



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

MAURINA LIMA PORTO

**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO E SEUS EFEITOS NA  
MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL E NA RESPOSTA IMUNE DE  
CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*) SUBMETIDAS AO  
ESTRESSE TÉRMICO CRÔNICO POR CALOR APÓS ECLOSÃO**

MOSSORÓ-RN

2018

MAURINA LIMA PORTO

**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO E SEUS EFEITOS NA MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL E NA RESPOSTA IMUNE DE CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*) SUBMETIDAS AO ESTRESSE TÉRMICO CRÔNICO POR CALOR APÓS ECLOSÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

**Linha de Pesquisa:** Morfofisiologia e Biotecnologia Animal.

**Orientador:** José Domingues Fontenele Neto, Prof. Dr. UFERSA.

**Co-orientador:** Diogo Manuel Lopes de Paiva Cavalcanti, Prof. Dr. UFERSA.

MOSSORÓ-RN

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

P839m Porto, Maurina Lima.  
Manipulação térmica durante a incubação e seus efeitos na morfometria da mucosa intestinal e na resposta imune de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas ao estresse térmico crônico por calor após eclosão / Maurina Lima Porto. - 2018.  
108 f. : il.

Orientador: José Domingues Fontenele Neto.  
Coorientador: Diogo Manuel Lopes de Paiva Cavalcanti.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2018.

1. Codornas japonesas. 2. Morfofisiologia. 3. Anatomia. 4. Morfometria. 5. Termotolerância. I. Fontenele Neto, José Domingues, orient. II. Paiva Cavalcanti, Diogo Manuel Lopes de, co-orient.  
III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

MAURINA LIMA PORTO

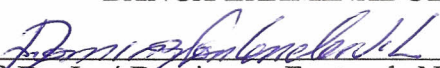
**MANIPULAÇÃO TÉRMICA DURANTE A INCUBAÇÃO E SEUS EFEITOS NA  
MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL E NA RESPOSTA IMUNE DE  
CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*) SUBMETIDAS AO  
ESTRESSE TÉRMICO CRÔNICO POR CALOR APÓS ECLOSÃO**

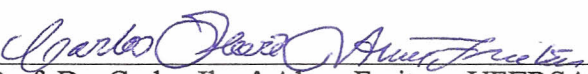
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

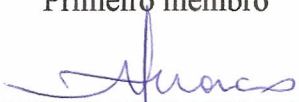
**Linha de Pesquisa:** Morfofisiologia e Biotecnologia Animal.

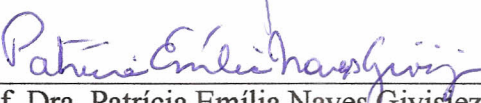
Defendida em: 11 / 12 / 2018.

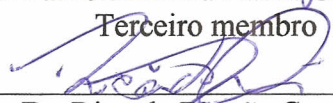
**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof. Dr. José Domingues Fontenele Neto - UFERSA  
Orientador - Presidente

  
Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas - UFERSA  
Primeiro membro

  
Profa. Dr. Moacir Franco de Oliveira - UFERSA  
Segundo membro

  
Prof. Dra. Patrícia Emília Naves Givislez - UFPB  
Terceiro membro

  
Profa. Dr. Ricardo Romão Guerra - UFPB  
Quarto membro

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MAURINA LIMA PORTO** – Nascida no município de Esperança-PB no dia 19/09/1986, filha de Melquesedeque Porto Santos e Maria do Céu Lima Santos, concluiu o ensino médio no Centro Educacional Monteiro Lobato – CEMOL em Esperança-PB. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em 2010.2. Em setembro de 2010, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPB, em nível de mestrado, desenvolvendo dissertação, associando aspectos nutricionais e de ambiência na morfometria da mucosa intestinal e imunidade de pintainhos de corte da linhagem Cobb 500. Em março de 2015, ingressou no doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), desenvolvendo a atual tese, manipulação térmica durante a incubação e seus efeitos na morfometria da mucosa intestinal e na resposta imune de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas ao estresse térmico crônico por calor após eclosão.

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, meu Senhor e Salvador.

Aos meus pais Melquisedeque Porto Santos e Maria do Céu Lima Santos.

Às minhas queridas irmãs Mônica Porto e Magna Cristina.

Aos meus amados sobrinhos Mayara Késsia, Jailson Júnior e Rayanne.

Ao meu amado esposo Gleryston Thiago.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido pela oportunidade concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela atenção, oportunidade e pelo ensino de qualidade.

Ao meu orientador, professor José Domingues Fontenele Neto, por compartilhar seus conhecimentos, por sua paciência, pelos bons conselhos e amizade, por acreditar em mim e sempre me incentivar.

Ao meu co-orientador, Diogo Manuel Lopes de Paiva Cavalcanti, por ser um exemplo de compromisso, dedicação e entusiasmo pelo ensino e pela pesquisa, obrigado por auxiliar na execução da minha tese.

À professora Marcelle Santana de Araújo, pelos ensinamentos prestados e disponibilidade do setor de avicultura.

À banca examinadora, composta pelos professores Carlos Iberê, Juliana Fortes, Moacir Franco, Patrícia Emília, Ricardo Romão Guerra, Leonardo Lelis e Sidnei Sakamoto agradeço pelas sugestões, e contribuições para este trabalho.

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

Aos funcionários do Setor da Avicultura e da Fábrica de Ração da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, por toda paciência e auxílio prestado no meu experimento. Em especial ao Hélio por toda ajuda no trabalho e pelos ensinamentos compartilhados.

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por estar sempre me protegendo, por dar forças para todos os dias enfrentar uma nova batalha, e por mais difícil e árdua que ela seja. Por ensinar que as coisas têm seu tempo, que não adianta ser ansiosa ou sofrer com antecedência, pois tudo na vida tem seu tempo.

Aos meus Pais Melquisedeque Porto e Maria do Céu por terem proporcionado uma boa educação, por todo amor e dedicação durante esses anos.

As minhas irmãs Mônica e Magna por ser meu porto seguro. Vocês são um exemplo de determinação, coragem, humildade e sucesso. Eu amo vocês.

Aos meus amados sobrinhos Mayara Késsia, Jailson Júnior e Rayanne, pois ao lado deles volto a ser criança. É muito difícil ficar longe de vocês, mas titia ama muito, meus anjinhos.

A meu esposo Gleryston Thiago que esteve sempre ao meu lado, mesmo que em alguns momentos à distância. Que teve toda paciência do mundo para suportar meus dias de estresse e mal humor. Você é o melhor presente que Deus colocou na minha vida nesses últimos anos, sendo muito mais que meu esposo é meu amigo, companheiro é simplesmente minha alma gêmea.

Aos meus queridos amigos que lutaram ao meu lado me apoiando e ajudando para que o trabalho pudesse ser realizado e que junto comigo estão comemorando essa realização. Obrigada a Maria, Ligia, Jaqueline, Natanael, Daniel, Brenno e Herbson.

Aos meus colegas de doutorado pelo companheirismo e amizade ao longo desse período, em especial aos meus queridos amigos Tiago Teófilo, Lívia, Vanessa e Paloma.

À empresa Fujikura pela aquisição dos ovos.



Eu sempre acreditei, e ainda acredito que qualquer boa ou má sorte pode vir em nosso caminho, podemos sempre dar-lhe significado e transformá-lo em algo de valor.

Hermann Hesse

**Manipulação térmica durante a incubação e seus efeitos na morfometria da mucosa intestinal e na resposta imune de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas ao estresse térmico crônico por calor após eclosão**

**RESUMO** – A alta temperatura ambiente é uma preocupação para o setor da coturnicultura, uma vez que o estresse térmico por calor provoca redução no ganho de peso, danos estruturais na mucosa intestinal, imunossupressão e aumento da mortalidade. No entanto, a manipulação térmica durante a incubação surge como alternativa para aquisição da termotolerância nas codornas japonesas. Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar os efeitos da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros de incubação, desempenho, morfometria da mucosa duodenal, bem como a resposta imune de codornas japonesas desafiadas termicamente após eclosão. Foram utilizados quinhentos e quarenta ovos adquiridos de um incubatório comercial distribuídos em três incubadoras comerciais, todas as incubadoras foram mantidas com temperatura de 37,8°C, umidade 60% e viragem automática a cada duas horas. A partir do 6° dia de incubação até o momento da eclosão as temperaturas foram ajustadas para 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta). No 15° dia de incubação as incubadoras foram programadas para cessar a viragem dos ovos. O nascimento das codornas foi acompanhado a cada 3 horas, a partir do 16° até 21° dia de incubação. Todos os ovos não eclodidos foram abertos e passaram pelo embriodiagnóstico para determinar o período da mortalidade embrionária. As codornas que eclodiram foram avaliadas quanto à qualidade física pelo escore de 0 a 100 pontos, além disso, foram pesadas e distribuídas de forma uniforme, em um delineamento inteiramente casualizado com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas ambiente (estresse e termoneutro). Aos 10, 20, 30 e 40 dias todas as codornas foram pesadas para determinar o peso vivo e ganho de peso. Quatro codornas de cada tratamento foram eutanasiadas para coleta do duodeno, bolsa cloacal, fígado e coração para determinar o peso absoluto, peso relativo e para avaliar a morfometria da mucosa duodenal e a área dos folículos bursais. Foram coletado sangue de quatro codornas por tratamento aos 30 e 40 dias para realização do hemograma, leucograma e bioquímica sérica. Os dados foram analisados estatisticamente e as diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A temperatura de incubação 39,5°C a partir do 6° dia de incubação reduziu o índice de eclosão e o peso vivo ao nascer, no entanto, a qualidade física das codornas foi semelhante à

temperatura padrão. Para as outras variáveis estudadas, observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos sobre o peso vivo, ganho de peso, peso absoluto do fígado, coração, bolsa cloacal e na área dos folículos bursais, onde ocorreu redução nesses parâmetros quando as codornas foram desafiadas termicamente por calor. Aos 30 e 40 dias foi observado heterofilia, linfopenia e aumento da relação heterófilos/linfócitos. Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) da temperatura de incubação e ambiente sobre os valores do eritrograma e proteinograma. No entanto, a manipulação térmica durante a incubação com temperatura  $39,5^{\circ}\text{C}$  aumentou altura dos vilos, relação vilo/cripta, área de absorção da mucosa duodenal e área dos folículos bursais das codornas desafiadas termicamente por calor após eclosão. Esses resultados sugerem que o estresse térmico por calor em codornas japonesas, reduz o desempenho e causa imunossupressão. No entanto, a manipulação térmica durante a incubação pode induzir mudanças comportamentais e fisiológicas, que possibilitem a aquisição da termotolerância em codornas japonesas desafiadas termicamente por calor após eclosão.

**Palavras-chave:** Codornas japonesas, Morfofisiologia, Anatomia, Morfometria, Termotolerância

**Thermal manipulation during incubation and its effects on morphometry on the intestinal mucous membrane and on the immune response of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) subjected to chronical thermal stress by heat after hatching**

**ABSTRACT** – The high temperature environment is a concern for the coturniculture sector, since heat stress causes a reduction in weight gain, structural damage to the intestinal mucosa, immunosuppression and increased mortality. However, the thermal manipulation during incubation appears as an alternative for thermo tolerance acquisition in Japanese quail. Thus, the objective of this work was to evaluate the effects of thermal manipulation during incubation on the parameters of incubation, performance, duodenal mucosa morphometry, as well as the immune response of Japanese quails challenged thermally after hatching. Five hundred and forty eggs purchased from a commercial hatchery distributed in three commercial incubators were used, all incubators were maintained at 37,8°C, 60% humidity and automatic turning every two hours. From the 6<sup>th</sup> day of incubation until hatching temperatures were adjusted to 37,8°C (standard), 38,5°C (intermediate) and 39,5°C (high). On the 15<sup>th</sup> day of incubation the incubators were programs to stop the eggs turning. The birth of the quails was monitored every 3 hours, from the 16<sup>th</sup> to the 21<sup>th</sup> day of incubation. All unhatched eggs were opened and underwent embryodiagnosis to determine the period of embryonic mortality. The hatching quails were evaluated for physical quality from 0 to 100 points, and were weighed and evenly distributed in a completely randomized design with three incubation temperatures (37,8, 38.5 and 39,5°C) and two ambient temperatures (stress and thermoneutral). At 10, 20, 30 and 40 days all quails were weighed to determine live weight and weight gain. Four quails from each treatment were euthanized to collect the duodenum, cloacal pouch, liver and heart to determine absolute weight, relative weight, and to evaluate morphometry of the duodenal mucosa and the area of the bursal follicles. Four quail blood samples were collected per treatment at 30 and 40 days for hemogram, leukogram and serum biochemistry. The data were analyzed statistically and the differences between the averages were determined by the Tukey test at 5% probability. The incubation temperature 39,5°C from the 6<sup>th</sup> day of incubation reduced hatching rate and live birth weight, however, the physical quality of the quails was similar to the standard temperature. For the other variables studied, we observed a significant effect ( $P < 0,05$ ) of treatments on live

weight, weight gain, absolute liver weight, heart, cloacal sac and in the area of the bursal follicles, where reduction occurred in these parameters when the quails were heat-challenged. At 30 and 40 days heterofilia, lymphopenia and increased heterophil/lymphocyte ratio were observed. There was no effect ( $P>0,05$ ) of incubation temperature and environment on erythrogram and proteinogram values. However, thermal manipulation during incubation at 39,5°C increased villu height, villu/crypt ratio, duodenal mucosal absorption area, and area of the bursal follicles of quails heat-challenged by heat after hatching. These results suggest that heat stress in Japanese quails reduces performance and causes immunosuppression. However, thermal manipulation during incubation can induce behavioral and physiological changes that allow the acquisition of thermotolerance in Japanese heat-challenged quail after hatching.

