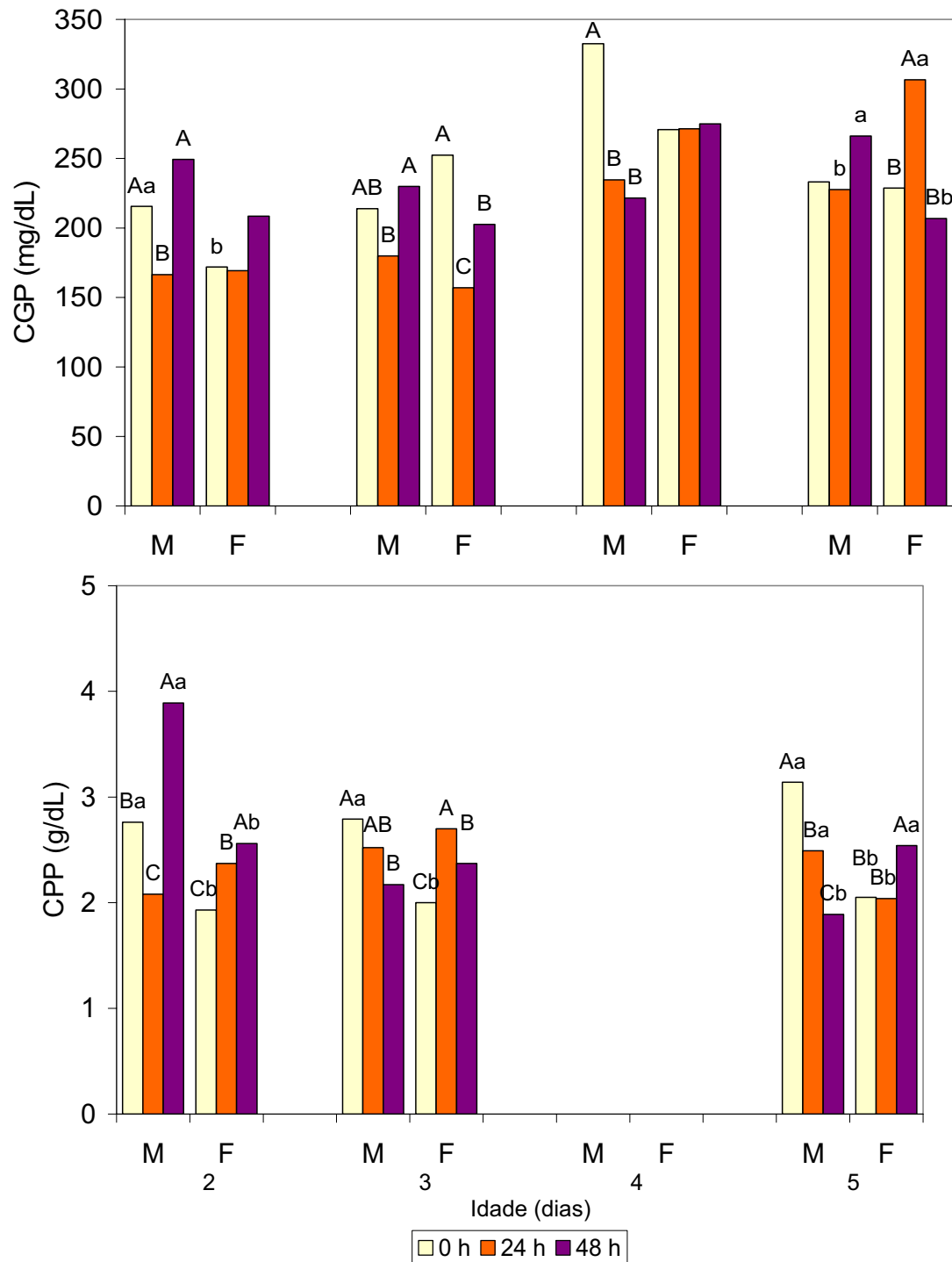


Figura 1. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a concentração plasmática de glicose (CGP) e proteína total (CPP), em pintos de corte.

A-C: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 2. Contagem global de hemácias (RBC), concentração de hemoglobina (HGB), taxa de hematócrito (HCT) e volume corpuscular médio (VCM), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		RBC ($10^6/\text{mL}$)				
Sexo	Macho	2,09 A	2,13 A	2,34	1,86	1,98 B
	Fêmea	1,83 B	1,98 B	2,95	2,12	2,21 A
Jejum	0 h	1,87 B	1,98 B	3,04	1,97	2,47 A
	24 h	2,03 A	2,02 AB	2,84	2,06	2,04 B
	48 h	-	2,22 A	2,00	1,91	1,65 C
Probabilidade	Sexo (S)	<0,0001	0,0325	0,0011	0,0096	0,0363
	Jejum (J)	0,0003	0,0175	0,0002	0,4283	<0,0001
	JxS	0,2824	0,1242	<0,0001	0,0011	0,5083
CV (%)*		6,74	12,64	11,96	18,86	19,97
		HGB (g/dL)				
Sexo	Macho	10,71 A	11,00	12,50	9,69	10,62
	Fêmea	9,68 B	9,83	15,10	10,56	11,32
Jejum	0 h	9,65 B	9,68	13,92	9,77	13,30 A
	24 h	10,64 A	10,50	14,54	10,92	10,53 B
	48 h	-	11,42	13,12	9,63	8,40 C
Probabilidade	Sexo (S)	0,0008	0,0021	0,0094	0,0971	0,2743
	Jejum (J)	0,0013	0,0016	0,0199	0,0621	<0,0001
	JxS	0,1191	0,0448	<0,0001	0,0018	0,2409
CV (%)*		2,64	3,66	7,81	5,75	7,19
		HCT (%)				
Sexo	Macho	26,25 A	23,65	27,40	21,95	23,01 B
	Fêmea	20,54 B	22,42	33,39	24,18	26,45 A
Jejum	0 h	20,68 B	22,48	34,96	23,04	28,40 A
	24 h	25,61 A	23,11	32,66	23,52	24,46 B
	48 h	-	23,84	22,13	22,30	22,17 C
Probabilidade	Sexo (S)	0,0173	0,1714	0,0046	0,0401	0,0181
	Jejum (J)	0,0316	0,5748	<0,0001	0,5764	<0,0001
	JxS	0,4571	0,1556	<0,0001	0,0013	0,5001
CV (%)*		5,85	3,71	3,20	3,82	4,74
		VCM (fL)				
Sexo	Macho	111,38	113,23	117,06 A	118,12 A	119,52
	Fêmea	112,12	113,03	112,62 B	113,83 B	119,85
Jejum	0 h	110,69	113,80 A	116,06 A	117,44	118,67
	24 h	111,74	114,42 A	115,16 AB	114,23	119,94
	48 h	-	111,21 B	111,61 B	116,75	120,67
Probabilidade	Sexo (S)	0,5282	0,4583	0,0013	0,0103	0,8934
	Jejum (J)	0,0629	0,0206	0,0258	0,2455	0,3449
	JxS	0,7587	0,0646	0,5689	0,3553	0,6367
CV (%)		2,09	2,44	3,20	3,46	2,40

A-C: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância da variável transformada em $\log_{10}$.

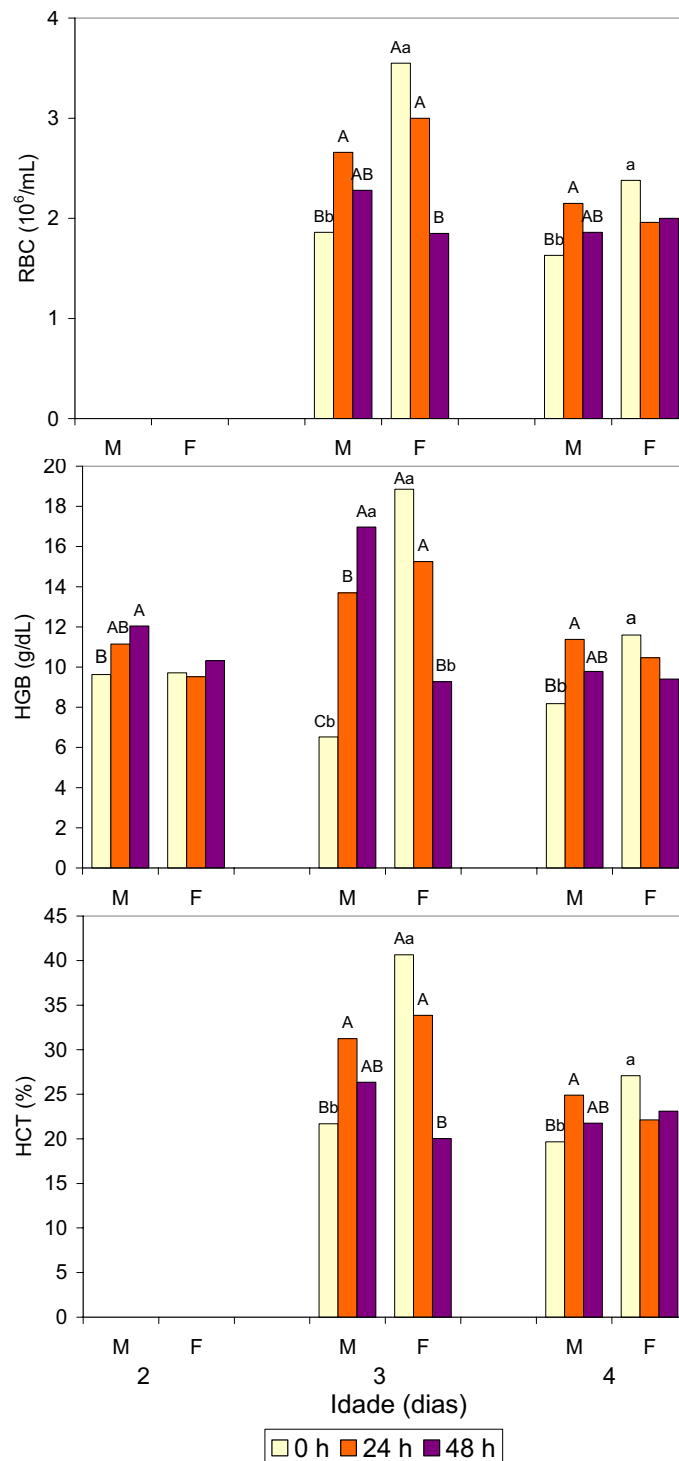


Figura 2. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a contagem global de hemácias (RBC), concentração de hemoglobina (HGB), taxa de hematócrito (HCT), em pintos de corte.