**Keywords:** Japanese Quail, Morphology, Anatomy, Morphometry, Thermotolerance

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Capítulo I - Considerações Gerais.....</b>	<b>22</b>
Figura 1 - Sistema digestório de codorna japonesa ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) aos 30 dias de idade.....	28
<b>Capítulo II - Parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) submetidas a manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após eclosão.....</b>	<b>52</b>
Figura 1 - Ganho de peso (g) das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas à manipulação térmica durante e após eclosão.....	79

## LISTA DE GRÁFICO

	Pág.
<b>Capítulo I - Considerações Gerais.....</b>	<b>22</b>
Gráfico 1 - Evolução do efetivo de codornas no Brasil no período de 2007-2013.....	24

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Pág.
<b>Capítulo II - Parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) submetidas a manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após eclosão.....</b>	<b>52</b>
Quadro 1 - Peso vivo neonato, eclodibilidade, escore de qualidade física e mortalidade das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) submetidas a manipulação térmica durante a incubação.....	71
Quadro 2 - Peso vivo (g) das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	72
Quadro 3 - Peso absoluto(g) do duodeno de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	73
Quadro 4 - Peso relativo (%) do duodeno de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	74
Quadro 5 - Altura do vilão ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	75
Quadro 6 - Profundidade de cripta ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	76
Quadro 7 - Relação vilão/cripta ( $\mu\text{m}/\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	77

Quadro 8	- Área de absorção do duodeno das codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão.....	78
<b>Capítulo III</b>	<b>- Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e características morfológicas da bolsa cloacal de codornas japonesas submetidas ao estresse crônico por calor.....</b>	<b>81</b>
Tabela 1	- Peso absoluto (g) e relativo (%) da bolsa cloacal de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações .....	87
Tabela 2	- Peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações .....	88
Tabela 3	- Peso absoluto (g) e relativo (%) do coração de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações .....	89
Tabela 4	- Leucócitos (Leu), Heterófilos (H), Linfócitos (L), Eosinófilos (E), Monócitos (M), Basófilos (B) e relação Heterófilo/Linfócitos (H/L) de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 30 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.....	91
Tabela 5	- Leucócitos (Leu), Heterófilos (H), Linfócitos (L), Eosinófilos (E), Monócitos (M), Basófilos (B) e relação Heterófilo/Linfócitos (H/L) de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.....	92



Tabela 6	- Eritrograma de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.....	93
Tabela 7	- Proteinograma de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.....	94
Tabela 8	- Área dos folículos bursais ( $\mu\text{m}^2$ ) de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ALB	Albumina
B	Basófilo
cm	Centímetro
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CRH	Hormônio liberador da corticotropina
CHCM	Concentração da hemoglobina corpuscular média
E	Eosinófilo
g	Gramas
GALT	Tecido linfóide associado ao intestino
H	Heterófilo
HE	Hematoxilina e Eosina
H/L	Relação heterófilo/linfócito
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HI	Hemaglutinação indireta
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
L	Linfócito
Leu	Leucócitos
mm	Milímetro
M	Monócito
MT	Manipulação térmica
NK	Natural Killer
PT	Proteína total
SAS	Statistical Analysis System
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
VCM	Volume corpuscular médio

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
h	Hora
®	Marca registrada
%	Porcentagem
µm	Micrômetro
±	Mais ou menos
R\$	Cifrão do real

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1. Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Geral.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Específicos.....</b>	<b>21</b>
<b>3 Capítulo I – Considerações Gerais.....</b>	<b>22</b>
4 Fundamentação Teórica.....	23
4.1 Produção de Codornas Japonesas.....	23
4.2 Manipulação térmica da temperatura de incubação.....	25
4.3 Sistema Digestório.....	28
4.3.1 Efeito do estresse térmico por calor sobre a morfometria intestinal.....	32
4.4 Sistema Imune.....	34
4.4.1 Efeito do estresse térmico por calor no sistema imune.....	37
5 Referências.....	40
<b>6 Capítulo II – Parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) submetidas a manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após eclosão.....</b>	<b>51</b>
Abstract.....	52
Resumo.....	53
Introdução.....	54
Material e Métodos.....	56
Resultados.....	58
Discussão.....	61
Conclusão.....	66
Referências.....	66
<b>7 Capítulo III – Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e características morfológicas da bolsa cloacal de codornas japonesas submetidas ao estresse crônico por calor.....</b>	<b>80</b>
Resumo.....	81

Abstract.....	82
Introdução.....	82
Material e Métodos.....	84
Resultados.....	86
Discussão.....	95
Conclusão.....	102
Referências.....	102

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a coturnicultura é uma atividade estável, economicamente rentável e com boas perspectivas de crescimento dentro do setor avícola. Além disso, ela gera muitos empregos e aumenta a renda familiar dos pequenos e médios produtores. Sua ampla expansão está relacionada a fatores como rápido crescimento dos animais, precocidade na produção e maturidade sexual, alta produtividade, baixo investimento inicial, retorno financeiro rápido e necessidade de pequenas áreas para sua produção (SILVA et al., 2018).

Fatores como melhoramento genético, nutrição, manejo sanitário, incubação artificial e o controle da temperatura ambiente, umidade e velocidade do ar são fundamentais para o desenvolvimento do setor (SOUSA et al., 2014). Para codornas, a temperatura ambiente confortável varia entre 18 e 30°C com a temperatura ótima entre 21 e 27°C, sendo necessário o resfriamento quando a temperatura excede 30°C. Por isso, o aumento da temperatura ambiente é uma preocupação na coturnicultura. Quando a temperatura ambiente excede a zona de conforto, as aves têm dificuldade de dissipar calor corporal para o ambiente, ocorrendo aumento na temperatura interna (BAËTA & SOUZA, 2010).

Para tentar restabelecer a homeotermia, mudanças comportamentais e fisiológicas são desencadeadas: as aves reduzem o consumo de alimento para reduzir a produção de calor metabólico do processo de digestão e gastam energia para perder calor através da evaporação. Desta forma, são observadas mudanças adversas na taxa de crescimento, produtividade, qualidade do ovo, utilização da ração, qualidade da carne, características da carcaça, fertilidade e eclodibilidade (SANTOS et al., 2017).

Para tentar reverter esse quadro, alguns estudos vêm destacando o papel da manipulação térmica durante a incubação para maximizar a eficiência produtiva e promover o bem-estar animal, minimizando os efeitos deletérios que as altas temperaturas acarretam. Desta forma, a manipulação da temperatura de incubação pode ser utilizada como uma importante ferramenta para aquisição da termotolerância em codornas submetidas a desafio térmico por calor, após eclosão.

Para Piestun et al. (2009), para que ave adquira termotolerância quando desafiada, a manipulação da temperatura de incubação deve ser realizada durante o desenvolvimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Segundo Al-Zghoul (2018), a manipulação térmica durante a incubação

promove redução nos níveis plasmáticos de T3 em frangos desafiados; essa redução na taxa metabólica está relacionada com aquisição da termotolerância. Segundo Alkan et al. (2013), a manipulação da temperatura de incubação na fase inicial da embriogênese promove mudanças epigenéticas que pode contribuir para aliviar os problemas associados ao estresse térmico por calor após eclosão em codornas japonesas. As mudanças fenotípicas promovidas durante o período de desenvolvimento embrionário são transmitidas até terceira geração em codornas japonesas (Guibert et al. 2011; Zimer et al. 2017).

Pesquisas têm relatado aquisição da termotolerância através da manipulação térmica durante a incubação em algumas aves como frangos de corte e galinhas poedeiras. No entanto, poucos estudos foram realizados em codornas japonesas para verificar os efeitos da manipulação térmica durante a incubação sobre o desempenho, morfometria da mucosa intestinal e resposta imune dessas aves desafiadas termicamente após eclosão.

O Capítulo I consiste em uma revisão sobre os efeitos do estresse térmico por calor sobre diversos parâmetros morfológicos, produtivos e resposta imune, além de informações sobre a manipulação térmica durante a incubação como ferramenta para aquisição da termotolerância em codornas japonesas desafiadas termicamente após eclosão. Já, o Capítulo II descreve como a manipulação térmica durante a incubação pode auxiliar a minimizar os efeitos deletérios do calor sobre os parâmetros de incubação, desempenho e a morfometria intestinal. Finalmente, o Capítulo III descreve como a manipulação térmica durante a incubação pode reverter os efeitos deletérios do calor sobre peso absoluto e relativo da bolsa cloacal, coração e fígado, sobre o eritrograma, leucograma, bioquímica sérica e parâmetros da morfologia da bolsa cloacal.

## 2. Objetivos

### 2.1 Geral

Avaliar a aquisição da termotolerância através da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros de incubação, desempenho, morfometria da mucosa duodenal, bem como a resposta imune de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) desafiadas termicamente após eclosão.

### 2.2 Específicos

- ✓ Avaliar o peso vivo ao nascer, índice de eclosão, escore da qualidade física e embriodiagnóstico das codornas japonesas que sofreram manipulação térmica durante a incubação;
- ✓ Avaliar o peso vivo e o ganho de peso de codornas japonesas submetidas à manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após a eclosão;
- ✓ Mensurar o peso absoluto e relativo da bolsa cloacal, coração, fígado e duodeno de codornas japonesas submetidas à manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após a eclosão;
- ✓ Determinar altura do vilo, profundidade de cripta, relação vilo/cripta e área de absorção do duodeno de codornas japonesas submetidas à manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após a eclosão;
- ✓ Analisar os efeitos da manipulação térmica durante a incubação em codornas japonesas desafiadas termicamente após a eclosão sobre os parâmetros sanguíneos (eritrograma, leucograma e bioquímica sérica);
- ✓ Avaliar, a morfometria da área dos folículos bursais das codornas japonesas submetidas à manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após a eclosão.



**3. Capítulo I**  
**Considerações Gerais**

## 4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 4.1. Produção de Codornas Japonesas

A coturnicultura é um segmento da avicultura brasileira que cria, melhora e fomenta a produção de codornas. Esta atividade do setor avícola tem evoluído nos últimos anos, por ser uma cultura de manejo simplificado (BERTECHINI, 2010) que exige baixo investimento e tem rápido retorno financeiro (PASTORE et al., 2012). De acordo com Silva et al. (2018), a coturnicultura representa uma alternativa potencial para agregação de renda ao pequeno produtor, pois o retorno do investimento ocorre no segundo ano de produção. A produção de ovos ou de carne é uma excelente alternativa para alimentação humana, sendo produtos de alta qualidade nutricional, saudável e sabor diferenciado (PASTORE et al., 2012).

Segundo Silva et al. (2009a) as codornas possuem as seguintes qualidades: rápido crescimento, precocidade na produção e maturidade sexual, alta produtividade, rusticidade elevada e baixo consumo de alimento, além disso, necessita de pequenas áreas para sua produção. Todos esses fatores permitem que a coturnicultura seja uma atividade promissora no país e que cada vez mais ganha destaque no setor avícola.

As codornas pertencem à ordem dos galináceos, Família Fasianidae e Gênero *Coturnix* elas podem ser utilizada para a postura de ovos comerciais ou para comercialização de sua carcaça, e para cada finalidade há uma espécie que deve ser, de preferência, de boa procedência. A espécie utilizada para a postura de ovos comercial é a codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), a qual é bem difundida no mundo inteiro devido à sua alta precocidade e grande produtividade (PHILIPPSSEN et al., 2014).

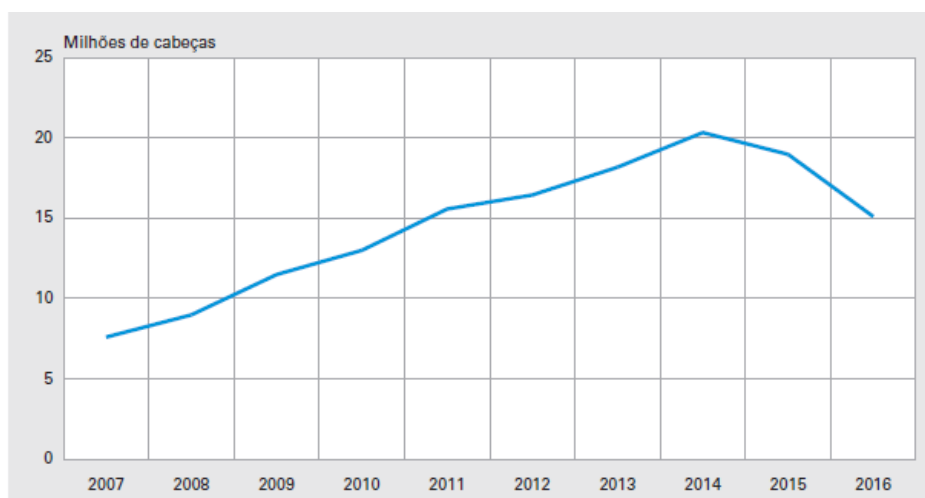
No Brasil, temos a ocorrência de duas linhagens; a selecionada para produção de carne, chamada de codorna Européia ou codorna Italiana, e a selecionada para produção de ovos, chamada de codorna japonesa (MÓRI et al., 2005). No entanto, a coturnicultura no Brasil é predominantemente voltada para produção de ovos; as aves apresentam alto índice de produtividade, em média, cerca de trezentos ovos por ciclo produtivo. O peso corporal da linhagem para postura é, em média, 145 (g) com 35 dias de idade e 12 (g) é o peso médio de seus ovos (PINTO et al., 2002). O setor de ovos de codorna está em ampla expansão no mercado brasileiro, uma vez que o tamanho reduzido do ovo de codorna tem conquistado a simpatia das crianças, adolescentes e

adultos, além disso, apresentação de ovos em conserva são fatores que também impulsionaram a elevação do consumo de ovos de codornas, e conseqüentemente, sua produção (BERTECHINI, 2010).

Segundo De Sousa et al. (2017), a maior parte dos consumidores de ovos de codornas adquirem o produto pelo seu valor nutricional e em segundo lugar pelo seu sabor. De acordo com Baptista (2002), o ovo de codorna é um alimento de excelente qualidade, com alta digestibilidade sendo considerado um alimento completo e de alto valor biológico, rico em aminoácidos essenciais, alto valor protéico e baixo teor de colesterol, além, dos elevados teores de ferro, manganês, cobre, fósforo, cálcio, vitaminas A, B1, B2, D e E, ácido pantotênico e piridoxina.

De acordo o IBGE (2016), o efetivo nacional de codornas, independente da finalidade de criação (produção de carne ou ovos), foi de 15,1 milhões de aves, no entanto, houve uma queda de 20,4% em relação ao ano anterior de acordo com gráfico 1.

**Gráfico 1.** Evolução do efetivo de codornas no Brasil no período de 2007-2013.



**Fonte:** IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2007-2016.

Essa redução está relacionada com perda do poder aquisitivo da população, que provocou uma redução na demanda de ovos e carnes de codornas, fazendo com que os produtores diminuíssem seus efetivos para reduzir os custos. A redução ocorreu em todo território nacional, porém a maior proporção foi observada na região Sudeste, onde se encontra o maior plantel. Na região Nordeste observou uma retração de 12,2%, com

maiores perdas observadas nos estados do Ceará e Pernambuco, os quais possuem metade do plantel da região. No entanto, em 2017 o plantel de codornas retomou seu crescimento de forma discreta, chegando a alcançar um total de 15,5 milhões de aves (IBGE, 2017).

A produção brasileira de ovos de codorna em 2016 foi de 273,30 milhões de dúzias, gerando um rendimento de R\$ 265,76 milhões. A produção concentra-se na Região Sudeste, responsável por 68,3% da produção, sendo que São Paulo produziu 83,16 milhões de dúzias, 30,4% do total nacional. Nesse período, a produção sofreu uma queda, segundo os produtores um dos motivos foi a dificuldade de atender à legislação sanitária, isto levou à saída de muitos dessa atividade. O Nordeste apresentou uma retração de 12,9% na produção de ovos. Todos os estados da região, com exceção da Paraíba e do Piauí, apresentaram produção inferior à de 2015. Ceará e Pernambuco foram responsáveis por 64,4% da produção nordestina, sendo que os estados registraram quedas de, respectivamente, 20,9% e 7,1% (IBGE, 2016).

#### **4.2. Manipulação térmica da temperatura de incubação**

O principal objetivo da incubação é produzir pintainhos de um dia com qualidade, para venda e distribuição no setor avícola. No processo de incubação, o controle da temperatura, umidade relativa, viragem, ventilação e concentração de gases são parâmetros importantes neste processo (OVIÉDO-RONDÓN & WINELAND, 2012).

Durante a incubação, os embriões passam pelo estágio de diferenciação celular, desenvolvimento dos órgãos e dos sistemas fisiológicos de regulação, onde as fases se interpõem em um processo contínuo. No início da incubação temos o desenvolvimento de um organismo ectotérmico, que precisa de calor do ambiente, para um organismo endotérmico, que produz grande quantidade de calor no final da incubação (OVIÉDO-RONDÓN & WINELAND, 2012). Por isso no segundo estágio, especialmente após o 9º dia de incubação, a temperatura ideal torna-se difícil de conseguir devido à produção excessiva de calor dos embriões em desenvolvimento (LOURENS et al., 2007).

O desenvolvimento normal pós-eclosão somente é possível quando ocorre a maturação funcional dos órgãos e o ajuste dos circuitos fisiológicos integrados, que se dá nos dias finais da incubação (BOERJAN, 2010).

A temperatura caracteriza-se como um dos fatores mais importantes para definir a eclodibilidade de ovos férteis. Pequenas mudanças na temperatura podem causar grandes impactos no desenvolvimento embrionário, podendo levar o embrião à morte na primeira semana de incubação (PRIMMETT et al., 1988). No entanto, os embriões são mais sensíveis a altas temperaturas no final da incubação (ONO et al., 1994), o que pode promover elevados índices de mortalidade na última semana de incubação (14-21 dias). Além disso, ela interfere na qualidade dos pintainhos e também na capacidade de adaptação após a eclosão (CALIL, 2010). A manipulação térmica durante a incubação desencadeia adaptação epigenética, assim, as aves adquirem a termotolerância em condições ambientais quentes (PIESTON et al., 2008; LOYAU et al., 2013; ALKAN et al., 2013; LOYAU et al., 2016).

A temperatura ótima de incubação para as aves domésticas situa-se entre 37 e 38°C, podendo esta variar de acordo com a umidade que pode variar de 40 a 70% e a ventilação da incubadora (VISSCHEDIJK, 1991). Existe uma correlação direta entre a temperatura de incubação e o tempo de incubação do embrião da ave, como se observa em perus (FRENCH, 1994), patos (APPLEGATE et al., 1998), e frango (DECUYPERE & MICHELS, 1992), onde temperaturas abaixo de um nível ótimo retardam o desenvolvimento embrionário, e temperaturas acima da mesma aceleram (WILSON, 1991), entretanto, para outras espécies, como codornas, mais pesquisas devem ser desenvolvidas.

Joseph et al. (2006), observaram que altas temperaturas no início da incubação reduziram a eclodibilidade, e altas temperaturas no nascedouro aumentaram o percentual de pintainhos fracos e deformados.

De acordo com Barral (2002), a temperatura ótima de incubação para ovos de codorna é de 37,5 a 38,0°C para todo o período de desenvolvimento embrionário.

Pedroso et al. (2006) trabalharam com três tempos de estocagem (0, 72 e 144 dias), duas temperaturas (36,5 e 37,5°C) e duas umidades relativas (55 e 65%) para incubação de ovos de codornas japonesas e observaram que esses fatores interferem na eclodibilidade e no desenvolvimento embrionário, sendo o menor índice de eclosão relatado quando aumenta o tempo de estocagem e com a temperatura e umidade de 36,5°C e 55% respectivamente.

Romão et al. (2009), estudaram diferentes temperaturas de incubação e observaram que ovos incubados a 37 e 38°C apresentam melhor índice de incubação; ovos incubados a 40°C eclodem mais cedo, no entanto, está temperatura aumenta o

índice mortalidade embrionário no estágio final do desenvolvimento do embrião. Estes dados corroboram com os encontrados por Ionatã et al. (2010) que relataram que a temperatura de incubação para codornas japonesas variou entre 37,5 a 40,0°C de acordo com a fase de incubação, sendo na fase inicial de (0 a 12 dias) 37,7°C, entre 13 a 15 dias temperatura 37°C e, no final da incubação, temperatura de 37,1°C e a umidade em torno 60%.

Alkan et al. (2013) utilizaram 41°C de temperatura no estágio final de incubação de codornas japoneses por três horas consecutivas, observou que esta temperatura reflete em menor índice de eclosão. No entanto, os pintainhos apresentam maior peso ao nascer, que se mantém até cinco semanas de idade em ambos os sexos, os autores atribuem esse fato a adaptação epigenética durante incubação, tornando essas aves mais resistentes as variações das temperaturas ambientais. Foi relatado anteriormente que a exposição de embriões a altas ou baixas temperaturas durante a incubação melhoram sua capacidade de adaptação a ambientes quentes ou frios, respectivamente, na fase pós-incubação (TZSCHENTKE & BASTA 2000; YAHAV et al., 2004).

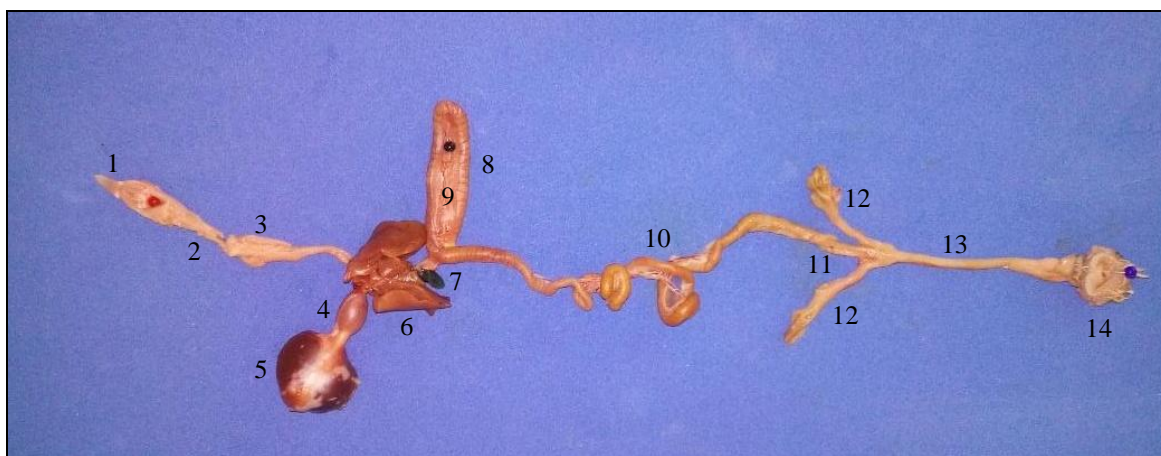
Segundo Pieston et al. (2008), durante a embriogênese, quando os eixos hipotálamo-hipófise-tireóide e hipotálamo-hipófise-adrenal estão se desenvolvendo e amadurecendo, se estes embriões forem submetidos a temperaturas de 39,5°C por 24 horas até eclosão, refletirá em melhor aclimação desses aves ao estresse térmico agudo na idade de mercado, quando os frangos são mais susceptíveis ao estresse térmico por calor. De acordo com Badran et al. (2012), altas temperaturas de incubação no final do desenvolvimento embrionário podem induzir mudanças fisiológicas que proporcionam adaptação térmica epigenética; essa aquisição na termotolerância é um mecanismo eficiente para ser empregado em aves que vão lidar com o estresse térmico pós-eclosão.

Esses dados corroboram os dados de Loyau et al. (2013), que relataram que a manipulação da temperatura de incubação do embrião modifica as respostas fisiológicas dos frangos de corte a longo prazo, sendo uma ferramenta a ser utilizada pela avicultura para tornar os frangos mais tolerantes ao calor, sem afetar a qualidade da carne. Os frangos de corte manipulados termicamente durante a incubação podem apresentar menor intensidade metabólica no músculo, resultando em diminuição da produção de calor metabólico, enquanto modificações na vascularização podem aumentar a perda de calor. Essas mudanças específicas poderiam, em parte, explicar a melhor adaptação dos frangos de corte manipulados termicamente ao calor (LOYAU et al., 2016).

Segundo Al-Zghoul, (2018) a manipulação térmica durante a incubação promove redução dos níveis plasmáticos circulantes de T3 em frangos desafiados termicamente na fase produtiva, essa redução da taxa metabólica está relacionada com aquisição da termotolerância. Berrama et al. (2018) observou que o condicionamento térmico precoce aos 5 dias de idade em frangos de corte altera os parâmetros sanguíneos de aves desafiadas termicamente na vida adulta, promovendo o aumento no hematócrito e no número de hemácias circulantes. Os autores sugerem que o aumento desses parâmetros poderia ser uma resposta adaptativa ao condicionamento térmico precoce.

### 4.3. Sistema Digestório

O sistema digestório das aves compreende os seguintes componentes: língua, esôfago, inglúvio (papo), estômago glandular (pró-ventrículo), estômago mecânico (moela ou ventrículo), intestino delgado (formado por duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (cecos e cólon) e cloaca (figura 1).



**Figura 1.** Sistema digestório de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) aos 30 dias de idade. Em (1) língua, (2) esôfago, (3) inglúvio/papo, (4) pró-ventrículo, (5) moela, (6) fígado, (7) vesícula biliar, (8) duodeno, (9) pâncreas, (10) jejuno, (11) íleo, (12) ceco, (13) cólon, (14) cloaca. **Fonte:** Arquivo pessoal (2017).

Sua principal função é obter as moléculas necessárias para manutenção e crescimento e as demais necessidades energéticas do organismo a partir dos alimentos ingeridos. O sistema digestório não é apenas importante para digestão e a absorção dos nutrientes; ele consiste em uma barreira protetora entre o conteúdo luminal (meio

externo) e meio interno do organismo, exercendo função de proteção. O sistema digestório das aves difere em várias particularidades morfofisiológicas em relação aos mamíferos (ZAHER et al., 2012).

Nas aves a boca tem formato de bico, palato duro (não apresenta palato mole), língua, glândulas salivares, coana e infundíbulo. As aves, ao contrário dos mamíferos, não apresentam distinção clara entre a faringe e a cavidade oral, sendo esta cavidade denominada de orofaringe. O palato contém uma fissura longitudinal, a coana, que comunica a orofaringe com cavidade nasal. O paladar e o olfato são menos desenvolvidos que nos mamíferos devido ao reduzido número de receptores químicos. Esta deficiência é compensada por células sensoriais, localizadas no palato superior, chamadas de mecanorreceptores, que respondem ao estímulo do contato com o alimento. O formato do bico varia conforme a dieta e as estratégias de forrageamento (BUENO, 2006; DENBOW, 2015).

A língua das aves tem a função de apreensão, seleção e deglutição dos alimentos, porém, ela é menos móvel do que a dos mamíferos. Seu tamanho e forma dependem da conformação do bico. Assim, as das galinhas são estreitas e pontiagudas. Histologicamente, a cavidade oral e língua são caracterizadas por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, no dorso da língua das galinhas existe uma fila de papilas filiformes e cônicas direcionadas para trás a qual auxiliam no processo de deglutição. Na mucosa lingual há terminações nervosas que servem para percepção tátil. A língua está acima do osso hióide, formando um conjunto móvel. Os músculos linguais propriamente ditos, que constituem a base do órgão de referência, são rudimentares, sendo assim, sua mobilidade é escassa. Na submucosa da cavidade oral, existem glândulas semelhantes às salivares, pouco desenvolvidas, tendo formato tubular ramificado simples e secreção mucosa (DENBOW, 2015; SOUSA et al., 2015).

O esôfago é um órgão tubular de parede fina e distensível que transporta o alimento da orofaringe até o estômago. Seu comprimento médio é  $15,50 \pm 1,51$  cm, sendo observados dois segmentos: um cervical e outro torácico. Estruturalmente, possui quatro túnicas, sendo elas (do lúmen em direção a sua parede externa): mucosa, submucosa, muscular e adventícia. A mucosa é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado, a lâmina própria é composta por tecido linfático difuso e glândulas mucosas túbulo alveolares ramificadas e a muscular da mucosa formada por tecido ondulado (formando dobras) de músculo liso orientando em sentido longitudinal em direção ao lúmen (ZAHER et al., 2012; SOUSA et al., 2015). O inglúvio é um



divertículo esofágico que armazena alimento, seu comprimento médio é  $4,88 \pm 0,99$  cm e diâmetro médio de  $30,38 \pm 5,42$  mm. Este difere estruturalmente do esôfago por não ser comum a visualização das glândulas mucosas (SOUSA et al., 2015).

O estômago das aves consiste em dois componentes separados: o estômago glandular e o estômago muscular. O mais anterior é glandular e denominado proventrículo. É um órgão fusiforme, localizado entre o inglúvio e a moela; esta estrutura é exclusiva das aves, e é onde a digestão química se inicia (ZAKER et al., 2012). Sua organização estrutural é similar à maioria dos órgãos do sistema digestório. A sua mucosa consiste de células epiteliais colunares e glândulas mucosas que produzem muco para o umedecimento do alimento. A camada submucosa possui glândulas digestivas, que secretam pepsina, a qual inicia a quebra das proteínas, e o ácido clorídrico, que eleva a acidez do estômago para aumentar a ação das enzimas digestivas (SOUSA et al., 2015). A túnica muscular é constituída por uma camada de músculo liso longitudinal internamente e circular externamente. A túnica serosa é composta por tecido conjuntivo frouxo revestido por uma camada de células pavimentosas do mesotélio (DAHEKAR et al., 2014).

Além do estômago glandular, as aves possuem um estômago muscular ou mecânico, denominado ventrículo ou moela, o qual está situado entre o proventrículo e a primeira porção do intestino delgado, o duodeno. Estruturalmente esse órgão possui uma túnica mucosa com presença de um conteúdo queratinóide em direção ao lúmen, que protege o epitélio adjacente do ácido clorídrico e pepsina proveniente do inglúvio. Geralmente apresenta uma coloração esverdeada devido o refluxo da bile pelo duodeno (DENBOW, 2015). O queratinóide é produzido pelas glândulas gástricas contidas na lâmina própria, e preenche os orifícios gástricos, que são os sulcos existentes entre as glândulas. Estas têm conformação retilínea e são formadas por células secretoras, semelhantes às caliciformes do intestino delgado. A túnica muscular é bastante espessa, a margem lateral é formada pelo tecido conjuntivo denso modelado, sendo que o músculo se origina deste tecido e se espalha pela túnica muscular; a túnica serosa é mais fina (SOUSA et al., 2015).

O intestino delgado é uma estrutura tubular e sua principal função é digestão e absorção dos alimentos. Ele é formado por três segmentos o duodeno, jejuno e íleo. O duodeno é primeiro segmento, que apresenta forma de U, sendo dividido em duodeno descendente, flexura duodenal e duodeno ascendente, este segmento delimita o pâncreas (DENBOW, 2015).

Microscopicamente, o intestino delgado apresenta a túnica mucosa, lâmina própria, muscular da mucosa, muscular interna, muscular externa e serosa. No entanto, a muscular da mucosa e a lâmina própria são pouco desenvolvidas em aves (DENBOW, 2015). A túnica mucosa é formada por projeções em forma de vilosidade em direção ao lúmen intestinal, formada por um epitélio simples pavimentoso, constituídos de células absorptivas (enterócitos) e células caliciformes e se continua com o epitélio das criptas, que por sua vez contêm algumas células absorptivas, células caliciformes, células enteroendócrinas e células-tronco (SOUSA et al., 2015).

A diferença de uma porção intestinal para a outra é que as vilosidades se tornam mais delgadas e curtas em direção ao íleo. No íleo destaca-se a grande quantidade de células caliciformes e redução na profundidade das criptas. A lâmina própria é composta por tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e fibras musculares lisas. A lâmina própria e a submucosa do intestino delgado, contêm agregados de nódulos linfóides (GALT) que são mais numerosas na região do íleo, sendo conhecido como placas de Peyer (SOUSA et al., 2015). Tanto o intestino delgado como o grosso apresentam uma extensa inervação do sistema nervoso autônomo com fibras colinérgicas e adrenérgicas (DENBOW, 2015).

O ceco e cólon fazem parte do intestino grosso, ambos possuem a mesma estrutura morfológica do intestino delgado, no entanto, os vilos são mais curtos e espessos e com maior número de células caliciformes. A lâmina própria e a submucosa são repletas de tecido linfático nodular e difuso (SOUSA et al., 2015). Nas aves, os cecos são estruturas bilaterais de fundo cego que surgem na junção do íleo, eles desempenham uma importante função na absorção de aminoácidos e na digestão de fibras. O ceco das galinhas apresentam três regiões distintas, na junção ileocecal encontra-se a base do ceco onde as vilosidades são mais desenvolvidas, a porção medial é o corpo do ceco que se caracteriza por pregas longitudinais com vilosidades pequenas e a parte distal corresponde ao ápice.