A-C: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 3. Porcentagem de heterófilo (H) e linfócito (L) e a relação entre eles (H/L), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h)

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Heterófilo (%)				
Sexo	Macho	44,00	61,25	50,31	31,54	32,08
	Fêmea	52,11	60,36	53,27	35,92	14,31
Jejum	0 h	53,55	62,60	48,50	42,73 A	28,09
	24 h	42,70	60,60	51,90	37,28 A	17,89
	48 h	-	58,86	56,12	15,71 B	22,17
Probabilidade	Sexo (S)	0,2371	0,7608	0,3391	0,3890	0,0036
	Jejum (J)	0,1355	0,9919	0,4157	0,0009	0,7175
	JxS	0,2676	0,0520	0,0617	0,5514	0,0034
CV (%)		34,06	19,39	19,85	35,62	49,29
		Linfócito (%)				
Sexo	Macho	51,90	32,87	45,38	55,15	58,23
	Fêmea	42,40	33,92	44,81	55,28	67,71
Jejum	0 h	43,66	34,45	48,54	54,09	64,54
	24 h	50,00	29,60	43,20	62,00	65,78
	48 h	-	36,50	42,62	50,00	57,57
Probabilidade	Sexo (S)	0,1468	0,9053	0,6951	0,8437	0,1325
	Jejum (J)	0,3071	0,5144	0,7060	0,1026	0,5523
	JxS	0,4347	0,1710	0,2367	0,9780	0,1239
CV (%)		33,29	38,14	28,79	19,43	22,18
		H/L (%)				
Sexo	Macho	1,18	2,59	1,21	0,64	0,66
	Fêmea	1,32	1,94	1,38	0,67	0,22
Jejum	0 h	1,57	1,94	1,21	0,89 A	0,52
	24 h	0,96	2,75	1,31	0,65 A	0,39
	48 h	-	2,26	1,42	0,24 B	0,36
Probabilidade	Sexo (S)	0,3925	0,6591	0,3282	0,0873	0,0034
	Jejum (J)	0,1417	0,6136	0,7711	0,0009	0,8049
	JxS	0,3133	0,1489	0,1377	0,1004	0,0070
CV (%)*		35,39	32,34	20,83	27,22	38,29

A-B: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância da variável transformada em $\log_{10}$.

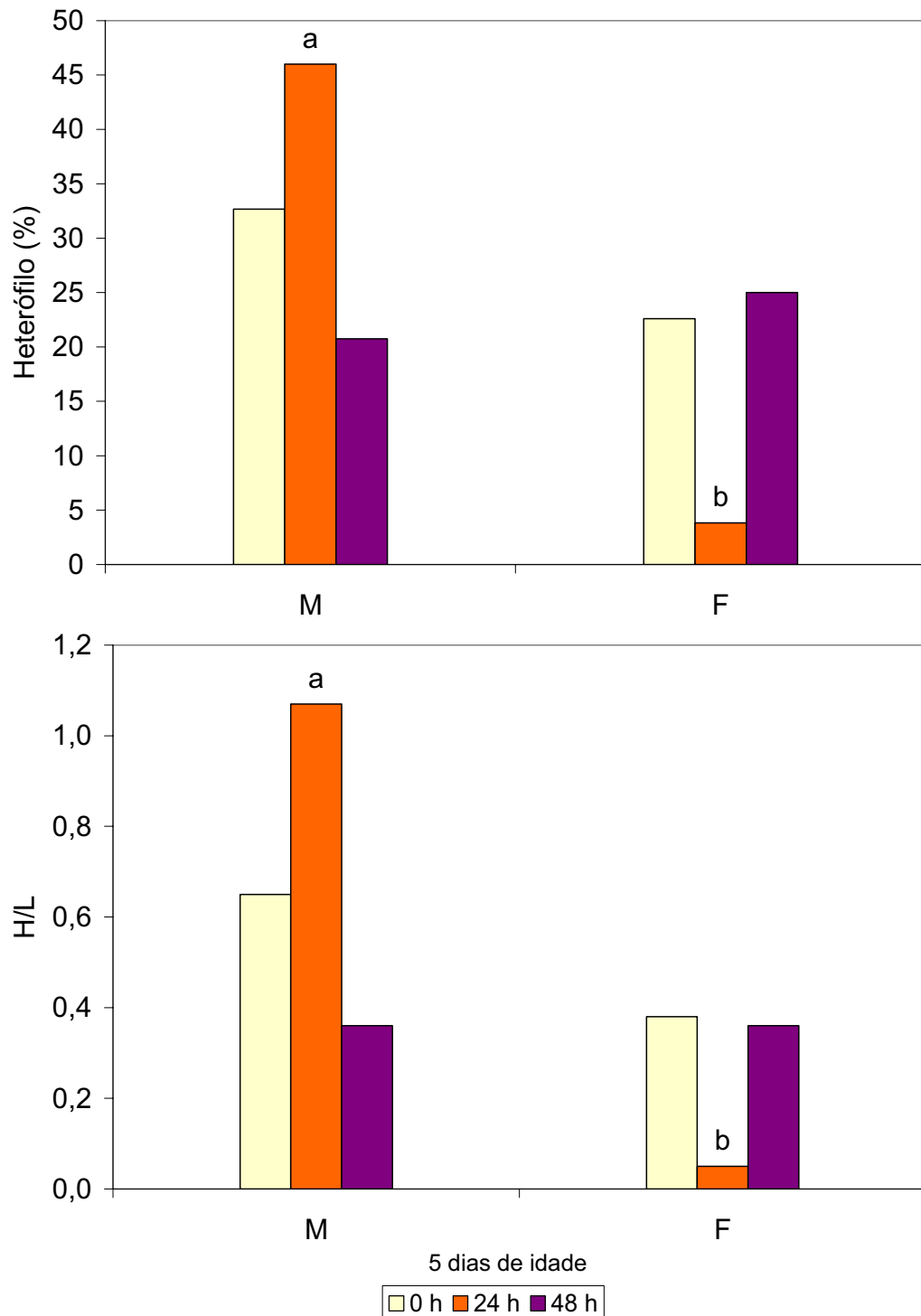


Figura 3. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a porcentagem de heterófilos (H) e a relação entre eles (H/L), em pintos de corte, aos cinco dias de idade.

a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Referências

- AL-MURRANI, W.K. *et al.* Association between heterophil/lymphocyte ratio, a marker of resistance to stress, and some production and fitness traits in chickens. **British Poultry Science**, v. 47, p. 516-522, 2006.
- AUGUSTINE, P.C. Effect of feed and water deprivation on organ and blood characteristics of young turkeys. **Poultry Science**, v. 61, p. 796-799, 1982.
- BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.V. Efeito do intervalo entre nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho dos frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 191-194, 1998.
- BARTON, B.A.; SCHRECK, C.B.; BARTON, L.D. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. **Diseases of aquatic organisms**, v. 2, p. 173-185, 1987.
- BERRONG, S.L.; WASHBURN, K.W. Effects of genetic variation on total plasma protein, body weight gains, and body temperature responses to heat stress. **Poultry Science**, v. 77, p. 379-385, 1998.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 73, p. 248-254, 1976.
- CAMPBELL, T.W. Clinical chemistry of birds. In: THRALL, M.A. *et al.* **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 479-492.
- CAMPBELL, T.W.; DEIN, F.J. Avian hematology: the basics. **Veterinary Clinical North American Small Animal Practice**, v. 14, p. 223-248, 1984.
- DAVIDSON, T.F.; FLACK, I.H. Changes in the peripheral blood leucocyte populations following an injection of corticotropin in the immature chicken. **Research in Veterinary Science**, v. 30, p. 79-82, 1981.
- GANONG, W.F. Balanço energético, metabolismo e nutrição. **Fisiologia médica**. 17^a ed. Prentice Hall do Brasil, 1995. p. 199-225.

- GARCIA-RODRIGUEZ, T. *et al.* Metabolic response of *Buteo buteo* to long term fasting and refeeding. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 87A, p. 381-386, 1987a.
- GARCIA-RODRIGUEZ, T. *et al.* Circadian rhythms of determined blood chemistry values in buzzards and eagle owls. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 88A, p. 663-669, 1987 b.
- GOMIDE, M.H.J. *et al.* Efeitos da injeção de ácido ascórbico in ovo sobre a integridade dos vilos intestinais de pintos fêmeas submetidos a jejum pós-eclosão. **Anais do XV Congresso de Iniciação Científica – UNESP**. Marília, 2003.
- GONZALES, E. *et al.* O tempo de jejum do neonato e a restrição alimentar precoce influenciando a produtividade de frangos de corte na idade de abate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, suppl, v. 1, p. 12, 1999.
- GONZALES, E. *et al.* O tempo de jejum do neonato afeta o desempenho do frango de corte na idade de abate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, suppl, v. 2, p. 4, 2000.
- GONZALES, E. *et al.* Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, v. 82, p. 1250-1256, 2003.
- GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S.; DUBOISE, R.T. Some effects of feeding corticosterone to chickens. **Poultry Science**, v. 59, p. 516-522, 1980.
- GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v. 27, p. 972-979, 1983.
- GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S. Effects of initial and second periods of fasting on heterophil/lymphocyte ratios and body weight. **Avian Diseases**, v. 30, p. 345-346, 1986.
- GROSS, W. B. Effects of ascorbic acid on stress and disease in chickens. **Avian Diseases**, v. 36, p. 688-92, 1992.
- HAGER, J.E.; BEANE, W.L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 62, p. 247-254, 1983.
- KNOWLES, T. G., *et al.* Response of broilers to deprivation of food and water for 24 hours. **British Veterinary Journal**, v. 151, p. 197-202, 2002.
- LATIMER, K.S.; BIENZLE, D. Determination and interpretation of the avian leukogram. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5^{ed}. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 417-432.

- MANNING, R.O.; WYATT, R.D.; FLETCHER, O.J. Effect of cold acclimation on the broiler chicks' resistance to dietary aflatoxin. **Poultry Science**, v. 69, p. 915-921, 1990.
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W.; SPENCE, S. Studies on an ascitic syndrome in young broilers. 1. Hematology and pathology. **Avian Pathology**, v.15, p.511-525, 1986.
- MAXWELL, M.H. *et al.* Comparison of haematological values in restricted and *ad libitum* fed domestic fowls: red blood cell characteristics. **British Poultry Science**, v. 31, p. 399-405, 1990 a.
- MAXWELL, M.H. *et al.* Comparison of haematological values in restricted and *ad libitum* fed domestic fowls: white blood cells and thrombocytes. **British Poultry Science**, v. 31, p. 407-413, 1990 b.
- NIR, I.; LEVANON, M. Effect of posthatch holding time on performance and on residual yolk and liver composition. **Poultry Science**, v. 72, p. 1994-1997, 1993.
- RODRIGUEZ, P.; TORTOSA, F.S.; VILLAFUERTE, R. The effects of fasting and refeeding on biochemical parameters in the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 140 A, p. 157-164, 2005.
- ROSÁRIO, M.F. *et al.* Síndrome ascítica em frangos de corte: uma revisão sobre a fisiologia, avaliação e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1987-1996, 2004.
- SARTORI, D.R. *et al.* Metabolic adaptations induced by long-term fasting in quails. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 111 A, p. 487-493, 1995.
- SAS INSTITUTE. **SAS[®] user's guide: statistics**. 2002. SAS Institute INC., Cary. NC, 2002.
- THRALL, M.A. *et al.* **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518p.

CAPÍTULO 3 - Parâmetros morfométricos do intestino delgado de pintos de corte submetidos a diferentes períodos de jejum.

Resumo - O manejo inadequado dos pintos até serem alojados é fator determinante do crescimento pós-eclosão. Neste ensaio foram avaliados as características morfométricas do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) de pintos machos e fêmeas recém-eclodidos, alimentados com água e ração após jejum hídrico e alimentar (0, 24 e 48 h). As aves foram analisadas com 1, 2, 3, 4 e 5 dias de idade. Foram analisados os seguintes parâmetros: peso corporal, comprimento do intestino delgado, área e altura de vilo, perímetro do vilo em corte transversal, densidade de vilo e profundidade de cripta. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. O peso corporal e os parâmetros intestinais, exceção feita ao perímetro do vilo em corte transversal, em ambos os sexos, foram afetados negativamente pelo jejum, mesmo após a alimentação. O jejum pós-eclosão de água e ração deve ser evitado, pois prejudica o desenvolvimento do sistema digestório dos pintos.