O cólon é relativamente curto, cranialmente se comunica com íleo e caudalmente ao coprodeu na cloaca. Possui vilosidades curtas e planas, com poucas células caliciformes, sendo muito importante no processo de reabsorção de água (SOUSA et al., 2015).

A cloaca é um compartimento onde são liberados os resíduos dos sistemas digestório e urinário, além do sistema reprodutor. Ela possui três regiões distintas. O coprodeu é a região mais proximal, que recebe os resíduos do sistema digestório, este

não possui vilosidades, no entanto, é rico em pregas mucosas. O urodeu é o compartimento medial da cloaca, que recebe os produtos dos ductos genitais e urinários e o compartimento distal é o proctodeu (DENBOW, 2015).

O pâncreas e o fígado são glândulas anexas do sistema digestório, ambos possuem função endócrina e exócrina. O pâncreas, é localizado dentro da alça duodenal, é uma glândula tubuloacinososa composta e o suco pancreático, rico em enzimas digestivas, é liberado em uma papila na porção ascendente do duodeno. O fígado possui dois lobos, o direito e o esquerdo. Em aves, ao contrário dos mamíferos, a bile é transportada para o duodeno através de dois ductos, o ducto hepático direito e esquerdo, os quais a liberam na papila comum, na porção ascendente do duodeno (DENBOW, 2015).

#### **4.3.1. Efeito do estresse térmico por calor sobre a morfometria intestinal**

O sistema digestório é responsável pelos processos de preensão dos alimentos, digestão e absorção dos nutrientes e, por isso, sua atividade é importante para o desempenho das aves. Após a eclosão, o sistema digestório das aves está anatomicamente formado, no entanto, é funcionalmente imaturo. Para maturação funcional do intestino, é necessário o aumento do número de enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas, resultando em aumento da altura e densidade dos vilos e do comprimento do intestino. Fisiologicamente, deve ocorrer aumento na produção das enzimas digestivas pancreáticas e de membrana, proporcionando aumento na capacidade de digestão e absorção (SCOTTÁ et al., 2002).

Após a eclosão, um dos fatores relacionados ao desenvolvimento da mucosa intestinal é a presença e quantidade do alimento no trato digestório. Qualquer fator que interfira no consumo do alimento após a eclosão pode desencadear danos a mucosa intestinal. É sabido que, durante o estresse térmico por calor as aves reduzem o consumo de ração, na tentativa de diminuir a produção do calor endógeno (LIN et al., 2006), resultando em danos na morfologia e integridade intestinal, comprometendo os mecanismos de digestão e absorção e, conseqüentemente, reduzindo o desempenho das aves. Além disso, o estresse por calor pode causar hipóxia, isquemia e edema no epitélio intestinal, provocando a ruptura do epitélio e das membranas celulares, esse tipo de dano no epitélio facilita a translocação das bactérias para lâmina própria (ZAREIE et al., 2006).

Os efeitos negativos da alta temperatura ambiente foram relatados por Marchini et al. (2009), alta temperatura ambiente até a quarta semana de idade promoveu redução na secreção de enzimas digestivas e na altura das vilosidades de frangos de corte. De acordo com esses autores, a digestibilidade dos alimentos e a integridade da mucosa intestinal estão fortemente relacionadas às variações da temperatura ambiente. Assim, a baixa quantidade de alimento presente no trato intestinal durante o estresse térmico prejudica o estímulo trófico da mucosa intestinal, além, de diminuir a secreção das enzimas digestivas.

De acordo com Santos et al. (2015), o estresse térmico por calor em frangos de corte por quatro dias consecutivos provoca alterações nas vilosidades e nas criptas do duodeno e do jejuno, incluindo redução na altura dos vilos e na relação vilo/cripta, na área de absorção e aumento da profundidade da cripta. Segundo os autores, a hiperplasia do epitélio da cripta foi induzida para restabelecer a altura da vilosidade, sendo considerado um mecanismo compensatório. Outro evento observado para compensar a diminuição do epitélio foi o aumento da largura das vilosidades, no intuito de manter área de absorção e com isso não reduzir o ganho de peso. De acordo com Furlan et al. (2004), quando ocorre aumento na taxa de extrusão, há uma redução na altura do vilo e aumento da divisão e diferenciação das células na cripta com consequente aumento na profundidade da cripta.

Segundo Liu et al. (2016), o estresse térmico por calor de forma cíclica em galinhas de capoeira provoca redução na altura dos vilos e na relação vilo/cripta, no entanto, aumenta a profundidade da cripta. Essas lesões provocadas no epitélio podem ocasionar redução na área de absorção, desta forma, os processos de digestão e absorção são prejudicados, refletindo ganho de peso diário menor. No entanto, quando as aves foram suplementadas com resveratrol, aumentou a altura das vilosidades intestinais e diminuiu os danos provocados na mucosa intestinal. Safdari-Rostamabad et al. (2016) relatam que o estresse térmico por calor altera o fluxo de sangue e nutrientes para o trato gastrointestinal, o que causa hipóxia, depleção de ATP e acidose intracelular, resultando em danos na integridade da mucosa intestinal e função intestinal alterada.

De acordo com Wu et al. (2018), alta temperatura ambiente é prejudicial para integridade da mucosa intestinal de frangos de corte, onde os vilos se tornam mais curtos e chatos. Para tentar reverter essa situação a cripta aumenta sua atividade se tornando mais profunda, com isso a relação vilo/cripta diminui. Segundo os autores alta

temperatura ambiente reduz o consumo de ração pelas aves e com isso pouca energia é disponibilizada para manutenção e renovação da mucosa intestinal.

Nos trabalhos realizados com codornas japonesas, Sandikci et al. (2004) observaram redução na altura das vilosidades do duodeno, jejuno e no íleo, além disso, ocorreu significativa redução no número de células caliciformes no íleo. Segundo os autores, os danos observados na mucosa intestinal estão relacionados ao baixo consumo de ração. De acordo com Mehaisen et al. (2017) o estresse térmico por calor em codornas japonesas provoca vilos mais curtos e largos, e essas mudanças na morfologia da mucosa intestinal resultam em baixo desempenho, o qual relaciona-se com o baixo consumo de ração.

#### **4.4. Sistema Imune**

O sistema imune aviário opera sob os mesmos princípios gerais que o dos mamíferos, sendo responsáveis pelo reconhecimento e destruição dos antígenos. É composto por sistema linfóide primário que inclui a bolsa cloacal e o timo.

A bolsa cloacal é um órgão linfóide presente apenas em aves, localizado dorsalmente à cloaca. Seu desenvolvimento é iniciado entre 3 e 5 dias de incubação, e aos 12 dias apresenta folículos bursais organizados em córtex e medula. Pós-eclosão apresenta crescimento rápido, regredindo antes da maturidade sexual (ISLAM et al., 2012). Microscopicamente, a bolsa cloacal é revestida internamente por um tecido epitelial de revestimento simples e colunar, apoiado sobre tecido conjuntivo frouxo, com pouco colágeno e celularidade abundante, infiltrado por linfócitos e alguns plasmócitos (ETO et al., 2015)

O timo é um órgão bilateral, localizado no mediastino anterior, que se estende pela região cervical até a altura da glândula tireóide. No 12º dia de incubação é possível observar uma rede de fibras retículas formando um arcabouço para sustentar os tímócitos, no 14º dia essas células começam a se organizar para formar o córtex e a medula (ISLAM et al., 2012). O timo das codornas é revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado, que emite septos mal definidos no parênquima do órgão. E desta forma, a formação em lóbulos é indistinta. Cada lóbulo apresenta uma região medular central com a presença de Corpúsculo de Hassall e uma região cortical periférica bastante basofílica (SENAPAI et al., 2015).

Os órgãos linfóides são povoados por pró-linfócitos que migram da medula óssea através da corrente sanguínea até os órgãos linfóides primários, através de ondas de povoamento que consistem em períodos de dois dias, durante os quais podem ser encontrados pró-linfócitos na corrente sanguínea. Ocorrem três ondas para o povoamento do timo, aos 6, 12 e 18 dias de incubação, e uma única onda para o povoamento da bursa, entre 8 e 14 dias de incubação (DAVISON et al., 2008).

Os órgãos linfóides primários, após o povoamento por pró-linfócitos, são responsáveis pela regulação, produção e diferenciação dos linfócitos. Os linfócitos maduros são divididos em duas principais populações: as células T e as células B, dependendo de qual órgão linfóide primário amadurecer. Após esse processo, os linfócitos migram para os órgãos linfóides secundários, os quais podem montar uma resposta contra aos antígenos (TIZARD, 2014).

O sistema linfóide secundário consiste do baço e GALT (tecido linfóide associado ao intestino). Diferentemente dos órgãos linfóides primários, estes surgem tardiamente na vida do embrião, no entanto, persistem por toda vida adulta. O baço é um órgão arredondado com coloração castanho avermelhado que nas aves está localizado na cavidade celomática direita na junção entre os proventrículo e a moela. Ele é recoberto por uma cápsula esplênica que emite numerosas trabéculas. A polpa branca é composta por rede de células reticulares, e fibras reticulares nas quais os linfócitos de pequeno, médio e grande tamanho e as células plasmáticas ficam difundidos de forma difusa. Ela apresenta artérias embainhadas e nódulos linfáticos. A polpa vermelha do baço é formada a partir de seios venosos e cordões anastomosados de células reticulares, macrófagos, linfócitos e células sanguíneas (AKTER et al., 2006).

O tecido linfóide associado ao intestino (GALT) compreende todos os nódulos linfóides, placas de Peyer e linfócitos individuais encontrados nas paredes intestinais. As placas de Peyer se encontram espalhadas por todo intestino e como um agregado constante localizado antes da junção ileocecal. As placas são consideradas sítios indutores, pois possuem componentes exigidos para começar uma resposta imune: células T, células B e células M. As células M são típicas do epitélio intestinal e atuam como eficientes células apresentadoras de antígeno, apresentando-os diretamente aos linfócitos no interior da placa de Peyer. As placas também consistem em sítios efetores, onde são produzidos anticorpos e são montadas respostas mediadas por células (AKTER et al., 2006; DAVISON et al., 2008).

O sistema imune atua em duas linhas de defesa, a imunidade inata e a imunidade adquirida. A primeira é composta por células capazes de combater e eliminar os antígenos sem requerer uma prévia exposição, enquanto a segunda é composta por células que montam uma memória de defesa em longo prazo (DAVISON et al., 2008).

A imunidade inata inclui barreiras físicas como a pele e as superfícies do trato gastrointestinal, respiratório e urogenital. Esse sistema é mediado por células como heterófilos, macrófagos, mastócitos, eosinófilos, células “natural killer” (NK) e dendríticas, além de substâncias como interferons, citocinas, glicoproteínas presentes nas mucinas e proteínas mediadoras da inflamação. Muitos agentes invasores podem ser controlados eficazmente pelo sistema imune inato (TIZARD, 2014).

Por outro lado, a imunidade adquirida é obtida durante a vida de um indivíduo. A resposta imune adquirida contra um microrganismo pode ser induzida pela transferência de anticorpos de outra ave imunizada (imunidade passiva), como na transferência de anticorpos do soro da matriz pesada ou leve para os ovos férteis, ou pela resposta do hospedeiro ao agente agressor (imunidade ativa).

Nas aves, durante o processo de imunidade adquirida passiva, as imunoglobulinas (Ig) séricas são facilmente transferidas do soro da galinha para a gema, enquanto esta se encontra no ovário. Na fase fluida da gema encontram-se níveis de IgG semelhantes aos encontrados no soro da galinha. À medida que o ovo desce no oviduto e a albumina é depositada, IgM e IgA são também incorporadas a ela. Durante o desenvolvimento embrionário, o embrião absorve a IgG da gema, que depois aparece na circulação sanguínea. A IgM e IgA maternas se difundem no líquido amniótico e são engolidas pelo embrião, de forma que, quando o pintainho eclode, ele possui IgM e IgA no intestino. O pintainho recém-eclodido ainda absorve anticorpos do saco vitelino até 24h após eclosão (DE CASTRO VARGAS et al., 2009).

Na imunidade adquirida ativa, a resposta imune inata não é capaz de eliminar determinado patógeno. Durante este tipo de resposta, a exposição das aves aos antígenos resulta em estímulo das respostas imune humoral e celular (ABBAS & LICHTMAN, 2005). Assim, os macrófagos processam o antígeno e os apresentam às células T auxiliares. Estas deverão apresentar as moléculas antigênicas a células que se diferenciarão em células T citotóxicas ou células B. As primeiras são capazes de destruir o agente invasor. As células B diferenciam-se, por sua vez, em plasmócitos que produzirão anticorpos capazes de destruir o agente invasor e formarão células de

memória. A memória imunológica confere imunidade protetora contra reinfecções pelo mesmo agente (TIZARD, 2014).

#### **4.4.1. Efeito do estresse térmico por calor no sistema imune**

O sistema imune atua impedindo a invasão e destruição dos tecidos por patógenos, sendo seu funcionamento controlado pelo próprio sistema imune, sistema neuroendócrino e pelo sistema nervoso autônomo. Esses sistemas trabalham em associação para modular a ativação e controlar a resposta do sistema imune ao agente agressor. Estudos realizados em codornas (*Coturnix coturnix*) e frangos (*Gallus gallus*) sugerem que os fenótipos imune-neuroendócrinos encontrados nestas aves são semelhantes aos dos mamíferos, estes se mantêm preservados ao longo da reprodução seletiva no setor avícola (NAZAR et al., 2015; NAZAR et al., 2017).

Em situação de estresse por calor, ocorrem alterações neuroendócrinas na tentativa de restabelecer a homeotermia. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal inicia a resposta por meio do hormônio de liberador de corticotropina (CRH), hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e os hormônios glicocorticóides. O CRH é produzido no hipotálamo e representa o estímulo obrigatório para sensibilizar a hipófise a secretar ACTH, que por sua vez estimula a adrenal a liberar os glicocorticóides (DHABHAR, 2009).

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em situações de estresse contínuo provoca, portanto, aumentos nos níveis circulantes de glicocorticóides, resultando em maior catabolismo protéico, hiperglicemia, depressão, imunossupressão e aumento da susceptibilidade a infecções (MATTERI et al., 2000; DHABHAR, 2009; RAUW, 2012).

Os níveis elevados de corticosterona na corrente sanguínea acarretam lise de linfócitos imaturos da bolsa cloacal e do timo, ocasionando hipotrofia dos referidos órgãos e involução precoce do tecido linfóide (REVIDATTI et al., 2002). Esta depleção não só interfere na produção de imunoglobulinas como também reduz os níveis de anticorpos circulantes, tornando o animal mais vulnerável aos desafios sanitários (CALEFI et al., 2017).

O processo de depleção linfocitária é mediado por intensificação da apoptose, principalmente na bolsa cloacal, por isso que este órgão é frequentemente adotado para avaliar a resposta em casos de estresse (REVIDATTI et al., 2002). Segundo



Ebrahimzadeh et al. (2012), o estresse por calor em frangos pode aumentar os níveis de citocinas pró-inflamatórias e resultar na ativação do eixo hipotálamo- hipófise-adrenal. O consequente aumento dos níveis de corticosterona na corrente sanguínea intensifica o processo de apoptose das células de defesa. Esses dados corroboram dados Quinteiro-Filho et al. (2017) que relataram o estresse por calor aumentou os níveis de corticosterona plasmático, diminuiu os níveis de IgA e a expressão do RNAm da IL-6 e IL-12 no baço. Partes desses fatos podem ser explicados pela ativação exacerbada do eixo hipotálamo- hipófise-adrenal, que leva ao comprometimento do funcionamento do sistema imune em aves de capoeira desafiadas com *Salmonella* Enteritidis.

No entanto, as alterações neuroendócrinas que ocorrem nas aves em situação de estresse por calor, promovem alterações no sistema imune que ainda não são bem compreendidas, pois em algumas situações em vez de imunossupressão, pode ocorrer imunoestimulação (SILVA et al., 2009a). Vários fatores podem ser responsáveis pelos possíveis efeitos que o sistema imune sofrerá quando submetido ao estresse, como a duração (aguda versus crônica) do estresse, mudanças na distribuição de leucócitos dentro do corpo e nos compartimentos em que ocorre a resposta imune, a concentração (fisiológica versus farmacológica), e a natureza (endógena versus sintética) da exposição ao glicocorticóide. É necessária uma maior elucidação das interações entre os fatores acima mencionados e outros fatores nervosos, endócrinos e genéticos na mediação dos efeitos do estresse na função imune (DHABHAR, 2009).

Oznurlu et al. (2010), estudaram a influência da temperatura de incubação (medida na casca do ovo) sobre o sistema imunológico e ressaltaram que o desenvolvimento da bursa e timo foi reduzido pelas temperaturas elevadas (37,8°C, 38,8°C, 40,1°C e 40,6°C), concluindo que a temperatura elevada na incubação pode resultar em baixa imunidade nos lotes de frango de corte. No entanto, de acordo com Leandro et al. (2017), os embriões oriundos de matrizes de 42 e 64 semanas de idade são mais resistentes a variações de temperatura pois o aumento da temperatura para 39°C não foi prejudicial para o desenvolvimento do baço e bolsa cloacal. Como as matrizes mais velhas produzem ovos maiores, é possível que nesses ovos o estresse não tenha sido suficiente para provocar danos, ou pode não ter havido aquecimento suficiente no interior dos ovos, já que a temperatura controlada foi a da incubadora e não a temperatura dos ovos.

Borges et al. (2004) encontraram, em aves criadas em ambientes com temperaturas elevadas, atrofia de todos os órgãos linfóides (timo, baço e bolsa cloacal),

sugerindo que possa haver redução do número de linfócitos circulantes. Estes resultados são consistentes com a idéia de que os estressores e a corticosterona têm efeito negativo sobre os órgãos linfóides, levando à atrofia e regressão desses órgãos. Os autores sugerem que a diminuição do peso dos órgãos linfóides é um bom indicativo de estresse pelas aves.

Silva et al. (2009b) observaram interação entre idade e temperatura sobre os níveis de anticorpos de 1 a 20 dias de idade em frangos. Os autores sugeriram que baixas temperaturas são mais deletérias para a imunidade humoral do que altas temperaturas, provavelmente devido à susceptibilidade que as aves têm ao frio nessa fase. Estudos realizados por Miranda et al. (2010) relatam que não há efeito da temperatura sobre a produção de títulos de anticorpos vacinais anti-Newcastle dosados por ELISA e HI nas idades de 10, 21 e 42 dias. Esses dados corroboram Porto et al. (2015), que observaram que estresse crônico por calor não interfere na produção dos níveis de anticorpos séricos anti-Newcastle em pintainhos na fase inicial e pré-inicial.

Em estudos realizados por Kamel et al. (2017), em frangos de corte submetidos ao estresse crônico por calor no período de 21 a 42 dias de idade observou aumento dos níveis plasmáticos da corticosterona e da relação heterófilo/linfócito e diminuição nos níveis de IgG e IgM plasmática em relação ao grupo controle. Em partes esses resultados são consequência do aumento da fosforilação do e EF2 a qual suprime a síntese protéica em leucócitos.

Amaral Rosa et al. (2011) observaram que estresse por calor promove heterofilia e linfopenia, nas aves as mesmas não apresentavam sinais clínicos de inflamação.

De acordo com El-Daly et al. (2014) a exposição altas temperaturas durante a incubação de ovos de codornas japonesas pode ser recomendada para manter a homeostase fisiológica das aves durante o estresse térmico por calor durante a fase de produção. Além disso, para intensificar aclimatação das aves e fortalecer o sistema imune é recomendada a suplementação de vitamina C na dieta.

Araújo et al. (2017) citam outros fatores relacionados a qualidade imunológica de pintainhos de codornas, como a idade da matriz, período de armazenamento e temperatura de armazenamento. Ovos de progenitoras acima de 24 semanas, devem ser armazenados à 14°C e não devem ultrapassar o período de 6 dias de armazenamento pois isto reflete em menor área de folículos bursais prejudicando a qualidade imunológica da progênie.

## 5. REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Propriedades gerais das respostas imunológicas IN: ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Imunologia celular e molecular**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. cap. 1, p.580, 2005.

ALKAN, S.; KARSLI, T.; KARABAG, K.; GALIC, A.; SONER BALCIOGLU, M. The effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on hatchability, hatching weight and body weight in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Arc Tierz**, v.56, n.56, p.789 - 796, 2013.

AKTER, S.; KHAN, M.Z.I.; JAHAN, M.R.; KARIM, M.R.; ISLAM, M.R. Histomorphological study of the lymphoid tissues of broiler chickens. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v.4, n.2, p. 87-92, 2006.

AL-ZGHOUL, M.B. Thermal manipulation during broiler chicken embryogenesis increases basal mRNA levels and alters production dynamics of heat shock proteins 70 and 60 and heat shock factors 3 and 4 during thermal stress. **Poultry Science**, v.97, n.10, p.3631-3670, 2018.

AMARAL ROSA, G.; SORBELLO, L.A.; DITTRICH, R.L.; MORAES, M.T.T.; OLIVEIRA, E.G. Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. **Ciência Rural**, v.41, n.9, 2011.

APPLEGATE, T.J.; HARPER, D.; LILBURN, M.S. Effect of hen production age on egg composition and embryo development in commercial Pekin ducks. **Poultry Science**, v.77, p.1608-1612, 1998.

ARAÚJO, I.C.S.D.; MESQUITA, M.A.; CAFÉ, M.B.; STRINGHINI, J.H.; PAZ, P.H.S.D.; NOLETO, R.A.; LEANDRO, N.S.M. Effect of breeder age and storage conditions of Japanese quail eggs on hatchability, quail neonate quality, and Bursa of Fabricius characteristics. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, n.9, p.731-739, 2017.

BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. *Ambiência em edificações rurais: Conforto animal*. 2.ed. Viçosa: UFV, p.269, 2010.

BADRAN, A.M.; DESOKY, A.; ABOU-EITA, E.M.; STINO, F.K. Epigenetic thermal adaptation of chickens during late embryonic development. **Egyptian Poultry Science**, v.3, p.675-89, 2012.

BARRAL, A.D. Sistemas de produtividade de codornices en Espana. In. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COTURNICULTURA, 1, Lavras, 2002. **Anais...** Lavras: UFLA, p.49-65, 2002.

BAPTISTA, R.F. **Avaliação da qualidade interna de ovos de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da temperatura de armazenamento**. Niterói-RJ. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Fluminense, 2002.

BERRAMA, Z.; TEMIM, S.; DJELLOUT, B.; SOUAMES, S.; MOULA, N.; BAZIZ, H.A. The effects of early age thermal conditioning and vinegar supplementation of drinking water on physiological responses of female and male broiler chickens reared under summer Mediterranean temperatures. **International Journal of Biometeorology**, v.62, n.6, p.1039-1048, 2018.

BERTECHINI, A.G. Situação Atual e Perspectivas Para a Coturnicultura no Brasil. In: IV Simpósio Internacional e III Congresso Brasileiro de Coturnicultura. 2010. Lavras: **Anais...** Lavras - MG, 2010.

BOERJAN, M. **Circadian incubation for robustness**. Proceeding of the XII European Poultry Congress, Tours, France. <http://epc2010.org/cd/Abstracts/263.pdf>. 2010.

BORGES, S.A.; FISCHER DA SILVA, A.V.; MAJORKA, A.; HOOGE, D.M.; CUMMINGS, K. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). **Poultry Science**, v.83, n 9, p.1551-1558, 2004.

BUENO, F.L. **Efeito da forma física, granulometria (DGM) e adição de óleo em dietas iniciais de frangos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CALEFI, A.S.; QUINTEIRO-FILHO, W.M.; FERREIRA, A.J.P.; PALERMO-NETO, J. Neuroimmunomodulation and heat stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.73, n.3, p.493-504, 2017.

CALIL, T.A.C. Ferramentas para redução da janela de nascimento de pintos. In: CONFERÊNCIA APÍNCO, 2010, Santos, SP. **Anais...** Conferência FACTA de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.215-230, 2010.

DAHEKAR, N.M.; MAMDE, C.S.; JOHN, M.A.; ROHANKAR, R.U. Gross Anatomical and Histomorphological Studies on Proventriculus of Japanese Quail. **Indian Journal of Veterinary Anatomy**, v.26, n.1, p.62-63, 2014.

DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K.A. **Avian Immunology.** Editor Ferst, p.496, 2008.

DE CASTRO VARGAS, F.; BARATTO, T.; BONA, T.; MAIORKA, A.; SANTIN, E. Two different breeder ages and two periods of post-hatching fasting on immunity of broilers. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n.3, p.163-170, 2009.

DECUYPERE, E.; MICHELS, H. Incubation temperature as a management tool: a review. **World's Poultry Science Journal**, v.48, p.28-38, 1992.

DENBOW, D.M. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: **Sturkie's Avian Physiology.** ed. 6<sup>o</sup>, p.337-366, 2015.

DE SOUSA, A.F.; PORTELA, G.L.F.; DE MOURA, R.L. Perfil do consumidor de ovos de codorna da cidade de timon-ma. **Revista IESM**, v.1, n.1, p.1-10, 2017.

DHABHAR, F.S. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. **Neuroimmunomodulation**, v.16, n.5, p.300-317, 2009.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Immune response of broiler chickens fed diets supplemented with different level of chromium methionine under heat stress conditions. **Australasian Journal of Animal Sciences**, v.25, n.2, p.256-260, 2012.

EL-DALY, E.F.; EL-AZEEM, N.A.A.; EL-WARDANY, I.; EL-GAWAD, A.H.A.; HEMID, A.E.A. Effect of different anti-stress feed additives on some blood metabolites and lymphoid organs histology in laying Japanese quail. **World Applied Sciences Journal**, v.29, n.12, p.1574-1585, 2014.

ETO, S.F.; FERNANDES, D.C.; GONÇALVES, A.M.; DOS SANTOS, L.F.; DE MORAES, J.R.; JUNIOR, J.M.; DE MORAES, F.R. Histologia dos órgãos e tecidos linfóides de galinhas poedeiras White Leghorn. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, v.110, p. 74-78, 2015.

FRENCH, N.A. Effects of temperature incubation on the gross pathology of turkey embryos. **British Poultry Science**, v.35, p.363-371, 1994.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: **5º Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição**, Balneário Camboriú. 2004.

GUIBERT, F.; RICHARD-YRIS, M.A.; LUMINEAU, S.; KOTRSCHAL, K.; BERTIN, A.; PETTON, C.; HOUDELIER, C. Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. **Applied Animal Behaviour Science**, v.132, n.2, p.51-60, 211.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2016**, v.44, p.1-53, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2017**, v.45, p.1-53, 2017.

IONATĂ, L.; POPESCU-MICLOSANU, E.; CUSTURĂ, I. A Review of Incubation Parameters in the Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Animal Science and Biotechnologies**, v.67, p.217-224, 2010.

ISLAM, M.N.; KHAN, M.Z.I.; JAHAN, M.R.; FUJINAGA, R.; YANAI, A.; KOKUBU, K.; SHINODA, K. Histomorphological study on prenatal development of the lymphoid organs of native chickens of Bangladesh. **Pakistan Veterinary Journal**, v.32, n.32, p.175-178, 2012.

JOSEPH, N.S.; LOURENS, A.; MORAN JR, E.T. The effects of suboptimal eggshell temperature during incubation on broiler chick quality, live performance, and further processing yield. **Poultry science**, v.85, n.5, p.932-938, 2006.

KAMEL, N.N.; AHMED, A.M.; MEHAISEN, G.M.; MASHALY, M.M.; ABASS, A. O.KAMEL. Depression of leukocyte protein synthesis, immune function and growth performance induced by high environmental temperature in broiler chickens. **International Journal of Biometeorology**, v.61, n.9, p.1637-1645, 2017.

LEANDRO, N.S.M.; GOMES, N.A.; CAFÉ, M.B.; CARVALHO, F.B.; STRINGHINI, J.H.; LABOISSIÈRE, M. Histomorfometria de órgãos linfóides e desenvolvimento intestinal de pintos de corte originados de matrizes com diferentes idades e submetidos ao estresse por calor na incubação. **Ciência Animal Brasileira**, v.18, n.1, p.01-11, 2017.

LIN, H; JEAO, H.C; BUYSE, J; DECUYPERE, E. Strategies for preventing heat stress in Poultry. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.62, n.1, p.71-86, 2006.

LIU, L.; FU, C.; YAN, M.; XIE, H.; LI, S.; YU, Q.; HE, J. Resveratrol modulates intestinal morphology and HSP70/90, NF- $\kappa$ B and EGF expression in the jejunal mucosa of black-boned chickens on exposure to circular heat stress. **Food & function**, v.7, n.3, p.1329-1338, 2016.

LOURENS, A.; VAN DEN BRAND, H.; HEETKAMP, M.J.W.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. **Poultry Science**, v.86, n10, p. 2194-2199, 2007.

LOYAU, T.; BERRI, C.L.; BEDRANI, L.; MÉTAYER-COUSTARD, S.; PRAUD, C.; DUCLOS, M.J.; TESSERAUD, S.; RIDEAU, N.; EVERAERT, N.; YAHAV, S.; MIGNON-GRASTEAU, S.; COLLIN, A. Thermal manipulation of the embryo modifies the physiology and body composition of broiler chickens reared in floor pens without affecting breast meat processing quality. **Journal of animal science**, v.91, n.8, p.3674- 3685, 2013.

LOYAU, T.; HENNEQUET-ANTIER, C.; COUSTHAM, V.; BERRI, C.; LEDUC, M.; CROCHET, S.; SANNIER, M.; DUCLOS, M.J.; MIGNON-GRASTEAU, S.; TESSERAUD, S.; BRIONNE, A.; MÉTAYER-COUSTARD, S.; MOROLDO, M.; LECARDONNEL, J.; MARTIN, P.; LAGARRIGUE, S.; YAHAV, S.; COLLIN, A. Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge. **BMC Genomics**, v.17, n.1, p.329, 2016.

MARCHINI, C.F.P.; SILVA, M.R.B.M.; NASCIMENTO, M.E; BELETTI, M.E; GUMARÃES, E.C; SOARES, H.L. Morfometria da mucosa duodenal em frangos de corte submetidos à temperatura ambiente cíclica elevada. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, p.491-497, 2009.

MATTERI, R.L.; CARROLL, J.A.; DYER, C.J. Neuroendocrine responses to stress. In: MOBERG GP, MENCH JA. **The biology of animal stress**. Oxon: CAB International. p.43-76. 2000.