Palavras-Chave: intestino delgado, jejum, pintainho, mucosa intestinal

Introdução

A qualidade dos pintos e o manejo dos mesmos até o alojamento são fatores determinantes da sobrevivência e do potencial de crescimento das aves (CHRISTENSEN, 2001; CAREGHI *et al.*, 2005).

Na avicultura industrial, a maioria dos incubatórios utiliza o sistema de multi-estágios, onde os ovos oriundos de matrizes de diferentes idades, com diferentes pesos e períodos de estocagem, são incubados juntos, causando heterogenia dos ovos incubados (MATHER & LAUGHLIN, 1977; TONA *et al.*, 2003). Assim, a eclosão dos ovos ocorre em momentos diferentes, e para maior eficiência na operação de nascimento, opta-se pela retirada de todos os pintos do nascedouro ao mesmo tempo, de maneira que pintos que nascem primeiro podem sofrer cetose momentânea e desidratação capazes de provocar efeitos negativos sobre o desempenho do frango (MORAN, 1990).

Da eclosão até o alojamento, os pintos são submetidos a um período de jejum de aproximadamente 24 a 48 horas, que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e granja (HAGER & BEANE, 1983). NIR & LEVANON (1993) relataram que a perda de peso dos pintos alojados 24 e 48 horas após nascimento, resultou no aumento de um e dois dias para que as aves atingissem o peso de mercado, respectivamente. PINCHASOV & NOY (1993), também observaram que os pintos submetidos ao jejum de 48 horas, antes do alojamento, tiveram perda de peso. Segundo VIERA & MORAN (1999), o atraso de 24 horas no alojamento resultou em perda de 170g aos 49 dias de idade, assim como na elevação da taxa de mortalidade. Por sua vez, jejum pós-eclosão de 72 horas provoca desidratação, acarretando perda de 5 a 10% no peso corporal (BAIÃO & CANÇADO, 1998).

O intestino delgado é o principal órgão 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 demonstrando seu potencial genético, resistir a infecções e a doenças metabólicas (UNI & FERKET, 2004).

Segundo MAIORKA *et al.* (2001), sob jejum hídrico e/ou de ração após a eclosão ocorre aumento na densidade de vilos intestinais de pintos machos. Em caso de jejum prolongado, as células epiteliais passam a apresentar grandes vacúolos autofágicos lisossomais, caracterizando morte celular, sugerindo que o jejum causa digestão intracelular (YAMAUCHI *et al.*, 1996), levando a um menor desenvolvimento dos vilos (YAMAUCHI *et al.*, 1996; SHAMOTO & YAMAUCHI, 2000) e à elevação na taxa de extrusão e conseqüente redução na altura dos vilos e perda de epitélio pelos mesmos (GOMIDE *et al.*, 2003).

BOLELI *et al.* (2002) verificaram que pintos machos e fêmeas respondem de forma diferente a períodos longos de jejum pós-eclosão. Pintos machos apresentam maior porcentagem de vilos com perda de epitélio e exposição de tecido conectivo, mostrando-se, portanto, mais sensíveis, a prolongado jejum pós-eclosão do que as fêmeas.

Vários autores (NOY & SKAN, 1999; NOY *et al.*, 2001; GONZALES *et al.*, 2003; HAVELY *et al.*, 2003; UNI *et al.*, 2003) têm mostrado que o atraso no fornecimento de alimento reduz o desempenho pós-eclosão.

O objetivo do presente trabalho foi comparar a resposta do intestino delgado de pintos recém-eclodidos, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão seguido de alimentação, analisando parâmetros como comprimento do intestino delgado, área e altura de vilo, perímetro do vilo em corte transversal, densidade de vilos e profundidade de cripta, para duodeno, jejuno e íleo.

Material e Métodos

Ovos férteis ($57,34 \pm 0,81$ g) de matrizes de 29 semanas de idade (Cobb[®]), obtidos de incubatório comercial, foram incubados a 37,8°C e 60% UR, em duas incubadoras com giro automático a cada duas horas (Modelo IP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG). No 18º dia de incubação os ovos foram transferidos para os nascedouros (Modelo NP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG), onde foram mantidos à mesma temperatura e umidade relativa de incubação até a eclosão.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, seguindo fatorial 3 x 2, sendo três períodos de jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) e dois sexos (machos e fêmeas), para cada idade (2, 3, 4 e 5 dias de idade), exceto para 1 dia de idade, o qual seguiu fatorial 2 x 2, sendo dois períodos de jejum pós-eclosão (0 e 24 h) e dois sexos (machos e fêmeas).

Após a pesagem e sexagem pela análise das asas, pintos machos e fêmeas recém-eclodidos foram divididos em três grupos submetidos, cada um deles, a um dos seguintes tipos de regime alimentar: alimentação *ad libitum* com água e ração (jejum de 0 h); jejum de água e ração por 24 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 24 h); jejum de água e ração por 48 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 48 h). Os pintos foram mantidos em criadeiras (CP, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG) e alimentados com ração pré-inicial, formulada à base de milho e farelo de soja com 22% de PB e 2900 kcal de EM/kg.

As análises do intestino delgado incluíram a obtenção de dados do comprimento de seus três segmentos (quatro pintos por tempo de jejum por idade), bem como a área e a altura dos vilos e profundidade de cripta em corte longitudinal (20 mensurações por segmento por ave por tratamento), em cada uma delas (duodeno, jejuno e íleo). Para isso, após remoção, o intestino delgado foi estirado para obtenção dos comprimentos. Em seguida, amostras de 1,5 a 2,0 cm de comprimento foram coletadas do duodeno (a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal), jejuno (a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel) e íleo (porção anterior aos cecos) e fixadas em Dietrick (4% de formalina, 28% de etanol, 0,34 N de ácido acético glacial). Elas foram 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 parafina.

Os dados de perímetro dos vilos e densidade de vilos (n° de vilos/ $150\mu\text{m}^2$) foram obtidos a partir de oito cortes transversais semi-seriados ($5\mu\text{m}$ de espessura), obtidos de cada uma das regiões e corados com HE. Os demais dados morfométricos foram obtidos de cortes longitudinais das regiões do intestino delgado, para os quais as amostras foram abertas longitudinalmente e estiradas e presas sobre papel antes da

fixação. Os dados referentes a essas variáveis intestinais foram obtidos por meio de um sistema analisador de imagens.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, através do procedimento GLM do SAS[®] (2002). Para atender as pressuposições da análise de variância foram utilizadas transformações individuais por meio do procedimento Guided Data Analysis do SAS (2002). As transformações utilizadas foram $\log_{10}$ para as variáveis: peso corporal (PC), comprimento do intestino delgado (CID), comprimento do jejuno e íleo (CJI), perímetro do vilo em corte transversal do jejuno (PVCTJ), densidade de vilos do jejuno (DVJ), densidade de vilos do íleo (DVI), área do vilo do duodeno e jejuno, altura de vilo do jejuno (AVJ), profundidade de cripta do jejuno (PCJ) e profundidade de cripta do íleo (PCI) e a inversa para a área do vilo do íleo. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O peso corporal (PC) (Tabela 1) foi influenciado pelo sexo nas aves com um dia de idade ($p < 0,05$), sendo que as fêmeas apresentaram maior PC do que os machos. Também ocorreu efeito do tempo de jejum ($p < 0,01$) e, nas cinco idades estudadas. As aves submetidas ao jejum de 24 h apresentaram menor PC do que as alimentadas *ad libitum* ao final do jejum e até 48 após o início da alimentação (3º dia). As aves em jejum de 48 h apresentaram menor PC do que as submetidas a 24 h de jejum e as alimentadas *ad libitum* e não apresentaram recuperação do PC até o 5º dia de idade. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

Esses resultados mostraram que o jejum pós-eclosão de 24 h prejudica o PC dos pintos, mas ocorre ganho de peso compensatório nos três primeiros dias de alimentação pós-jejum. Todavia, não há recuperação do PC pelos pintos submetidos a jejum de 48 h, até o 5º dia de idade. Esses dados reforçam os dados de RICCARDI & BOLELI (2005), segundo os quais jejum pós-eclosão de água e ração ou de ração por período maior que 24 h afetam o crescimento dos pintos. Eles concordam com os dados de GONZALES *et al.* (1999, 2000) que constataram que pintos da linhagem

Avian Farm também poderiam ficar em jejum de, no máximo 24 h, sem serem prejudicados posteriormente. Além disso, eles também explicam porque, como observado por PINCHASOV & NOY (1993), pintos submetidos ao jejum pós-eclosão de 48 h têm o PC comprometido à idade de abate.

O comprimento do intestino delgado (CID) (Tabela 1) não foi influenciado pelo sexo em nenhuma das idades analisadas, mas foi influenciado ($p < 0,05$) pelo tempo de jejum nas cinco idades. As aves em jejum de 24 h apresentaram menor CID do que as alimentadas. As aves em jejum de 48 h apresentaram menor CID do que as aves alimentadas *ad libitum* e em jejum de 24 h durante todo o período experimental. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

O comprimento do duodeno (CD) (Tabela 1) foi influenciado pelo sexo ($p < 0,05$) apenas aos dois dias de idade, e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com um, dois, três e quatro dias de idade e houve interação ($p < 0,05$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com um e dois dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 1) mostrou que, houve efeito do jejum apenas nas fêmeas com um e dois dias de idade. As fêmeas em jejum de 24 h, com um dia de idade, apresentaram menor CD do que as alimentadas *ad libitum*, enquanto que com dois dias elas apresentaram maior CD do que as submetidas a 48 h de jejum e similar ao das aves controle. No terceiro e quarto dia de vida as aves em jejum de 48 h apresentaram menor CD do que os demais grupos. No quinto dia de idade não foi mais registrado efeito do jejum sobre o CD.

O comprimento do jejuno e íleo (CJI) (Tabela 1) foi influenciado ($p < 0,01$) apenas pelo tempo de jejum e nas aves com dois, três e quatro dias de idade. Nestas três idades, as aves em jejum de 48 h apresentaram menor CJI do que as aves alimentadas *ad libitum* e em jejum de 24 h. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

Esses resultados concordaram com os achados de vários autores (MURAKAMI *et al.*, 1992; UNI *et al.*, 1998; CORLESS & SELL, 1999), os quais observaram que jejum pós-eclosão de água e ração provoca menor crescimento do intestino delgado de pintos de corte. Após a alimentação, as aves submetidas ao jejum de 24 h tiveram recuperação no comprimento do intestino delgado, que deve ter sido estimulado pelo consumo de alimento, segundo observações de UNI *et al.* (1998) em perus. Os dados

anteriores também mostraram que o comprimento total do intestino delgado e de seus segmentos foram influenciados pelo jejum de 48 h e que não ocorreu recuperação durante a alimentação, do terceiro até o quinto dia de idade (três dias de alimentação). Segundo CORLESS & SELL (1999), esse atraso no desenvolvimento do intestino delgado deve limitar a capacidade dos pintos utilizarem nutrientes, o que parece explicar a não recuperação do PC por essas mesmas aves no presente trabalho.

Dados similares foram encontrados por NOY & SKLAN (1997) para perus. Segundo NOY & SKLAN (1999), a maior parte da energia e proteínas é direcionada para o desenvolvimento do intestino. Assim, a carência dos mesmos, causados pelo jejum, explica a redução no comprimento dos órgãos e do trato gastrintestinal nas aves (presente estudo).