MEHAISEN, G.M.; IBRAHIM, R.M.; DESOKY, A.A.; SAFAA, H.M.; EL-SAYED, O.A.; ABASS, A.O. The importance of propolis in alleviating the negative physiological effects of heat stress in quail chicks. **PloS One**, v.12, n.10, e0186907, 2017.

MIRANDA, C.C.; SARTORI, J.R.; FASCINA, V.B.; PEZZATO, A.C.; CASTELO, P.G.; CARVALHO, F.B. Efeito de fontes de minerais orgânicos e inorgânicos e de



temperatura ambiente no sistema de frangos de corte. In: Conferência FACTA 2010 de Ciência e tecnologia Avícolas, 2010, Santos. **Anais...** da Conferência Facta 2010 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2010.

MÓRI, C.; GARCIA, E.A.; PAVAN, A.C.; PICCININ, A.; SCHERER, M.R.; PIZZOLANTE, C.C. Desempenho e qualidade dos ovos de codornas de quatro grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.864-869, 2005.

NAZAR, F.N.; BARRIOS, B.E.; KAISER, P.; MARIN, R.H.; CORREA, S.G. Immune neuroendocrine phenotypes in Coturnix coturnix: do avian species show LEWIS/FISCHER-like profiles? **PloS One**, v.10, n.3, p.0120712, 2015.

NAZAR, F.N.; ESTEVEZ, I.; CORREA, S.G.; MARIN, R.H. Stress Induced Polarization of Immune-Neuroendocrine Phenotypes in Gallus gallus. **Scientific Reports**, 7, n. 1, p. 8102, 2017.

ONO, H.; HOU, P.C.L.; TAZAWA, H. Responses of developing chicken embryos to acute changes in ambient temperature: Noninvasive study of heart rate. **Israel Journal of Zoology**, v.40, p.467-480, 1994.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; WINELAND, M.J. Manejo da incubação para melhorar a performance, saúde e qualidade em frangos de corte. In: XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, IV Brasil Sul Poultry Fair, 2012, Chapecó, SC. **Anais...** p. 157-173, 2012.

OZNURLU, Y.; CELIK, I.; TELATAR, T.; SUR, E. Histochemical and histological evaluations of the effects of high incubation temperature on embryonic development of thymus and bursa of Fabricius in broiler chickens. **British Poultry Science**, v.51, n.1, p. 43-51, 2010.

PASTORE, S.M.; OLIVEIRA, W.P; MUNIZ, J.C.L. Panorama da Coturnicultura no Brasil. **Revista Eletrônica Nutritime**, Artigo 180 – v.9, n.06, p.2041-2049, Novembro/Dezembro 2012.

PEDROSO, A.A.; BARCELLOS CAFÉ, M.; LEANDRO, N.S.M.; STRINGHINI, J.H.; SILVA CHAVES, L. Desenvolvimento embrionário e eclodibilidade de ovos de codornas armazenados por diferentes períodos e incubados em umidades e temperaturas distintas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p. 2344-2349, 2006.

PHILIPPSEN, F.T.; TAKAHASHI, S.E.; ROSSI, P.; KUHN, M.; BOTTEGA, A.L.B.; SOUZA, C. Caracterização e desenvolvimento da coturnicultura de postura em dois vizinhos. 4º Seminário de Extensão e Inovação da UTFPR – Campus Cornélio Procopio-PR, 2014.

PIESTUN, Y.; SHINDER, D.; HALEVY, O.; BRAKE, J.; YAHAV, S. Thermal manipulations during broiler embryogenesis: effect on the acquisition of thermotolerance. **Poultry Science**, v.87, n.8, p.1516 -1525, 2008.

PINTO, R.; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; VARGAS, J. G. J. Níveis de Proteína e Energia para Codornas Japonesas em Postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1761-1770, 2002.

PORTO, M.L.; GIVISIEZ,P.E.N.; SARAIVA, E.P.; COSTA, F.G.P.; MOREIRA FILHO, A.L.B.; ANDRADE, M.F.S.; BRANDÃO, P.A.; GUERRA, R.R. Glutamic Acid Improves Body Weight Gain and Intestinal Morphology of Broiler Chickens Submitted to Heat Stress. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.17, n.3, p.355-362, 2015.

PRIMMETT, D.R.N.; STEM, C.D.; KEYNES, R.J. Heat shock causes repeated segmental anomalies in the chick embryo. **Development**, v.104, p.331-339, 1988.

QUINTEIRO-FILHO, W.M.; CALEFI, A.S.; CRUZ, D.S.G.; ALOIA, T.P.A.; ZAGER, A.; ASTOLFI-FERREIRA,C.S.; PIANTINO FERREIRA, J.A.; SHARIF, S.; PALERMO-NETO, J. Heat stress decreases expression of the cytokines, avian  $\beta$ -defensins 4 and 6 and Toll-like receptor 2 in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.186, p.19-28, 2017.

RAUW, W.M. Immune response from a resource allocation perspective. **Frontiers in Genetics**, v.3, 2012.

REVIDATTE, F.A.; FERNANDEZ, R.J.; TERRAES, J.C.; SANDORVAL, G.L.; LUCHI, P.E. Modificaciones del peso corporal y indicadores de estrés em pollos parrilleros sometidos inmovilización y volteo. **Revista Veterinária**, v.12, n.1, 2002.

ROMAO, J.M.; MORAES, T.G.V.; TEXEIRA, R.S.C.; BUXADE, C.C.; CARDOSO, W.M. Incubation of Japanese quail eggs at different temperatures: hatchability, hatch weight, hatch time and embryonic mortality. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n. 3, p.155-162, 2009.

ROSA, G.D.A.D.; SORBELLO, L.A.; DITTRICH, R.L.; MORAES, M.T.T. D.; OLIVEIRA, E.G.D. Blood profile of japanese quail (*Coturnix japonica*) under thermal stress. **Ciência Rural**, v.41, n.9, p.1605-1610, 2011.

SAFDARI-ROSTAMABAD, M.; HOSSEINI-VASHAN, S.J.; PERAI, A. H.; SARIR, H. Nanoselenium supplementation of heat-stressed broilers: effects on performance, carcass characteristics, blood metabolites, immune response, antioxidant status, and jejunal morphology. **Biological Trace Element Research**, v.178, n.1, p.105-116, 2017.

SANDIKCI, M.; EREN, U.; ONOL, A.G.; KUM, S. The effect of heat stress and the use of *Saccharomyces cerevisiae* or (and) bacitracin zinc against heat stress on the intestinal mucosa in quails. **Revista Medicina Veterinária**, v.155, n.11, p.552-556, 2004.

SANTOS, R.R.; AWATI, A.; ROUBOS-VAN DEN HIL, P.J.; TERSTEEG-ZIJDERVELD, M.H.; KOOLMEES, P.A.; FINK-GREMMELS, J. Quantitative histomorphometric analysis of heat-stress-related damage in the small intestines of broiler chickens. **Avian Pathology**, v.44, n.1, p.19-22, 2015.

SANTOS, T.C.D.; GATES, R.S.; TINÔCO, I.D.F.F.; ZOLNIER, S.; BAÊTA, F.D.C. Behavior of Japanese quail in different air velocities and air temperatures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, n.50, p.344-354, 2017.

SCOTTÁ, B.A.; CAMPOS, P.F.; GOMIDE, A.P.C.; BARROCA, C.C.; DA SILVA FORMIGONI, A.; ZERLOTINI, M.F. Nutrição pré e pós-eclosão em aves. **PUBVET**, v.8, n.8, p.0830-0974, 2014.

SENAPATI, M.R.; BEHERA, P.C.; MAITY, A.; MANDAL, A.K. Comparative histomorphological study on the thymus with reference to its immunological importance in quail, chicken and duck. **Exploratory Animal and Medical Research**, v.5, n.1, p. 73-77, 2015.

SILVA, R. M.; FURLAN, A. C.; TON, A. P. S.; MARTINS, E. N.; SCHERER, C.; MURAKAMI, A. E. Exigências nutricionais de cálcio e fósforo de codornas de corte em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1509-1517, 2009a.

SILVA, V.K.; DELLA TORRE DA SILVA, J.; TORRES, K.A.A.; FARIA FILHO, D.E.; HIROTA HADA, F.; BARBOSA DE MORAES, V.M. Humoral immune response of broilers fed diets containing yeast extract and prebiotics in the prestarter phase and raised at different temperatures. **Poultry Science**, v.18, p.530-540, 2009b.

SILVA, A.F.; SGAVIOLI, S.; DOMINGUES, C.H.; GARCIA, R.G. Coturnicultura como alternativa para aumento de renda do pequeno produtor. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia(Online)**, v.70, n.3, p.913-920, 2018.

SOUSA, M.S.; FERREIRA TINÔCO, I.D.F.; BARRETO, S.L.D.T.; AMARAL, A.G.D.; PIRES, L.C.; FERREIRA, A.S. Determinação de limites superiores da zona de conforto térmico para codornas de corte aclimatizadas no Brasil de 22 a 35 dias de idade. *Rev. Bras. Saúde Prod.* **Animal**, v.15, n.2, p.350-360, 2014.

SOUSA, D.C.; OLIVEIRA, N.L.; SANTOS, E.T.; GUZZI, A.; DOURADO, L.R.; FERREIRA, G.J. Caracterização morfológica do trato gastrointestinal de frangos de corte da linhagem Cobb 500®. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 61-68, 2015.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. ed.9º, ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 225-239, 2014.

TZSCHENTKE, B.; BASTA, D. Early development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: influence of epigenetic temperature adaptation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v.131, n.4, p.825-832, 2002.

VISSCHEDIJK, A.H.J. Physics and Physiology of incubation. **British Poultry Science**, v.32, p.3-20, 1991.

WILSON, H.R. Interrelationship of egg size, chick size, posthatching growth, and hatchability. **World's Poultry Science Journal**, v.47, p.5-20, 1991.

WU, Q.J.; LIU, N.; WU, X.H.; WANG, G.Y.; LIN, L. Glutamine alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, intestinal inflammatory response, and barrier integrity in broilers. **Poultry Science**, v.97, n.8, p.2675-2683, 2018.

YAHAV, S.; COLIN, A.; SHINDER, D.; PICARD, M. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. **Poultry Science**, v.83, n.12, p.1959 - 1963, 2004.

ZAHER, M.; EL-GHAREEB, A.W.; HAMDI, H.; ABUAMOD, F. Anatomical, histological and histochemical adaptations of the avian alimentary canal to their food habits: I-Coturnix coturnix. **Life Science Journal**, v. 9, n. 3, p. 253-275, 2012.

ZAREIE, M.; JOHNSON-HENRY, K.; JURY, J.; YANG, P.C.; NGAN, B.Y.; MCKAY, D.M.; SHERMAN, P.M. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. **Gut**, v.55, n.11, p.1553-1560, 2006.

ZIMMER, C.; LARRIVA M.; BOOGERT, N.J.; SPENCER, K.A. Transgenerational transmission of a stress-coping phenotype programmed by early-life stress in the Japanese quail. **Scientific Reports**, v.7, 46125, 2017.

## 6. Capítulo II

### **Parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após eclosão**

O presente trabalho foi enviado à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

**Parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a manipulação térmica durante a incubação e desafiadas termicamente após eclosão**

Maurina L. Porto<sup>2\*</sup>, Tiago da S. Teófilo<sup>2</sup>, Diogo Manoel L. de P. Cavalcanti<sup>3</sup>, Carlos Iberê A. Freitas<sup>3</sup>, Moacir F. de Oliveira<sup>2</sup>, José Domingues F. Neto<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** – Porto M.L., Teófilo T.S., Cavalcanti, D.M.L.P., Freitas, C.I.A., Oliveira, M.F., Fontenele Neto, J.D. 2018. [**Incubation, performance and morphometry parameters of duodenal mucosa of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) subjected to thermal manipulation during incubation and challenged thermally after.**] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Biociência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, CEP: 59.625-900, +55 84 3317-8200, Mossoró RN. \* Autor para correspondência: [marinalporto@yahoo.com.br](mailto:marinalporto@yahoo.com.br)

The objective of this work was to evaluate the effect of incubation temperature manipulation on the parameters of incubation, performance and morphometry of the duodenal mucosa of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) submitted to chronic heat stress after hatching. Five hundred and forty eggs purchased from a commercial hatchery were distributed in three incubators, with a temperature of 37,8°C and 60% humidity and automatic turning every two hours. From the 6<sup>th</sup> day of incubation until hatching the temperatures were adjusted to 37,8°C (standard), 38,5°C (intermediate) and 39,5°C (high). On the 15<sup>th</sup> day of incubation the incubators were programmed to stop<sup>1</sup> the egg turning. The birth of the quail was followed every 3 hours. All unhatched eggs were opened to determine the period of embryonic mortality. The hatching quails were evaluated for quality by a score of 0 to 100 points, weighed and uniformly distributed, a completely randomized design with three incubation temperatures (37,8, 38,5 and 39,5 °

---

<sup>1</sup> Recebido em

Aceito para publicação em

<sup>2</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, CEP: 59.625-900, +55 84 3317-8200, Mossoró RN. \* Autor para correspondência: [marinalporto@yahoo.com.br](mailto:marinalporto@yahoo.com.br), [tiago.teofilo@ufersa.edu.br](mailto:tiago.teofilo@ufersa.edu.br)

<sup>3</sup> Docente do Departamento de Ciências da Saúde, UFERSA, Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, CEP: 59.625-900, +55 84 3317-8200, Mossoró RN. E-mail: [diogo.cavalcanti@ufersa.edu.br](mailto:diogo.cavalcanti@ufersa.edu.br), [ibere@ufersa.edu.br](mailto:ibere@ufersa.edu.br), [moacir@ufersa.edu.br](mailto:moacir@ufersa.edu.br)

<sup>4</sup> Docente do Departamento de Biociência Animal, UFERSA, Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, CEP: 59.625-900, +55 84 3317-8200, Mossoró RN. E-mail: [fontenelle-neto@ufersa.edu.br](mailto:fontenelle-neto@ufersa.edu.br)

C) and two ambient temperatures (stress and thermoneutral). On days 10, 20, 30 and 40 all quails were weighed to determine live weight (g) and weight gain (g). Four quails from each treatment were euthanized and necropsied for duodenum collection, determination of absolute weight(g) and relative weight(%) and morphometric evaluation (height of villus, depth of crypt, relation villus/crypt ratio and absorption area). The data were analyzed statistically and the differences between the averages were determined by the Tukey test at 5% probability. High incubation temperature 39,5°C provided lower hatching rate and live birth weight, however, from the 10th day of age increased live weight and weight gain. In addition, the villus height, villus/crypt ratio and area of duodenal mucosa absorption in situations of chronic stress after hatching were positively influenced ( $P < 0,05$ ). These results indicate that thermal manipulation during incubation can induce physiological changes, which act as epigenetic thermal adaptation. The results open new perspectives on how to improve the performance and intestinal morphometry of Japanese quails submitted to high ambient temperatures.

INDEX TERMS: absorption area, stress, histology, incubation, temperature

**Resumo.** – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da manipulação da temperatura de incubação sobre os parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas ao estresse térmico crônico por calor após eclosão. Quinhentos e quarenta ovos adquiridos de um incubatório comercial foram distribuídos em três incubadoras, com a temperatura de 37,8°C e umidade 60% e viragem automática a cada duas horas. A partir do 6° dia de incubação até o momento da eclosão as temperaturas foram ajustadas 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta). No 15° dia de incubação as incubadoras foram programadas para cessar a viragem dos ovos. O nascimento das codornas foi acompanhado a cada 3 horas. Todos os ovos não eclodidos foram abertos para determinar o período da mortalidade embrionária. As codornas que eclodiram foram avaliadas quanto à qualidade pelo escore de 0 a 100 pontos, pesadas e distribuídas de forma uniforme, um delineamento inteiramente casualizado com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas de ambiente (estresse e termoneutro). Nos dias 10, 20, 30 e 40 todas as codornas foram pesadas para determinar o peso vivo (g) e ganho de peso (g). Quatro codornas de cada tratamento foram



eutanasiadas e necropsiadas para coleta do duodeno, determinação do peso absoluto (g) e peso relativo (%) e avaliação da morfométrica (altura de vilo, profundidade de cripta, relação vilo/cripta e área de absorção). Os dados foram analisados estatisticamente e as diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Alta temperatura de incubação 39,5°C proporcionou menor taxa de eclosão e peso vivo ao nascer, no entanto, a partir do 10º dia de idade aumentou o peso vivo e ganho de peso. Além, de influência de forma positiva ( $P < 0,05$ ) a altura de vilo, relação vilo/cripta e área de absorção da mucosa duodenal em situações de estresse crônico após eclosão. Esses resultados indicam que a manipulação térmica durante a incubação pode induzir mudanças fisiológicas, que atuam como adaptação térmica epigenética. Os resultados abrem novas perspectivas de como melhorar o desempenho e morfometria intestinal de codornas japonesas submetidas a altas temperaturas ambientes.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** área de absorção, estresse, histologia, incubação, temperatura.

## INTRODUÇÃO

A coturnicultura está em ampla expansão, sendo uma atividade de baixo investimento e retorno financeiro rápido. Características das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) incluem: rápido crescimento, alta produtividade, baixo consumo de ração, maturidade sexual precoce e um longo período de produção, por apresentar estas características únicas a coturnicultura está ganhando destaque no setor avícola (Silva et al. 2018). Fatores como melhoramento genético, nutrição, manejo sanitário, incubação artificial e o controle da temperatura ambiente são fundamentais para o desenvolvimento do setor. Dentre esses fatores a temperatura ambiente do local de criação é considerada como o principal fator de estresse, e consequentemente responsável pelo sucesso ou fracasso de uma empresa avícola (Sousa et al. 2014).

As aves são mais susceptíveis a variação térmica do que os mamíferos, devido as características anatomofisiológicas como presença de penas, ausência de glândulas sudoríparas e elevada produção de calor metabólico, o seu sistema termorregulador é mais propício a reter calor do que dissipá-lo (Furlan et al. 2012).

O estresse térmico por calor ocorre quando a quantidade de calor produzido pelas aves ultrapassa a capacidade de dissipação (Alagawany et al. 2017). Nesta

situação ocorrem mudanças fisiológicas e comportamentais nas codornas, as quais afetam severamente o consumo de ração e provocam mudanças estruturais no epitélio intestinal, diminuindo a digestibilidade e absorção dos nutrientes, a qual interfere no ganho de peso e na taxa de crescimento, além disso, são observadas alteração no pH sanguíneo, balanço eletrolítico e imunossupressão devido aos altos níveis de cortisol circulante, elevando a taxa de mortalidade (El-Kholy et al. 2017, Santos et al. 2017).

As temperaturas de conforto térmico para codornas são diferentes das observadas para outras aves, por isso as codornas são mais tolerantes ao estresse por calor em comparação as galinhas, este fato deve-se a maior relação superfície/volume, proporcionando as codornas maior capacidade de dissipar o calor produzido. A zona de conforto térmico para codornas a partir da quarta semana após a eclosão varia de 25 a 26°C, apresentando estresse severo quando a temperatura chega aos 33°C (Sousa et al. 2014, Santos et al. 2017).

A temperatura de incubação influencia todo o processo de desenvolvimento, crescimento e metabolismo do embrião (Reyna et al. 2017) e seu desempenho após eclosão (Burggren & Elmonoufy, 2017). A manipulação térmica durante a incubação é sugerida como uma alternativa para melhorar as respostas fisiológicas das aves em situações de estresse, principalmente estresse por calor, ao longo da sua vida. Este evento promove mudanças não gênicas durante fases específicas do desenvolvimento embrionário, a qual permite adaptação das aves a altas temperaturas ambientais (Piestun et al. 2011). No entanto, estudos sobre a manipulação térmica e aquisição de termotolerância em codornas japonesas são escassos.

De acordo com Loyau et al. (2016) embriões submetidos a altas e baixas temperaturas durante a incubação melhoram sua capacidade de se adaptar a ambientes quentes e frios, respectivamente, ao longo da vida. Segundo Piestun et al. (2009) para se obter o efeito duradouro da termotolerância após eclosão a manipulação térmica durante incubação deve ser realizada no período do desenvolvimento dos eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A aquisição da termotolerância em situações de estresse térmico por calor em frangos é promovida pelos hormônios tireoidianos (T3 e T4) e pelas proteínas de choque térmico, que reduzem o metabolismo basal das células e aumentam a estabilidade dos tecidos respectivamente (Al-Zghoul, 2018).

Considerando que a manipulação térmica durante a incubação é capaz de influenciar de forma benéfica os parâmetros de desempenho, desenvolvimento do

sistema digestório e desencadear a termotolerância em aves ao longo da vida produtiva, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da manipulação da temperatura de incubação sobre os parâmetros de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas ao estresse térmico por calor após eclosão.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (CEUA/UFERSA) sob no. 37/2016. O ensaio de incubação foi realizado no laboratório multidisciplinar do departamento de Biociência da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Foram utilizados 540 ovos de codornas japonesas adquiridos de um incubatório comercial (Granja Fujikura/Suzano-SP), sendo considerados incubáveis os ovos de casca limpa, íntegra e pigmentada, forma elíptica e sendo descartados aqueles pontiagudos, com presença de mofo e quebrados.

A incubação foi realizada em uma sala com temperatura e umidade controlada. Foram distribuídos 180 ovos de forma aleatória em cada incubadora (Brood Chocadeira®), que tiveram a temperatura ajustada para 37,8°C e umidade relativa para 60%. No 6° dia de incubação até o momento da eclosão estabeleceu-se a manipulação térmica (MT) por 24h, sendo as temperaturas das incubadoras ajustadas para 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta) e umidade de 65%, viragem automática a cada duas horas nos três tratamentos. No 15° dia de incubação as incubadoras foram programadas para cessar a viragem dos ovos. O nascimento das codornas foi acompanhado a cada 3 horas, a partir do 16° dia de incubação (384 horas) até 21° dia de incubação (505 horas). Todos os ovos não eclodidos foram abertos e passaram pelo embriodiagnóstico para determinar o período da mortalidade embrionária. Foram consideradas três fases de morte embrionária. A fase I compreendeu o período de zero a sete dias de desenvolvimento, a fase II, o período de oito a onze dias, e a fase III, o período de doze a dezoito dias. Os ovos foram quebrados para a visualização da consistência, forma física e estado de desenvolvimento do embrião das codornas de acordo com Ainsworth et al. (2010).

Após eclosão as codornas foram pesadas e avaliadas quando as qualidades físicas de acordo com escore de 0 a 100 pontos, segundo a metodologia de Tona et al. (2003). Foram distribuídas de forma uniforme, em gaiolas de madeira e arame

galvanizado com 50cm de comprimento e 120cm de largura, o piso forrado com 3cm de cama de maravalha, no galpão aviário no setor de avicultura da UFERSA. Formando um delineamento inteiramente casualizado com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas ambientes (estresse e termoneutro). Para submeter as codornas japonesas a uma situação de estresse térmico crônico por calor, a temperatura permaneceu constante do 1° ao 40° dias de idade em 40°C e umidade  $\pm 60\%$ . Para manter essa temperatura foram utilizadas quatro lâmpadas de secagem infravermelha e as gaiolas foram isoladas externamente com lona plásticas, sendo realizadas oito saídas para renovação do ar. Temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas usando-se termohigrômetros na altura do dorso das codornas japonesas. Para manter ambiente de conforto térmico foram estabelecidas as seguintes temperaturas de 35°C- 23°C ao longo dos 40 dias, havendo uma redução de 3°C à cada semana (El-Tarabany 2016, Bayrakdar et al. 2017). Portanto, havia seis tratamentos: T1 (37,8°C/estresse), T2 (38,5°C/estresse), T3 (39,5°C/estresse), T4 (37,8°C/termoneutro), T5 (38,5°C/termoneutro) e T6 (39,5°C/termoneutro).

As aves receberam água e ração *ad libitum*. Rações foram formuladas com farelo de milho e soja, seguindo as recomendações nutricionais da idade (Rostagno et al. 2011). O manejo foi realizado diariamente às 08:00h, 14:00h e 20:00h. No 10° dia, todas as aves foram vacinadas (vacina viva atenuada) contra a doença de Newcastle por via ocular na dose de 0,06ml de acordo com o fabricante (New Vacin, La Sota, Fort Dodge).

Aos 10, 20, 30 e 40 dias todas as codornas foram pesadas para determinar o peso vivo(g) e ganho de peso(g). Quatro codornas de cada tratamento foram eutanasiadas com anestesia geral dissociativa, com associação de cloridrato de cetamina, cloridrato de xilazina e sulfato de atropina. Após a indução foi realizado o deslocamento cervical com posterior necropsia para coleta do duodeno, do que foi pesado para determinar o peso absoluto(g) e peso relativo(%) pela fórmula  $(\text{peso absoluto}/\text{peso do animal}) \times 100$ .

Para avaliação morfométrica do duodeno, foram utilizados quatro animais por tratamento, sendo coletados fragmentos de aproximadamente 2cm da porção média do duodeno. As amostras foram lavadas com água destilada e fixadas em formol a 10% por 24 horas. As amostras teciduais foram desidratadas em série crescente de álcoois (70, 80, 90 e 100%) diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após microtomia semi-seriada com espessura de 5 $\mu\text{m}$ , as amostras histológicas foram coradas com hematoxilina e eosina. As lâminas foram seladas com lamínulas utilizando-se Bálsamo

do Canadá e observadas à microscopia de luz. Foram realizadas fotografias de campos contendo vilos orientados verticalmente. As análises das imagens foram realizadas através do programa Axio Vision.

A altura de vilo e profundidade de cripta foram medidas após a conversão de pixels em micrômetros e a relação vilo: cripta foi calculada. A altura de vilo foi medida a partir da região basal do vilo, coincidente com a porção superior das criptas ao seu ápice. As criptas foram medidas da sua base até a região de transição cripta: vilosidade. Área de absorção foi determinada de acordo com metodologia proposta por (Kisielinski et al. 2002). Foram realizadas 20 mensurações por ave e 80 em cada tratamento e 480 em cada idade, para cada variável estudada.

Os dados de peso vivo neonato(g), índice de eclodibilidade(%), embriodiagnóstico, qualidade das codornas, peso vivo, peso absoluto e relativo e análise morfométrica foram submetidos à análise de variância no programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) versão 2001. Médias significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de ganho de peso foram submetidos à análise descritiva utilizando-se o programa Microsoft Excel.

## RESULTADOS

Para o peso vivo neonato (g) houve diferença estatística entre as temperaturas de incubação ( $P < 0,05$ ), sendo o maior peso observado na temperatura padrão de  $37,8^{\circ}\text{C}$  (Quadro 1). No entanto, o maior índice de eclosão foi observado na temperatura intermediária  $38,5^{\circ}\text{C}$ , isto não refletiu em melhor qualidade de score corporal. O menor índice de eclosão, que refletiu em maior porcentagem de mortalidade embrionário, foi observado na temperatura alta de  $39,5^{\circ}\text{C}$ , e o período intermediário entre 8° ao 11° dia de incubação apresentou maior índice de mortalidade (17,78%).

Não houve interação ( $P > 0,05$ ) para os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente para peso vivo nas diferentes idades estudadas (Quadro 2). As codornas que sofreram manipulação térmica durante a incubação com a temperatura de  $39,5^{\circ}\text{C}$  apresentaram maior peso vivo ( $P < 0,05$ ) em comparação as demais temperaturas de incubação, independente da temperatura ambiente. A temperatura de  $38,5^{\circ}\text{C}$  apresentou o menor peso vivo em todas as idades. Quando avaliamos o fator temperatura ambiente, as codornas mantidas em situação de termoneutralidade apresentaram ( $P < 0,05$ ) maior peso vivo do que as codornas submetidas ao estresse crônico por calor.

O ganho de peso corporal foi maior aos 10 dias de idade nas codornas submetidas ao estresse crônico por calor, no entanto, nas demais idades a alta temperatura ambiente promoveu efeito negativo no ganho de peso. Considerando a temperatura de incubação aos 10, 20 e 30 dias o maior ganho de peso pós-eclosão foi observado nas codornas provenientes da temperatura de incubação 39,5°C, mas este efeito não foi notado aos 40 dias, quando o maior ganho de peso adveio da temperatura 38,5°C (Figura 1).

Os resultados para o peso absoluto do duodeno de codornas japonesas encontram-se no (Quadro 3). Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os fatores temperatura de incubação e ambiente aos 20 dias de idade. As aves incubadas a 37,8°C e criadas em situação de estresse crônico por calor apresentaram maior peso absoluto do duodeno. Não houve diferença entre as temperaturas de incubação, quando as aves foram criadas em situação de termoneutralidade. Aos 30 dias de idade o maior peso absoluto do duodeno foi observado em codornas criadas em situação de termoneutralidade. Aos 10 e 40 dias de idade não houve ( $P > 0,05$ ) interação entre os fatores estudados. Para o peso relativo do duodeno (Quadro 4), aos 10 dias de idade o maior peso foi observado nas codornas submetidas ao estresse crônico por calor. Não foi observado diferenças entre os fatores estudados nas demais idades.

Para os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) para altura das vilosidades duodenais em todas as idades (Quadro 5). O estresse térmico por calor após eclosão promoveu efeito positivo ( $P < 0,05$ ) na integridade da mucosa, aumentando a altura das vilosidades em todas as idades estudadas. A manipulação térmica da temperatura de incubação 39,5°C promoveu efeito positivo ( $P < 0,05$ ) aos 10 e 30 dias de idade em comparação as demais temperaturas, refletindo positivamente na altura das vilosidades duodenais das codornas submetidas ao estresse crônico por calor após a eclosão em todas as idades avaliadas. No entanto, quando as aves foram criadas em temperaturas de termoneutralidade, a manipulação térmica durante a incubação 39,5°C não apresentou efeito positivo aos 20 e 40 dias de idade. As codornas incubadas com a temperatura padrão (37,8°C) mantêm a integridade da mucosa duodenal em situação de estresse térmico por calor após eclosão aos 20, 30 e 40 dias de idade. Quando criadas em situação de termoneutralidade apresentam ( $P < 0,05$ ) maiores vilosidades aos 20 e 40 dias em comparação às demais temperaturas. As codornas incubadas com temperatura 38,5°C apresentaram as menores

alturas de vilosidades duodenais em todas as idades avaliadas e nas duas temperaturas ambiente ( $P < 0,05$ ).

Houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura de ambiente para profundidade de cripta duodenal aos 20, 30 e 40 dias (Quadro 6). Aos 10 dias a temperatura de incubação padrão  $37,8^{\circ}\text{C}$  apresentou maior profundidade de cripta em relação às demais temperaturas. Aos 20 e 30 dias as codornas incubadas a  $38,5^{\circ}\text{C}$  apresentaram maiores profundidades de criptas, quando criadas em situação de estresse térmico crônico por calor e em situação de termoneutralidade. No entanto, aos 40 dias este efeito não foi observado, onde as profundidades de cripta foram maiores ( $P < 0,05$ ) nas codornas incubadas com as temperaturas  $37,8^{\circ}\text{C}$  e  $39,5^{\circ}\text{C}$ .