A densidade de vilos do duodeno (DVD) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com dois dias de idade, onde os machos apresentaram menor DVD do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois, três e quarto dias de idade (Tabela 2). Com dois dias de vida as aves submetidas ao jejum de 48 h apresentaram maior DVD do que os demais grupos; aos três dias de idade as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram maior DVD do que as alimentadas à vontade, e aos quatro dias de idade quanto maior o período de jejum, maior a DVD. Houve interação ($p < 0,05$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com cinco dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 2) mostrou que houve diferença entre o sexo nas aves submetidas ao jejum de 48 h, onde os machos apresentaram maior DVD do que as fêmeas.

A densidade de vilos do jejuno (DVJ) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com quatro dias de idade, onde os machos apresentaram menor DVJ do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas cinco idades estudadas (Tabela 2). Com um dia de vida, as aves em jejum de 24 h apresentaram maior DVJ do que as alimentadas à vontade; aos dois dias quanto maior o período de jejum, maior a DVJ; aos quatro dias as aves submetidas ao jejum de 48 h apresentaram maior DVJ do que as alimentadas à vontade; e aos cinco dias as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram maior DVJ do que as alimentadas à vontade. Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com três dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 2) mostrou que houve diferença entre o tempo de jejum dos machos,

onde as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram maior DVJ do que as alimentadas à vontade.

A densidade de vilos do íleo (DVI) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com cinco dias de idade, onde os machos apresentaram maior DVI do que as fêmeas, e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois, três, quatro e cinco dias de idade (Tabela 2). Com quatro dias, as aves submetidas ao jejum de 48 h apresentaram maior DVI do que os demais grupos; e aos cinco dias quanto maior o tempo de jejum, maior a DVI. Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com dois e três dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 2) mostrou que nas duas idades, houve diferença entre o tempo de jejum dos machos, onde as aves em jejum de 24 e 48h apresentaram maior DVI do que as alimentadas à vontade.

A densidade de vilos nos três segmentos intestinais foi maior quanto maior foi o tempo de jejum das aves, e não ocorreu recuperação do número de vilos no jejuno e no íleo aos cinco dias de idade. Densidade de vilo tem uma relação inversa com o tamanho dos vilos. Assim sendo, a maior densidade de vilo frente ao jejum indica que o mesmo afetou negativamente o crescimento dos vilos. Esses dados também mostram que jejum pós-eclosão afeta com maior intensidade o crescimento em largura do que o perímetro em corte transversal dos vilos. Dados semelhantes foram encontrados por MAIORKA (2002). Os dados de densidade de vilo também mostraram efeito maior do jejum sobre o jejuno e íleo dos machos do que das fêmeas, que pode indicar uma maior resistência ou um menor potencial de crescimento nesta fase, por parte das fêmeas.

O perímetro do vilo em corte transversal do duodeno (PVCTD) foi influenciado pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com dois dias de idade, onde os machos apresentaram maior PVCTD do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com um e dois dias de idade (Tabela 3). Com um dia de vida, as aves submetidas ao jejum de 24 h apresentaram menor PVCTD do que as alimentadas à vontade, e aos dois dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor PVCTD do que os demais grupos. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

O perímetro do vilo em corte transversal do jejuno (PVCTJ) foi influenciado apenas pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois e três dias de idade (Tabela 3). Aos dois e três dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor PVCTJ

do que os demais grupos. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

O perímetro do vilo em corte transversal do íleo (PVCTI) foi influenciado apenas pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois e quatro dias de idade (Tabela 3). Aos dois dias de idade as aves em jejum de 24 h apresentaram maior PVCTI do que os demais grupos, e aos quatro dias de idade as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram maior PVCTI do que as aves alimentadas *ad libitum*. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

O perímetro em corte transversal dos vilos é um dado morfométrico indicativo de crescimento em largura dos vilos. Assim sendo, nossos dados mostraram que jejum de 24 e 48 h afetou negativamente o crescimento do vilo duodenal, e que no jejuno e íleo o crescimento dos vilos foi influenciado apenas pelo jejum de 48 h, e que nos três segmentos houve recuperação do perímetro após o início da alimentação. O menor crescimento em relação ao grupo controle deve estar relacionado à falta de nutrientes imposta pelo jejum, indicando que as reservas energéticas e nutricionais dos pintos devem estar sendo utilizadas para manutenção fisiológica do organismo.

A altura do vilo do duodeno (AVD) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com quatro dias de idade, onde os machos apresentaram menor AVD do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com dois, três, quatro e cinco dias de idade (Tabela 4). Com dois, três e quatro dias de vida as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram menor AVD do que as alimentadas à vontade, e aos cinco dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor AVD do que as alimentadas *ad libitum*. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

A altura do vilo do jejuno (AVJ) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com dois e cinco dias de idade, onde os machos apresentaram maior AVJ do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com um, dois e três dias de idade (Tabela 4). Com um e dois dias de idade as aves em jejum apresentaram menor AVJ do que as alimentadas à vontade, e aos três dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor AVJ do que as alimentadas *ad libitum*. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

A altura do vilo do íleo (AVI) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com dois e três dias de idade, onde os machos apresentaram maior AVI do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com três dias de idade (Tabela 4). Com três dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor AVI do que as aves em jejum de 24 h. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

A altura dos vilos é um parâmetro indicativo do crescimento dos mesmos em comprimento. Nossos resultados mostram que o jejum reduz o crescimento dos vilos e que o efeito do jejum sobre os vilos duodenais não é eliminado com a alimentação pós-jejum no período experimental analisado.

A área do vilo do duodeno foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com quatro dias de idade, onde os machos apresentaram menor área do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com um, três e cinco dias de idade (Tabela 5). Com um dia de vida as aves em jejum de 24 h apresentaram menor área do que as alimentadas à vontade; aos três dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor área do que as alimentadas *ad libitum*; com cinco dias as aves em jejum de 48 h apresentaram menor área do que os demais grupos. Não houve interação entre o tempo de jejum e o sexo ($p > 0,05$).

A área do vilo do jejuno foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com três dias de idade, onde os machos apresentaram maior área do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com dois e cinco dias de idade (Tabela 5). Aos cinco dias de idade as aves em jejum de 48 h apresentaram menor área do que as alimentadas *ad libitum*. Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com dois dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 3) mostrou que houve diferença entre o tempo de jejum dos machos, onde as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram menor área do que as alimentadas à vontade; e entre os sexos nas aves alimentadas à vontade, onde os machos apresentaram maior área do que as fêmeas, já no grupo em jejum de 48 h as fêmeas apresentaram maior área do vilo do que os machos.

A área do vilo do íleo foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com três dias de idade, e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com dois e três dias de idade (Tabela 5). Aos dois dias de idade, as aves em jejum de 48 h apresentaram menor área

do que as alimentadas *ad libitum*. Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com três dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 3) mostrou que houve diferença entre o tempo de jejum dos machos, sendo que as aves em jejum de 48 h apresentaram menor área do que os demais grupos; e entre os sexos nas aves alimentadas à vontade, onde os machos apresentaram maior área do que as fêmeas.

Os dados de área do vilo em corte longitudinal são indicativos do efeito do jejum sobre o tamanho dos vilos (largura + comprimento). Os dados mostraram efeito negativo maior do jejum sobre a AVCL no duodeno e jejuno e que não foi eliminado com a alimentação pós-jejum, e que em algumas idades, os efeitos negativos foram maiores sobre os machos do que nas fêmeas.

Mudanças no desenvolvimento do intestino delgado são indicativos de um menor desempenho inicial do frango de corte, com possibilidade de prejudicar o desempenho final devido à redução do peso e comprimento do intestino delgado, área do vilo e desenvolvimento da cripta de pintos que foram submetidos a jejum pós-eclosão (GEYRA *et al.*, 2001; SKLAN, 2001). GONZALES *et al.* (2003) também observaram que pintos em jejum de 30 e 48 h foram prejudicados quanto ao peso e comprimento do intestino delgado, assim como as características morfométricas do duodeno e jejuno. Nossos resultados concordam com os achados relatados anteriormente, mas diferem em relação ao íleo, pois este também foi afetado nas aves que sofreram jejum.

O desenvolvimento do intestino é muito rápido nos primeiros dois dias de idade, e o jejum de água e ração pode retardar o desenvolvimento da mucosa por vários dias, sendo que, dependendo do tempo de jejum pode afetar o desempenho da ave por todo seu ciclo de vida. As alterações morfológicas decorrentes do jejum incluem aderência dos microvilos entre si, com redução da área de absorção e formação anormal das criptas (UNI *et al.*, 1998).

O intestino delgado atua como uma interface entre o ambiente interno e o externo dos frangos de corte, sendo que a mucosa intestinal encontra-se em uma condição dinâmica. O processo normal de renovação celular é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões sofridas por células totipotentes localizadas na

cripta e ao longo dos vilos (UNI *et al.*, 1998) e perda por descamação, que ocorre no ápice dos vilos. O equilíbrio desses dois processos determina a manutenção do tamanho do vilo, quando o intestino responde a algum agente estimulador, a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (UNI *et al.*, 2000).

Sendo o jejum de água e ração o agente estimulador tem-se uma maior taxa de extrusão, manutenção e/ou redução na taxa de proliferação, e o intestino delgado responde com uma redução na altura dos vilos com conseqüente redução na taxa de digestão e absorção (MACARI, 1995).

A profundidade de cripta do duodeno (PCD) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,05$) nas aves com dois, três, quatro e cinco dias de idade, sendo que os machos com dois e três dias de idade apresentaram menor PCD do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com três, quatro e cinco dias de idade, sendo que aos três dias de vida as aves em jejum de 24 h apresentaram maior PCD do que as alimentadas à vontade (Tabela 6). Houve interação ($p < 0,05$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com quatro e cinco dias de idade. O desdobramento da interação (Figura 4) mostrou que aos quatro dias de idade houve diferença entre o tempo de jejum das fêmeas, sendo que as aves em jejum de 48 h apresentaram menor PCD do que as alimentadas à vontade; e entre os sexos nas aves alimentadas à vontade, sendo que os machos apresentaram menor PCD do que as fêmeas; aos cinco dias de idade houve diferença entre o tempo de jejum das fêmeas, sendo que as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram menor PCD do que as alimentadas à vontade; e entre os sexos nas aves em jejum de 24 h, sendo que os machos apresentaram menor PCD do que as fêmeas.

A profundidade de cripta do jejuno (PCJ) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com um, dois, três e quatro dias de idade, sendo que os machos com dois, três e quatro dias de idade apresentaram menor PCJ do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,01$) nas aves com um, dois e quatro dias de idade, sendo que aos dois e quatro dias de vida as aves em jejum de 24 e 48 h apresentaram maior PCJ do que as alimentadas à vontade (Tabela 6). Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com um dia de idade. O desdobramento da interação (Figura 4) mostrou que houve diferença entre o tempo de jejum dos machos, onde as aves em jejum de 24

h apresentaram maior PCJ do que as alimentadas à vontade; e entre os sexos nas aves alimentadas à vontade, onde os machos apresentaram menor PCJ do que as fêmeas.

A profundidade de cripta do íleo (PCI) foi influenciada pelo sexo ($p < 0,01$) nas aves com um, dois, três e cinco dias de idade, sendo que os machos com dois, três e cinco dias de idade apresentaram menor PCI do que as fêmeas; e pelo tempo de jejum ($p < 0,05$) nas aves com um, três e cinco dias de idade, aos três dias as aves em jejum de 24 h apresentaram maior PCI do que as demais, e aos cinco dias as aves em jejum de 48 h apresentaram maior PCI do que as alimentadas à vontade (Tabela 6). Houve interação ($p < 0,01$) entre o tempo de jejum e sexo, nas aves com um dia de idade. O desdobramento da interação (Figura 4) mostrou que houve diferença entre o tempo de jejum dos machos, as aves em jejum de 24 h apresentaram maior PCJ do que as alimentadas à vontade; e entre os sexos nas aves alimentadas à vontade, sendo que os machos apresentaram menor PCJ do que as fêmeas.

As profundidades de cripta dos vilos do duodeno, jejuno e íleo, foram influenciadas, principalmente pelo jejum de 48 h, mas apenas no íleo não foi registrada recuperação em relação ao grupo controle. As aves em jejum apresentaram maior profundidade de cripta do que as alimentadas *ad libitum*, principalmente no duodeno e jejuno, e os machos apresentaram menor profundidade de cripta do que as fêmeas, indicando que os machos são mais sensíveis ao jejum pós-eclosão do que as fêmeas, concordando com os achados de BOLELI *et al.* (2002), que verificaram que machos apresentam maior porcentagem de vilos com perda de epitélio e exposição de tecido conectivo. Se o vilos reduz o seu tamanho em decorrência do aumento da taxa de perda celular, conseqüentemente ocorrerá um aumento na produção de células da cripta, e geralmente, aumento na profundidade da cripta (LODDI, 2003).

Conclusões

Jejum pós-eclosão de água e ração prejudica o desenvolvimento do sistema digestório dos pintos, o que pode limitar a capacidade de utilização dos nutrientes e de crescimento das aves.

Tabela 1. Peso corporal, comprimento total do intestino delgado e seus segmentos, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h)

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Peso Corporal (PC) (g)				
Sexo	Macho	40,14 B	41,55	52,75	65,18	76,52
	Fêmea	41,93 A	42,76	54,15	64,11	77,3
Jejum	0	42,54 A	46,11 A	58,68 A	66,72 A	79,62 A
	24	39,47 B	42,74 B	53,48 B	67,77 A	78,06 A
	48	-	37,65 C	46,56 C	59,82 B	71,80 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,0309	0,4324	0,9305	0,4333	0,6141
	Jejum (J)	0,0014	<0,0001	<0,0001	0,0036	0,0085
	JxS	0,7200	0,2794	0,9183	0,3996	0,7625
CV (%)*		1,16	1,62	1,82	1,78	1,54
		Comprimento do intestino delgado (CID) (cm)				
Sexo	Macho	35,37	41,30	49,04	55,14	59,58
	Fêmea	32,81	42,25	48,33	56,00	61,79
Jejum	0	36,31 A	45,25 A	53,00 A	59,06 A	66,25 A
	24	31,87 B	42,94 A	51,19 A	57,90 A	58,44 B
	48	-	36,41 B	41,87 B	49,75 B	57,37 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,1766	0,8187	0,6627	0,6732	0,3521
	Jejum (J)	0,0427	<0,0001	0,0002	0,0045	0,0106
	JxS	0,0561	0,5445	0,6373	0,8715	0,3945
CV (%)*		3,46	1,74	2,44	2,38	2,18
		Comprimento Duodeno (CD) (cm)				
Sexo	Macho	8,63	8,24	10,77	11,97	12,94
	Fêmea	8,91	9,48	10,43	11,61	13,43
Jejum	0	9,98	8,35	11,34 A	12,65 A	13,27
	24	7,68	10,20	11,00 A	12,40 A	13,12
	48	-	7,76	8,94 B	10,40 B	13,12
Probabilidade	Sexo (S)	0,5699	0,0380	0,2508	0,4579	0,5155
	Jejum (J)	0,0137	0,0002	0,0010	0,0053	0,9554
	JxS	0,0265	0,0313	0,3612	0,7528	0,6181
CV (%)		21,11	14,91	12,41	13,21	12,78
		Comprimento Jejuno + Íleo (CJI) (cm)				
Sexo	Macho	27,20	33,14	38,50	43,22	45,78
	Fêmea	24,91	32,55	39,05	44,61	48,27
Jejum	0	26,65	34,07 A	40,94 A	46,35 A	50,09
	24	25,41	34,50 A	40,95 A	45,82 A	45,96
	48	-	29,90 B	32,94 B	39,30 B	44,25
Probabilidade	Sexo (S)	0,3958	0,2885	0,9447	0,5147	0,2315
	Jejum (J)	0,8879	0,0018	<0,0001	0,0043	0,0534
	JxS	0,2180	0,8628	0,3983	0,6732	0,1845
CV (%)*		6,99	2,64	2,56	2,69	2,85

A-C: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

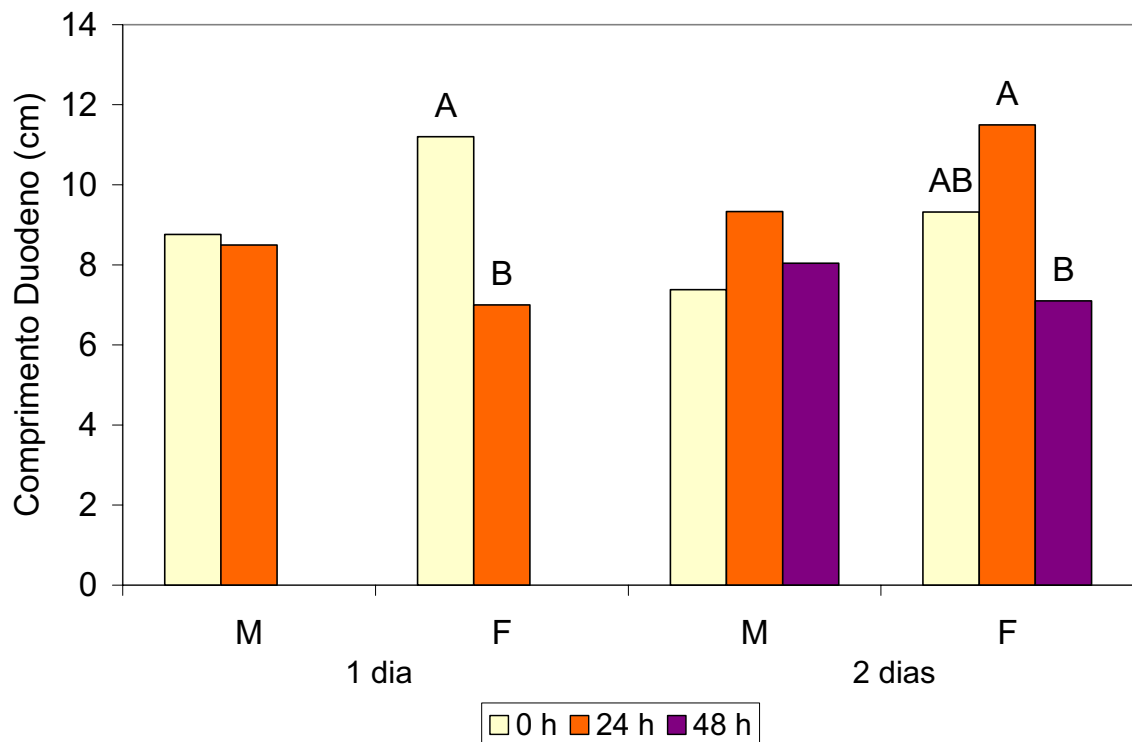


Figura 1. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre o comprimento do duodeno, em pintos de corte.

A-B: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 2. Densidade de vilos do duodeno (DVD), jejuno (DVJ) e íleo (DVI), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
Duodeno (DVD)						
Sexo	Macho	106,87	101,17 B	98,17	86,75	90,08
	Fêmea	104,71	108,66 A	98,42	84,25	84,42
Jejum	0	100,71	100,25 B	89,00 B	69,25 C	85,50
	24	110,37	101,12 B	102,25 A	87,62 B	87,62
	48		113,37 A	103,62 A	99,62 A	88,62
Probabilidade	Sexo (S)	0,6169	0,0230	0,9174	0,4083	0,1110
	Jejum (J)	0,1047	0,0035	0,0001	<0,0001	0,7466
	JxS	0,9825	0,1006	0,2708	0,1485	0,0117
CV (%)		10,14	7,04	5,92	8,46	9,49
Jejuno (DVJ)						
Sexo	Macho	119,50	101,83	91,92	68,33 B	67,67
	Fêmea	130,12	102,66	89,25	82,00 A	67,17
Jejum	0	113,25 B	84,12 C	80,25	68,87 B	61,00 B
	24	136,62 A	99,50 B	89,25	73,25 AB	68,75 A
	48		123,12 A	102,25	83,37 A	72,50 A
Probabilidade	Sexo (S)	0,3149	0,9491	0,6309	0,0021	0,8028
	Jejum (J)	0,0372	<0,0001	<0,0001	0,0202	0,0007
	JxS	0,1061	0,2869	0,0020	0,5443	0,4295
CV (%)*		3,01	1,90	1,66	2,95	1,75
Íleo (DVI)						
Sexo	Macho	118,25	112,17	88,08	82,17	81,33 A
	Fêmea	117,25	118,27	90,58	92,00	73,58 B
Jejum	0	113,87	100,28	80,37	75,00 B	69,75 C
	24	121,62	116,75	89,87	83,50 B	76,75 B
	48		126,37	97,75	102,75 A	85,87 A
Probabilidade	Sexo (S)	0,7626	0,1117	0,2233	0,1390	0,0030
	Jejum (J)	0,0721	0,0004	0,0001	0,0035	<0,0001
	JxS	0,7614	0,0204	0,0162	0,1647	0,2224
CV (%)*		1,38	1,78	1,58	3,38	1,55

A-C: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

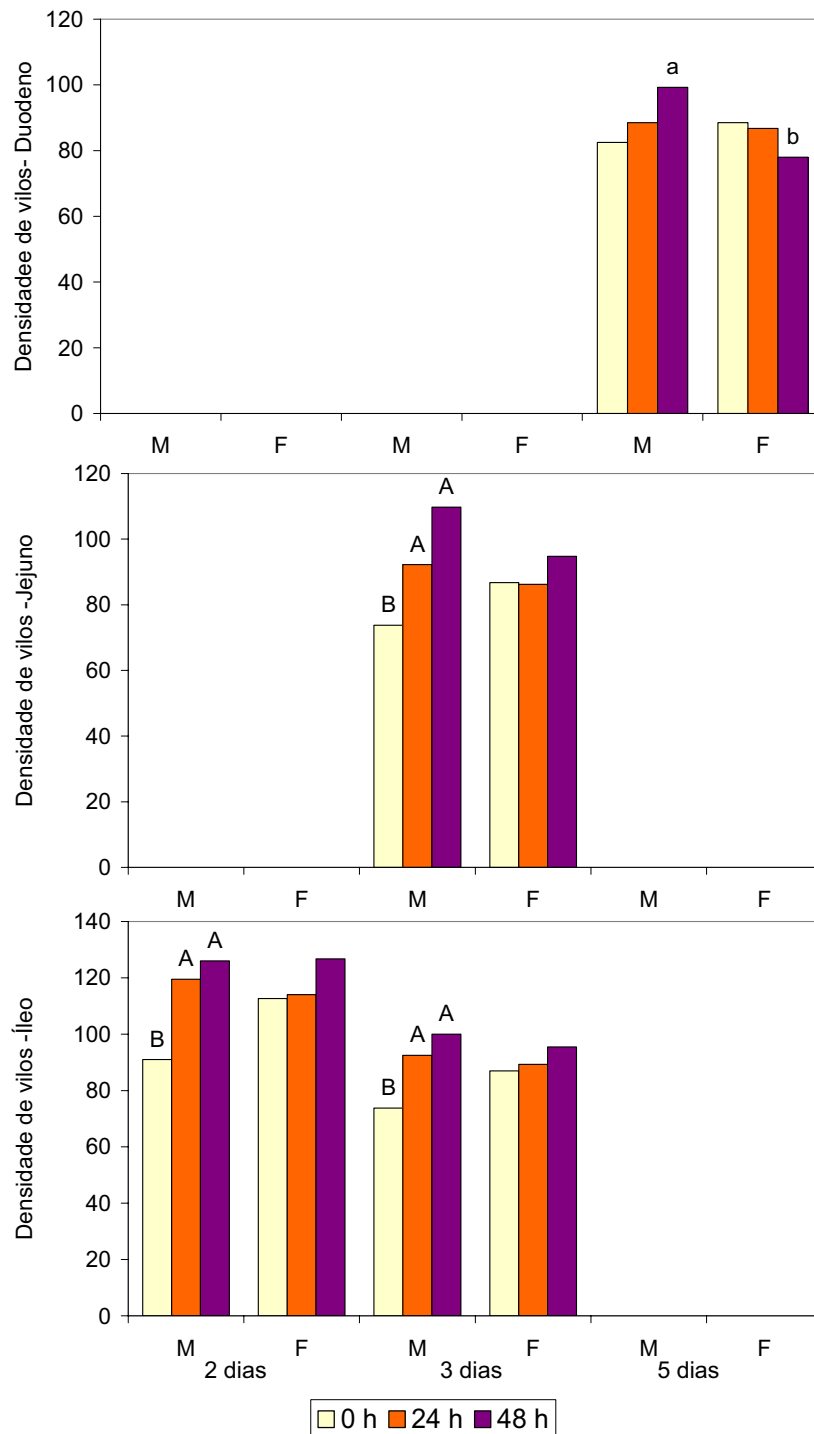


Figura 2. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a densidade de vilos do duodeno (DVD), jejuno (DVJ) e íleo (DVI), em pintos de corte com dois, três e cinco dias de idade.

A-B: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 3. Perímetro dos vilos em corte transversal do duodeno (PVCTD), jejuno (PVCTJ) e íleo (PVCTI), de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Duodeno (PVCTD) (μm)				
Sexo	Macho	136,31	151,77 A	150,82	163,78	154,21
	Fêmea	141,24	143,94 B	153,95	160,94	155,12
Jejum	0	146,18 A	149,38 A	155,62	156,30	152,80
	24	131,37 B	156,25 A	151,99	157,66	155,27
	48		137,94 B	149,55	153,12	155,93
Probabilidade	Sexo (S)	0,4122	0,0475	0,4493	0,5749	0,8507
	Jejum (J)	0,0254	0,0026	0,4815	0,1525	0,8543
	JxS	0,8775	0,2563	0,0547	0,0768	0,1478
CV (%)		8,36	6,10	6,49	7,49	7,55
		Jejuno (PCTJ) (μm)				
Sexo	Macho	133,01	144,12	150,71	173,74	176,93
	Fêmea	127,86	143,05	156,13	166,95	172,42
Jejum	0	130,27	145,08 A	165,82 A	166,44	175,97
	24	130,60	156,20 A	156,12 A	169,12	171,64
	48		129,47 B	138,32 B	175,47	176,42
Probabilidade	Sexo (S)	0,4757	0,7595	0,2268	0,2718	0,4480
	Jejum (J)	0,8598	0,0002	0,0005	0,5288	0,8035
	JxS	0,2578	0,5254	0,7683	0,0946	0,4878
CV (%)*		2,08	1,40	1,49	1,82	1,57
		Íleo (PCTI) (μm)				
Sexo	Macho	129,43	136,96	156,44	152,93	167,19
	Fêmea	129,68	128,36	149,27	151,22	162,22
Jejum	0	131,20	122,62 B	155,05	135,78 B	159,24
	24	127,90	151,31 A	152,37	156,03 A	167,34
	48		124,06 B	151,15	164,42 A	167,55
Probabilidade	Sexo (S)	0,9590	0,1740	0,0879	0,6747	0,3561
	Jejum (J)	0,4996	0,0016	0,7193	<0,0001	0,3574
	JxS	0,7525	0,4894	0,1969	0,3173	0,2973
CV (%)		7,31	11,22	6,37	6,43	7,79

A-B: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

Tabela 4. Altura dos vilos (AV, μm) do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Duodeno (μm)				
Sexo	Macho	457,00	445,24	569,06	557,27 B	625,28
	Fêmea	442,86	477,55	541,18	620,94 A	645,23
Jejum	0	471,49	518,65 A	645,28 A	656,27 A	684,41 A
	24	428,38	425,83 B	529,33 B	553,27 B	645,36 AB
	48		439,70 B	490,75 B	557,78 B	575,99 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,5402	0,1312	0,3937	0,0406	0,5219
	Jejum (J)	0,0785	0,0033	0,0025	0,0143	0,0296
	JxS	0,8699	0,6301	0,2152	0,2143	0,0510
CV (%)		9,96	10,85	14,07	11,99	11,78
		Jejuno (μm)				
Sexo	Macho	248,01	276,14 A	280,83	272,80	307,32 A
	Fêmea	240,33	251,95 B	282,41	276,72	276,28 B
Jejum	0	263,05 A	290,87 A	303,95 A	278,13	301,97
	24	225,30 B	251,26 B	285,27 AB	282,22	297,15
	48		250,01 B	255,63 B	263,94	276,27
Probabilidade	Sexo (S)	0,6179	0,0299	0,9945	0,8643	0,0479
	Jejum (J)	0,0125	0,0075	0,0380	0,5963	0,3443
	JxS	0,1961	0,0588	0,6627	0,6488	0,4733
CV (%)*		1,87	1,63	2,17	2,27	2,20
		Íleo (μm)				
Sexo	Macho	195,80	246,58 A	254,73 A	234,62	264,81
	Fêmea	203,15	214,61 B	226,41 B	237,29	263,44
Jejum	0	198,71	247,08	236,57 AB	241,89	276,62
	24	200,24	226,65	259,67 A	242,96	268,35
	48		218,06	225,63 B	223,01	247,41
Probabilidade	Sexo (S)	0,5027	0,0029	0,0115	0,7735	0,8953
	Jejum (J)	0,8878	0,0540	0,0364	0,1632	0,0845
	JxS	0,2366	0,3597	0,1195	0,4451	0,6126
CV (%)		10,65	9,85	10,25	9,49	9,56

A-B: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

Tabela 5. Área do vilo em corte longitudinal (AVCL, μm^2) dos vilos do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Duodeno (μm^2)				
Sexo	Macho	43021,02	44398,30	72964,63	68136,74 B	82482,43
	Fêmea	43454,59	49073,61	68293,70	84131,39 A	91900,03
Jejum	0	45345,87 A	52461,37	78688,25 A	81793,92	94198,16 A
	24	41129,75 B	44152,70	73223,32 AB	73664,19	96464,93 A
	48		43593,78	59975,91 B	72944,08	70910,60 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,7615	0,1515	0,3740	0,0013	0,3983
	Jejum (J)	0,0296	0,0547	0,0209	0,2050	0,0225
	JxS	0,9009	0,5355	0,3293	0,2703	0,0743
CV (%)*		0,72	1,41	1,56	1,26	2,04
		Jejuno (μm^2)				
Sexo	Macho	18424,28	21686,93	28258,17 A	26046,00	32006,01
	Fêmea	18636,94	20993,36	24600,08 B	25244,84	29725,05
Jejum	0	19271,92	24148,08	26780,78	25244,28	35282,81 A
	24	17789,30	21134,83	28851,57	27398,12	31650,55 AB
	48		18737,52	23655,02	24293,85	25663,23 B
Probabilidade	Sexo (S)	0,8130	0,8959	0,0419	0,4970	0,3002
	Jejum (J)	0,2766	0,0080	0,0600	0,2109	0,0096
	JxS	0,3767	0,0004	0,2550	0,5349	0,5947
CV (%)*		1,46	1,38	1,48	1,29	1,79
		Íleo (μm^2)				
Sexo	Macho	15027,05	19597,32	23064,02	21310,46	24919,10
	Fêmea	16162,48	20116,28	21008,77	21101,92	26430,53
Jejum	0	15933,92	22206,60 A	22550,43	21333,97	25710,32
	24	15255,61	19244,55 AB	24061,50	22157,54	26011,98
	48		18119,25 B	19497,25	20127,06	25302,14
Probabilidade	Sexo (S)	0,4854	0,3018	0,0456	0,8638	0,5370
	Jejum (J)	0,6705	0,0045	0,0010	0,3355	0,7328
	JxS	0,0591	0,0664	0,0447	0,6971	0,1087
CV (%)**		16,65	10,72	9,49	13,23	17,24

A-B: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

** estatística da análise de variância transformada pela inversa ($1/\text{área do vilo do íleo}$).

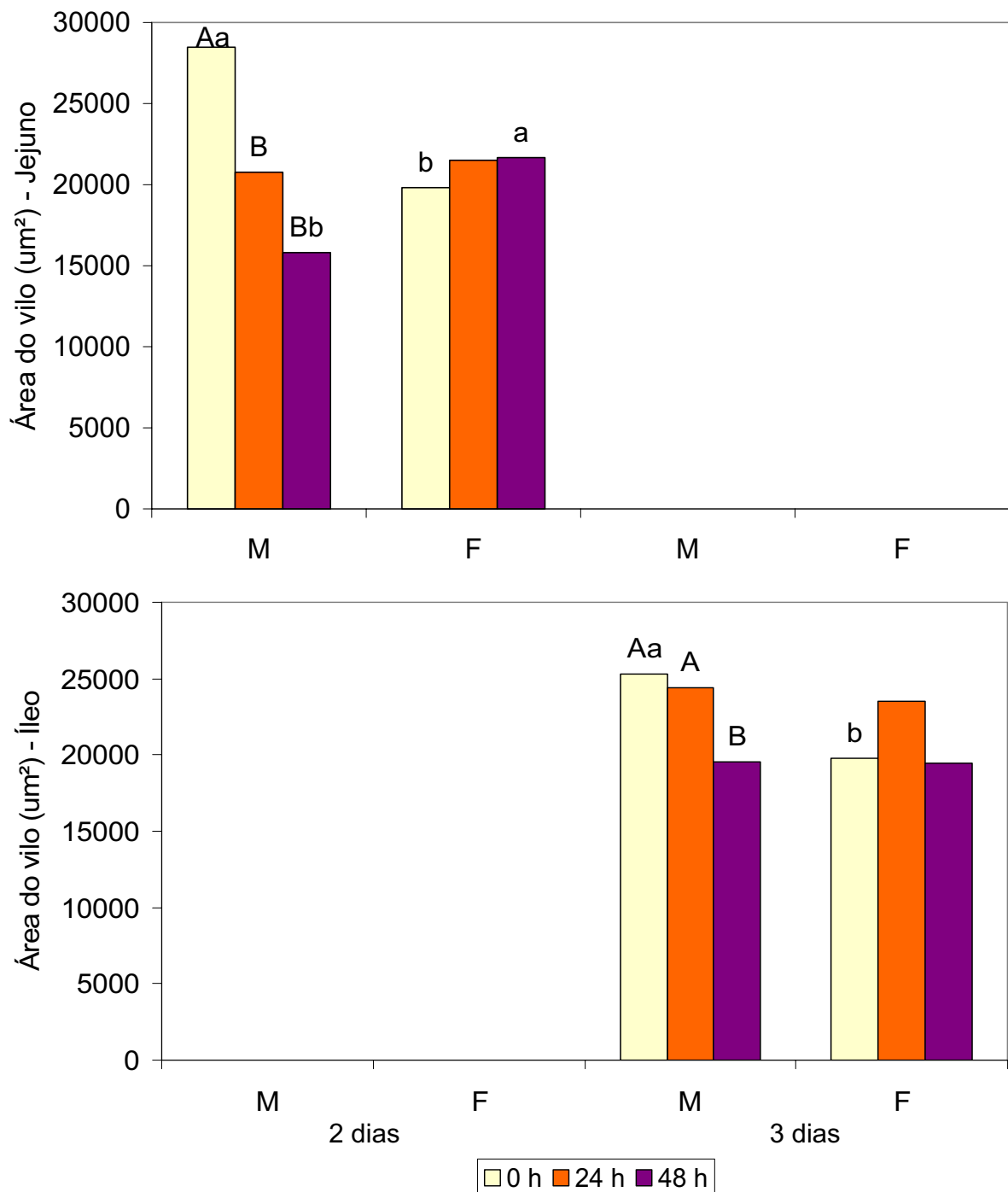


Figura 3. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a área dos vilos (μm^2) do jejuno e íleo, em pintos de corte com dois e três dias de idade. A-B: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 6. Profundidade de cripta (μm) do duodeno, jejuno e íleo, de pintos de corte, machos e fêmeas, submetidos ao jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h).

		Idade (dias)				
		1	2	3	4	5
		Duodeno (μm)				
Sexo	Macho	69,04	63,71 B	81,30 B	99,24	106,93
	Fêmea	77,37	94,70 A	106,79 A	112,28	120,05
Jejum	0	76,16	79,25	83,91 B	113,20	104,76
	24	70,25	77,08	102,73 A	99,60	126,38
	48		81,29	95,49 AB	104,47	109,33
Probabilidade	Sexo (S)	0,0548	<0,0001	0,0002	0,0018	0,0174
	Jejum (J)	0,1577	0,8088	0,0325	0,0195	0,0060
	JxS	0,2188	0,6334	0,5464	0,0045	0,0386
CV (%)		10,70	16,25	13,98	8,28	10,81
		Jejuno (μm)				
Sexo	Macho	46,05	51,33 B	67,74 B	69,95 B	83,44
	Fêmea	61,30	73,88 A	86,57 A	86,01 A	85,27
Jejum	0	48,83	57,09 B	77,57	65,79 B	85,10
	24	58,52	65,50 A	81,18	87,11 A	86,11
	48		65,23 A	72,70	81,06 A	81,85
Probabilidade	Sexo (S)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0024	0,6895
	Jejum (J)	0,0002	0,0090	0,1779	0,0021	0,6364
	JxS	<0,0001	0,8266	0,9848	0,9166	0,6668
CV (%)		2,27	2,19	2,57	3,25	2,55
		Íleo (μm)				
Sexo	Macho	46,78	42,66 B	62,31 B	74,57	80,52 B
	Fêmea	66,77	77,00 A	82,47 A	81,02	95,16 A
Jejum	0	51,17	58,27	68,21 B	72,84	92,44 A
	24	62,38	63,78	80,51 A	84,66	91,23 AB
	48		57,44	68,46 B	75,89	79,86 B
Probabilidade	Sexo (S)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1914	0,0021
	Jejum (J)	<0,0001	0,2675	0,0194	0,0902	0,0291
	JxS	<0,0001	0,4919	0,5951	0,2260	0,9521
CV (%)		1,33	2,75	2,66	3,33	2,45

A-B: comparações entre médias (colunas) seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

* estatística da análise de variância transformada em $\log_{10}$.

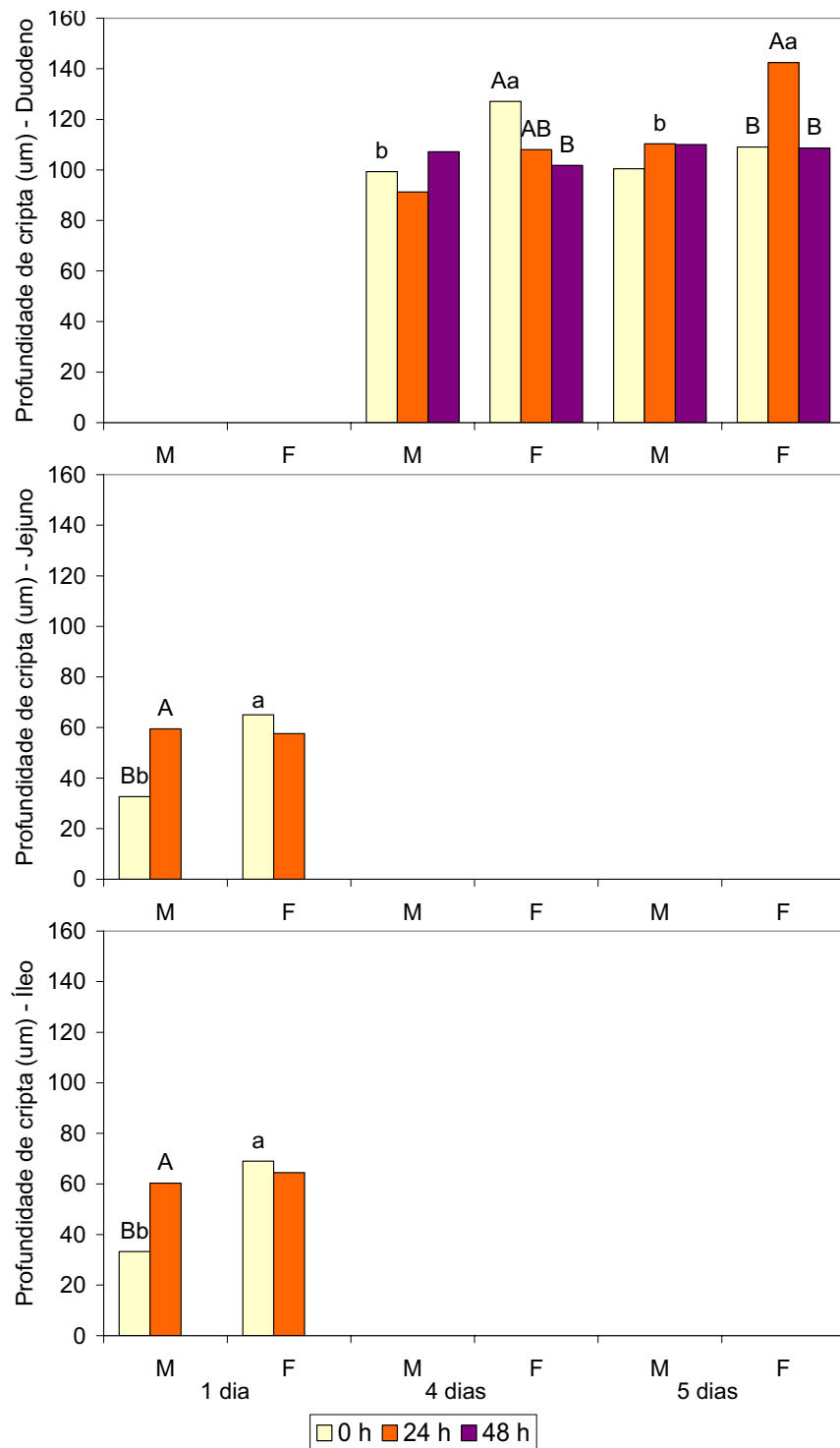


Figura 4. Interação entre sexo (macho e fêmea) e duração do jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) sobre a profundidade de cripta (µm) do duodeno, jejuno e íleo, em pintos de corte com um, quatro e cinco dias de idade.

A-B: comparação entre duração de jejum dentro de cada sexo e idade. a-b: comparação entre sexos, dentro de cada período de jejum e idade. Médias seguidas de letras similares não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Referências

- BAIÃO, N.C.; CANÇADO, S.V. Efeito do intervalo entre nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho dos frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v. 50, p. 191-194, 1998.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.75-98.
- CAREGHI, C. *et al.* The effects of the spread of hatch and interaction with delayed feed access after hatch on broiler performance until seven days of age. **Poultry Science**, v. 84, p. 1314-1320, 2005.
- CHRISTENSEN, V.L. Development during the first seven days post-hatching. In: BAGGOT, G.K.; BAKST, M.R.; BELLAIRS, R.; CHRISTENSEN, V.L.; FASENFKO, G.M.; STARCK, J.M. **Perspectives in fertilization and embryonic development in poultry**. Oxford: Ratite Conference Books, 2001. p. 31-36.
- CORLESS, A.B.; SELL, J.L. The effects of delayed access to feed and water on the physical and functional development of the digestive system of young turkeys. **Poultry Science**, v. 78, p. 1158-1169, 1999.
- GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of young chick. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 53-61, 2001.
- GOMIDE, M.H.J. *et al.* Efeitos da injeção de ácido ascórbico in ovo sobre a integridade dos vilos intestinais de pintos fêmeas submetidos a jejum pós-eclosão. **Anais do XV Congresso de Iniciação Científica – UNESP**. Marília, 2003.
- GONZALES, E. *et al.* O tempo de jejum do neonato e a restrição alimentar precoce influenciando a produtividade de frangos de corte na idade de abate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, suppl, v. 1, p. 12, 1999.
- GONZALES, E. *et al.* O tempo de jejum do neonato afeta o desempenho do frango de corte na idade de abate. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, suppl, v. 2, p. 4, 2000.
- GONZALES, E. *et al.* Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, v. 82, p. 1250-1256, 2003.

HAGER, J.E.; BEANE, W.L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 62, p. 247-254, 1983.

HAVELY, O. *et al.* Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poults. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1376-1382, 2003.

LODDI, M.M. **Probióticos, prebióticos e acidificante organico em dietas para frangos de corte**. Jaboticabal, 2003, 52 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp.

MACARI, M. Mecanismos de proliferação e reparação da mucosa gastrintestinal em aves. In: **Simpósio de coccidiose e enterite**, Campinas – SP. **Anais...**, 1995

MAIORKA, A. *et al.* Effect of feed and/or water withdrawal on intestinal mucosa development in broiler chicks after hatching. **Poultry Science**, v. 80, p. 393-, 2001.

MAIORKA, A. **Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte**. Jaboticabal, 2002, 112 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp.

MATHER, C.M.; LAUGHLIN, K.F. Storage of hatching eggs: The effects on early embryonic development. **British Poultry Science**, v. 18, p. 597-603, 1977.

MORAN, E.T. Effect of egg weight, glucose administration at hatch, and delayed access to feed and water on the poult at 2 weeks of age. **Poultry Science**, v. 69, p. 1718- 1723, 1990.

MURAKAMI, H.; AKIBA, Y.; HORIGUCHI, M. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal of residual yolk. **Growth Dev. Aging**, v. 56, p. 75-84, 1992.

NIR, I, LEVANON, M. Effect of posthatch holding time on performance and on residual yolk and liver composition. **Poultry Science**, v. 72, p. 1994-1997, 1993.

NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 6, p. 344-354, 1997.

NOY, Y.; SKLAN, D. The effect of different types of early nutrition. **Journal Applied of Poultry Research**, v. 8, p. 16-24, 1999.

- NOY, Y.; GEYRA, A.; SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, v. 80, p. 912-919, 2001.
- PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v. 34, p. 111-120, 1993.
- RICCARDI, R.R.; BOLELI, I.C. Resposta de pintos provenientes de ovos leves e pesados ao jejum de água e ração. In: **Anais do XV Congresso de Iniciação Científica - UNESP. Anais...**, 2005.
- SAS INSTITUTE. **SAS® user's guide: statistics**. 2002. SAS Institute INC., Cary. NC, 2002.
- SHAMOTO, K.; YAMAUCHI, K. Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. **Poultry Science**, v. 79, p. 718-723, 2000.
- SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World Poultry Science**, v. 57, p. 415-428, 2001)
- TONA, K. *et al.* Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality and chick juvenile growth. **Poultry Science**, v. 82, p. 736-741, 2003.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v. 77, p. 75-82, 1998.
- UNI, Z. *et al.* Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens small intestine. **British Poultry Science**, v. 41, p. 410-415, 2000.
- 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**, v. 82, p. 320-327, 2003.
- UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **Poultry Science**, v. 60, p. 101-111, 2004.
- VIERA, S.L.; MORAN, E.T. Effects of egg of origin and chicks post-hatch nutrition on broiler live performance an meat yields. **World's Poultry Science Journal**, v. 55, p. 125-142, 1999.
- YAMAUCHI, K.; Kamisoyama, H.; Isshiki, Y. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. **British**

Poultry Science, v. 37, p. 909-921, 1996.

CAPÍTULO 4 – Número de células caliciformes no intestino delgado de pintos de corte submetidos ao jejum pós-eclosão seguido de alimentação.

Resumo – As células caliciformes produzem dois tipos de mucinas PAS+ e AB+, que recobrem a superfície do epitélio intestinal, cuja função é a proteção contra patógenos, atrito, ação do suco gástrico e pancreático. Este ensaio objetivou avaliar o número de células caliciformes produtoras de mucinas neutras e ácidas, no intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) de pintos submetidos ao jejum alimentar e hídrico (24 e 48 h), seguido de alimentação *ad libitum* até o 5º dia de idade. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Os dados mostraram que jejum pós-eclosão de água e ração provoca aumento no número de células caliciformes PAS+ e AB+, esse aumento é mais evidente nas células caliciformes PAS+, presentes no íleo e das fêmeas, o que pode afetar as funções de absorção e de proteção do intestino delgado.

Palavras-Chave: células caliciformes, intestino delgado, jejum, mucina, pintainho

Introdução

O epitélio do trato intestinal é coberto por uma camada de muco, composta predominantemente por mucinas glicoprotéicas, que protegem os microvilos contra atritos provocados pela passagem da digesta, ação das enzimas digestivas, suco gástrico e agentes patogênicos (FORSTNER & FORSTNER, 1994; FORSTNER *et al.*, 1995), assim como a perda de água através da parede intestinal (MURPHY, 2002).

As mucinas são os principais componentes da camada mucosa (SMIRNOV *et al.*, 2006), podem ser ácidas ou neutras, e são sintetizadas e secretadas pelas células caliciformes (UNI *et al.*, 2003), as quais encontram-se distribuídas ao longo do vilo, têm curto período de vida e são constantemente substituídas. Elas são originárias de células totipotentes, localizadas nas criptas e que sofrem mitoses, cujas células filhas diferenciam-se dando origem aos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio do intestino delgado (CHENG & LEBLOND, 1974).

Até o 17º dia de incubação são encontradas somente mucinas ácidas (HILL *et al.*, 1990; TURCK *et al.*, 1993; SMIRNOV *et al.*, 2006), que podem ter a função de auxiliar na barreira de proteção do intestino, pois este não é totalmente funcional no neonato (CEBRA, 1999). Da eclosão até o 7º dia de idade, são encontradas mucinas ácidas e neutras em proporções similares (SMIRNOV *et al.*, 2006).

A camada de muco tem função protetora e transportadora, e seu desenvolvimento é influenciado pelo tempo de jejum ao qual a ave recém-eclodida é submetida (UNI *et al.*, 2003). Segundo GEYRA *et al.* (2001), o atraso no fornecimento da dieta pós-eclosão causa redução na área superficial dos vilos, resultando em diminuição no número de enterócitos e aumento na densidade de células caliciformes produzindo e secretando mucina ácida e neutra para a superfície dos vilos do jejuno e íleo.

Pouco se sabe sobre os mecanismos de controle da síntese, secreção, e distribuição da mucina durante o *turnover*, além do seu comportamento quanto às mudanças na dieta (SMIRNOV *et al.*, 2004), e se ocorrem diferenças entre os sexos. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a distribuição quantitativa de células caliciformes produtoras de mucinas neutras e ácidas, no intestino delgado (duodeno,

jejuno e íleo) de pintos, de ambos os sexos, submetidos ao jejum (0, 24 e 48h) seguido de alimentação com água e ração *ad libitum* até o 5º dia de idade.

Material e Métodos

Ovos férteis ($57,34 \pm 0,81$ g) de matrizes de 29 semanas de idade (Cobb[®]), obtidos de incubatório comercial, foram incubados a 37,8°C e 60% UR, em incubadoras com giro automático a cada duas horas (Modelo IP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG). No 18º dia de incubação os ovos foram transferidos para os nascedouros (Modelo NP-120, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG), onde foram mantidos à mesma temperatura e umidade relativa de incubação até a eclosão.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, seguindo um fatorial 3 x 2, sendo três períodos de jejum pós-eclosão (0, 24 e 48 h) e dois sexos (machos e fêmeas), para cada idade (2, 3, 4 e 5 dias de idade), exceto para 1 dia de idade, o qual seguiu um fatorial 2 x 2, sendo dois períodos de jejum pós-eclosão (0 e 24 h) e dois sexos (machos e fêmeas).

Após a pesagem e sexagem pela análise das asas, pintos machos e fêmeas recém-eclodidos foram divididos, cada um deles, em três grupos: alimentação *ad libitum* com água e ração (jejum de 0 h); jejum de água e ração por 24 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 24 h); jejum de água e ração por 48 horas, seguido de alimentação com ração e água *ad libitum* (jejum de 48 h). Os pintos foram mantidos em criadeiras (CP, Premium Ecológica, Belo Horizonte, MG), e alimentados com ração pré-inicial, formulada à base de milho e farelo de soja com 22% de PB e 2900 kcal de EM/kg.

As células caliciformes foram quantificadas de acordo com o tipo de mucina produzida, ou seja, mucina neutra e ácida. Para isso, fragmentos de aproximadamente dois cm de comprimento dos três segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo), das aves utilizadas acima, foram fixados em Dietrick (4% de formalina, 28% de etanol, 0,34 N de ácido acético glacial).

Oito cortes semi-seriados, de 5µm de espessura, foram corados com PAS (para determinação da mucina neutra) ou Alcian Blue pH 2,5 (para determinação da mucina ácida), segundo McMANUS (1948) e LEV & SPICER (1964) citado por UNI *et al.* (2003) (Figura 1).

Para as colorações com PAS e Alcian Blue, as secções foram desparafinizadas e reidratadas. Em seguida, os cortes foram incubados em ácido periódico 0,5% por 15 minutos, lavados e incubados com reagente de Schiff, por 30 minutos para obtenção da coloração PAS. Para coloração com Alcian Blue, os cortes foram incubados em ácido acético 3% por três minutos e, então, em solução de Alcian Blue (1% em ácido acético 3% pH 2,5). Após nova lavagem em água quente, os cortes foram desidratados e montados. O número de células caliciformes PAS positivas (PAS+) e Alcian Blue positivas (AB+) foi dado como número de células em 515µm de epitélio. Ao todo foram realizadas, aleatoriamente, cerca de dez contagens por segmento/ave/tratamento, utilizando uma régua micrométrica acoplada a um microscópio de luz.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, através do procedimento GLM do SAS[®] (2002). Para atender as pressuposições da análise de variância foram utilizadas transformações individuais por meio do procedimento Guided Data Analysis do SAS (2002). A transformação utilizada foi $\log_{10}$ para a variável AB+ Duodeno. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

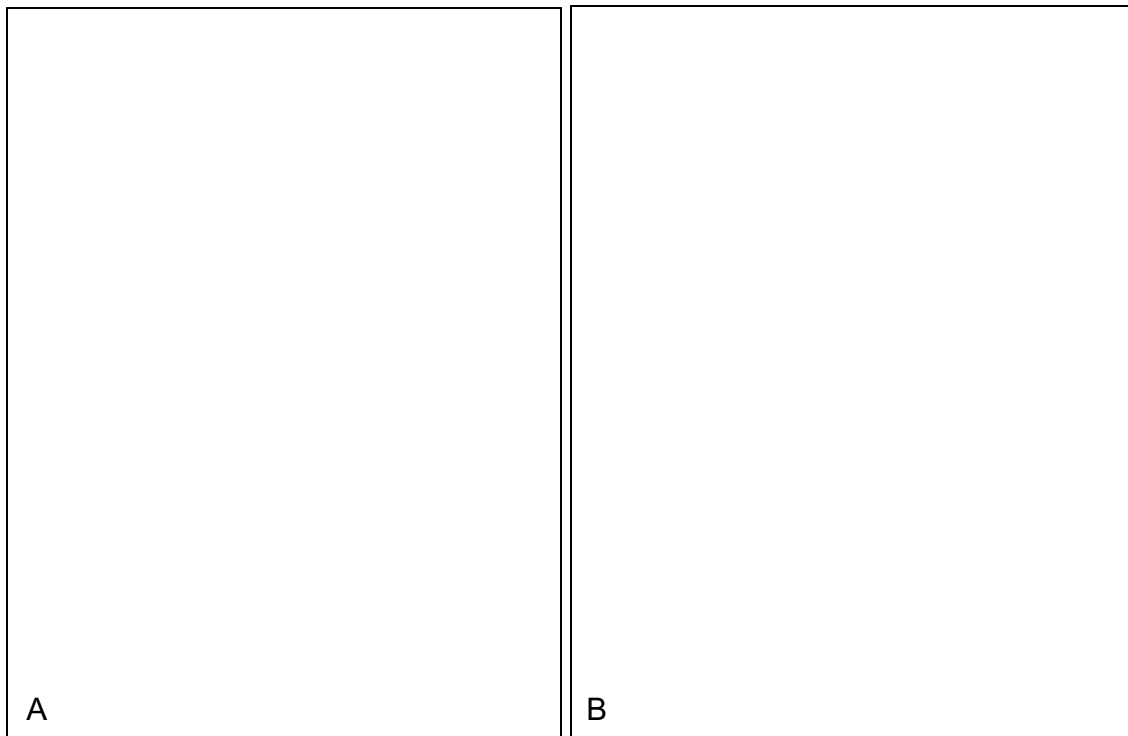


Figura 1. Fotomicrografias de cortes histológicos de vilos intestinais corados com PAS (A) e Alcian Blue (B), para marcação de células caliciformes produzindo mucinas neutras e ácidas, respectivamente.

Resultados e Discussão

O número de células caliciformes PAS+ duodenal foi influenciado significativamente pelo sexo ($p < 0,01$) no terceiro e quinto dia de idade, pelo jejum no quarto dia e houve interação entre sexo e jejum no terceiro dia. De acordo com o desdobramento da interação (Figura 2), no terceiro dia de idade, houve diferença entre o sexo apenas nas aves alimentadas *ad libitum*, sendo que os machos apresentaram maior número de células caliciformes PAS+ do que as fêmeas. No quarto dia de idade, onde as aves submetidas ao jejum de 24 e 48 h apresentaram menor número de células caliciformes PAS+ (Tabela 1). No quinto dia de idade as fêmeas apresentaram maior número de células caliciformes que os machos.