Para relação vilo/cripta houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente aos 10, 30 e 40 dias, mas não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre os fatores aos 20 dias (Quadro 7). Para o fator temperatura de incubação as melhores médias foram observadas nas codornas oriundas da temperatura de incubação  $39,5^{\circ}\text{C}$  aos 10 e 30 dias. No entanto, aos 20 dias a melhor relação vilo/cripta ( $P < 0,05$ ) foi observada nas codornas provenientes da temperatura de incubação padrão  $37,8^{\circ}\text{C}$ . No fator temperatura ambiente, as codornas submetidas ao estresse crônico calor apresentaram maiores ( $P < 0,05$ ) médias aos 10, 30 e 40 dias de idade em comparação as codornas mantidas em situação de termoneutralidade. Estes fatos contribuíram para que a melhor ( $P < 0,05$ ) relação vilo/cripta, fosse observada nas codornas que passaram por manipulação térmica durante a incubação com temperatura  $39,5^{\circ}\text{C}$  e após eclosão foram mantidas em situação de estresse térmico por calor, aos 10, 30 e 40 dias.

Em todas as idades avaliadas houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente, onde as codornas provenientes da temperatura  $39,5^{\circ}\text{C}$  apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) área de absorção em situação de estresse crônico por calor após eclosão, em todas as idades. Na temperatura ambiente termoneutra, as codornas oriundas da manipulação térmica, apresentaram maior área de absorção aos 10 e 30 dias, efeito não observado nas demais idades. Para temperatura de incubação as maiores áreas de absorção ( $P < 0,05$ ) foram observadas na temperatura  $39,5^{\circ}\text{C}$  aos 30 dias (Quadro 8). No entanto, aos 10 e 40 dias as maiores médias foram observadas nas codornas proveniente da temperatura padrão  $37,8^{\circ}\text{C}$  e da manipulação térmica  $39,5^{\circ}\text{C}$ . O mesmo não é observado aos 20 dias, quando menor área de absorção ( $P < 0,05$ ) ocorreu na temperatura  $39,5^{\circ}\text{C}$ , comparada às demais

temperaturas. Para o fator temperatura ambiente, o estresse crônico por calor apresentou maior área de absorção aos 10 e 40 dias de idade, porém aos 20 e 30 dias não há diferença ( $P < 0,05$ ) entre as temperaturas ambientes

## DISCUSSÃO

No presente estudo, o maior índice de eclosão foi observado nos ovos que passaram pela manipulação térmica com temperatura 38,5°C (87,22%) seguida da temperatura padrão 37,8°C (81,11%) e temperatura alta 39,5°C (70,55%). Desta forma, o maior percentual de mortalidade embrionária foi observado na temperatura alta, principalmente na fase intermediária (8 e 11 dias de incubação). Resultados semelhantes foram observados por Burggren et al. (2017) em que a fase mais crítica para o desenvolvimento embrionário é a fase intermediária. Romão et al. (2009), estudando diferentes temperaturas incubação para codornas japonesas, observaram que os embriões são resistentes a alta temperatura de incubação (até 40°C) na fase inicial da embriogênese, contudo o mesmo não foi observado nos estágios finais da incubação, quando as temperaturas de 39 e 41°C aumentaram a mortalidade embrionária.

A qualidade geral do pitinho pode ser utilizada para identificar possíveis problemas durante a incubação. Segundo Flores et al. (2017) a manipulação térmica durante a incubação não interfere na qualidade de frangos de corte após eclosão. Estes dados corroboram Nyuiadzi et al. (2017), que trabalharam com três temperaturas de incubação com valores menores que o recomendado e não observaram diferença na qualidade das codornas. No presente estudo, as temperaturas de incubação 37,8°C e 39,5°C apresentaram melhor escore de pontuação ( $95,48 \pm 5,16a$  e  $93,08 \pm 3,30ab$  respectivamente), no entanto, reduziu o peso vivo neonato. Segundo Abuoghaba (2016), o aumento da temperatura de incubação em frangos de corte diminui o peso vivo ao nascer este resultado, reflete em menor peso vivo ao longo da vida da ave, visto que aumento da temperatura promove mudanças morfológicas no sistema digestório que interferem no desenvolvimento da ave. Resultados diferentes aos observados neste estudo foram observados por Romão et al. (2009) onde o melhor peso vivo ao nascer foi observado nas codornas provenientes das temperaturas entre 38 a 40°C.

Como esperado, no presente estudo, observou-se que o estresse térmico por calor após eclosão diminui significativamente o peso vivo e o ganho de peso de codornas japonesas. Aves mantidas sob altas temperaturas ambientais reduzem o consumo de ração para minimizar o incremento calórico resultante do processo da digestão. Além



disso, as aves precisam de uma quantidade considerável de energia para dissipar o calor e manter a homeotermia. Portanto, há diminuição da energia disponível para processos fisiológicos, como o desenvolvimento de tecidos de crescimento rápido, como músculos e ossos. O resultado deste processo é a diminuição do peso vivo e do ganho de peso, conforme relatado aqui e por outros autores (Abdellhady et al. 2017, El-Kholy et al. 2017, Erizir et al. 2018, El-Kholy et al. 2018).

Sousa et al. (2014) avaliando os limites de conforto térmico para codornas de corte, verificou que a maioria das codornas mantidas nos tratamentos de conforto, tiveram maior consumo voluntário de ração na fase final de criação. Diante desta premissa, podemos afirmar que, quanto maior for a temperatura ambiental, menor será a ingestão voluntária de alimentos, pois o incremento calórico proveniente da ração, em altas temperaturas, não é satisfatório, e a ave precisa eliminar este excesso de calor. No presente estudo, aos 10 dias de idade, o ganho de peso foi maior na situação de estresse térmico por calor, após os 20 dias o ganho de peso declinou em comparação às codornas mantidas em situações de termoneutralidade. Após a eclosão, o sistema termorregulador das aves está anatomicamente formado, no entanto, não é completamente funcional, havendo a necessidade de aquecimento. De acordo com Santos et al. (2017) codornas japonesas submetidas a altas temperaturas ambientes reduzem significativamente o comportamento de comer e aumentam o comportamento de beber água, se tornam mais agitadas e começam a abrir mais as asas para aumentar a dissipação do calor corporal para o meio ambiente. Uma das formas encontradas pelas codornas para ajustar a termorregulação em situações de estresse pelo calor são alterações no comportamento.

Características anatomofisiológicas como a presença de penas, ausência de glândulas sudoríparas e alta taxa metabólica favorecem para que as aves apresentem capacidade limitada para lidar com altas temperaturas ambientais, o que às vezes leva à redução do consumo, perda de peso, baixa produtividade e aumento da taxa de mortalidade e subseqüentes perdas econômicas (Furlan et al. 2012). A manipulação térmica durante a incubação surge como uma estratégia para amenizar este problema e melhorar a capacidade adaptativa das aves a situações de estresse por calor (Piestun et al. 2011). No presente estudo, as codornas que passaram pelo processo de manipulação térmica durante a incubação, com temperatura 39,5°C apresentaram maior peso vivo e ganho de peso após eclosão, resultados semelhantes a estes foram observados em codornas (Alkan et al. 2013) e em frangos por (Piestun et al. 2011, Al-Zghoul et al. 2013, Zaboli et al. 2017). De acordo com Al-Zghoul (2018), a manipulação térmica

durante a incubação altera a dinâmica da expressão de proteínas de choque térmico e fatores de choque térmico, que estão envolvidas na termotolerância das aves quando submetidas a situações ambientais de estresse por calor.

O intestino delgado atua como importante órgão para os processos de digestão e absorção dos alimentos, sendo um dos órgãos mais suscetíveis aos possíveis danos do estresse térmico. Assim, os dados de peso absoluto e relativo do duodeno, as variáveis morfológicas como altura de vilo, profundidade de cripta, relação vilo/cripta e área de absorção podem ser utilizadas como parâmetro para determinar o bem estar das aves, sua capacidade de crescimento, produção e termotolerância frente a desafios ambientais.

Em relação ao peso dos órgãos, só foi observada diferença para o peso absoluto entre as temperaturas termoneutra e de estresse aos 30 dias, onde o estresse reduziu o peso absoluto do duodeno. Segundo Lopes et al. (2015) as aves mantidas em temperaturas ambientes alta reduzem o tamanho das vísceras para tentar compensar a carga de calor que vai ser dissipada para o ambiente. Resultados semelhantes foram observados por Xiaofang et al. (2018) onde o peso do duodeno e do íleo de frangos submetidos aos estresse por calor por 7 dias diminui de forma significativa. Estes resultados podem estar associados ao baixo consumo de alimento, baixa digestibilidade e gasto energético mais alto na tentativa de perder calor para manter a homeostasia durante o estresse térmico por calor. Com relação ao peso relativo aos 10 dias de idade, o estresse térmico aumentou o peso do duodeno. Estes dados corroboram Bonfim et al. (2016) que relataram que codornas criadas em temperatura ambiente com 32°C até 42 dias de idade não afetou o peso relativo do intestino delgado em comparação as codornas do tratamento climatizado. Segundo esses autores, as codornas são mais eficientes em dissipar calor metabólico para ambiente do que os frangos de corte. No entanto, Lopes et al. (2015), trabalhando com frangos de corte, observaram que o peso relativo do intestino foi maior nas aves submetidas ao estresse térmico, os autores atribuem a este fato à suplementação da dieta com zinco e Vitamina E. No entanto, Xiaofang et al (2018), sugerem que o estresse pelo calor pode reduzir o peso dos órgãos digestivos, o qual contribuiu para as vilosidades intestinais mais curtas, mesmo que o comprimento do intestino tenha sido significativamente maior.

No entanto, no presente estudo os dados de morfometria do duodeno demonstram que o estresse térmico por calor aumentou a altura das vilosidades em todas as idades estudadas. Resultados semelhantes foram observados por Bayrakdar et al. (2017) em codornas japonesas submetidas a temperatura de 33°C por 6 horas por dia,

no período do 7-42 dias de idade. Porém, o efeito benéfico do estresse térmico por calor na morfometria duodenal não refletiu de forma benéfica nos parâmetros de peso vivo e ganho de peso. Este fato pode ser explicado pelo alto gasto energético necessário para manter o processo de renovação celular (proliferação, diferenciação e extrusão) celular que ocorre na mucosa intestinal. Cerca de 20% da energia provenientes dos processos de digestão e absorção são utilizadas para manutenção da mucosa intestinal, sendo desviada do crescimento da ave (McBride & Kelly 1990), portanto, quanto mais extensas forem as reparações da mucosa intestinal, menor a disponibilidade de energia líquida para crescimento da ave.

Wu et al. (2018) relatam que o baixo consumo de ração em alta temperatura ambiente promove efeitos deletérios à mucosa intestinal, uma vez que, a presença de alimento na mucosa intestinal atua como efeito trófico para seu desenvolvimento, além disso, o estresse térmico promove mudanças na superfície epitelial, a qual, permitem a ligação de patógenos no epitélio resultando na redução da altura do vilosidade e aumento na profundidade das criptas, prejudicando a integridade do tecido epitelial do intestino (Burkholder et al. 2008). Segundo Xiaofang et al (2018) para manter a estrutura e função do sistema digestório se faz necessário que o processo de renovação celular seja rápido, para isso, é necessário a presença do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), entretanto o estresse térmico por calor reduz de forma considerável a expressão desta coenzima, tanto ao longo do vilosidade como na região da cripta.

A altura da vilosidade e a profundidade da cripta são consideradas bons indicadores do desenvolvimento do intestino, em aves criadas em situações de termoneutralidade. Na região da cripta intestinal é observada a presença de células basais responsáveis pelo processo de renovação celular do vilosidade, assim quando maior a profundidade da cripta maior altura do vilosidade. De acordo com Barri et al. (2011) após eclosão ocorre uma intensa hiperplasia na região da cripta entre o 4º e 14º dia permitindo o desenvolvimento do epitélio intestinal, os enterócitos levam cerca de 4 dias para migrarem até a ponta das vilosidades. No presente estudo a melhor relação vilosidade/cripta foi observada aos 10, 30 e 40 dias de idade nas codornas submetidas ao estresse térmico por calor. Resultados semelhantes foram observados por Fernandes et al. (2017) em frangos submetidos a oscilação térmica.

Resultados diferentes aos observados no presente estudo foram relatos por Sandikci et al. (2004), Mehaisen et al. (2017) em codornas japonesas submetidas ao estresse térmico por calor. Segundo esses autores a exposição de codornas a altas

temperaturas ambientes provoca alterações estruturais no epitélio intestinal afetando os processos de digestão e absorção dos nutrientes. Corroborando esses dados Porto et al. (2015), Fernandes et al. (2017), Wu et al. (2018) observaram que o aumento da temperatura ambiente reduz os parâmetros de morfometria intestinal em frangos de corte. De acordo com Porto et al. (2015) durante o estresse térmico por calor ocorre uma redução na energia disponível para o trato gastrointestinal, que retarda o desenvolvimento da mucosa intestinal, resultando em vilosidades mais curtas, maior profundidade das criptas e menor relação vilo/cripta.

O aquecimento climático que vem ocorrendo ao longo dos anos é uma preocupação para o setor da coturnicultura, uma vez, que estresse térmico por calor promove várias alterações no comportamento e nos mecanismos fisiológicas das codornas, culminando com baixo desempenho dessas aves e perdas econômicas para o setor (Nyoni & Archer 2018). Desta forma, é essencial encontrar meios para minimizar os efeitos negativos do estresse térmico por calor. A manipulação térmica durante a incubação pode induzir mudanças fisiológicas que atuam como adaptação térmica epigenética, melhorando a termotolerância das aves ao longo da vida (Piestun et al. 2009). No presente estudo, a manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 39,5°C apresentou as maiores médias para altura de vilo, relação vilo/cripta e área de absorção, quando as codornas foram submetidas ao estresse crônico por calor em todas as idades avaliadas. Esses dados corroboram De Barros Morreira Filho et al. (2015) que observaram efeito positivo sobre a morfometria intestinal em frangos inoculados com *Salmonella* Enteritidis submetidos a alta temperatura de incubação. De acordo com Barri et al. (2011) a manipulação térmica durante a incubação apresenta-se como fator positivo para aumento das vilosidades intestinais que pode ser observada a partir do sexto dia pós eclosão.

Para Piestun et al. (2009) aquisição da termotolerância em situações de estresse térmico por calor em aves ocorre quando a manipulação térmica é realizada durante o desenvolvimento embrionário dos eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Segundo Al-Zghoul (2018) a manipulação térmica com temperatura de 39,5°C promove redução dos níveis plasmáticos circulantes de T3 em frangos submetidos ao estresse crônico por calor aos 35 dias de idade, essa redução da taxa metabólica está relacionada com aquisição da termotolerância. Para Al-Zghoul et al. (2013) a manipulação térmica durante a incubação favorece o condicionamento térmico em aves ao longo da sua vida por aumentar expressão de proteínas de choque térmico

Hsp70, quando as aves são submetidas a desafios térmicos. Desta forma, a manipulação térmica durante incubação apresenta-se como uma alternativa para lidar com efeitos deletérios situações de estresse térmico após eclosão.

### CONCLUSÕES

A manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 39,5°C reduz o índice de eclosão e peso vivo ao nascer, mas não interfere na qualidade física das codornas. Além disso, melhora a integridade da mucosa duodenal das codornas submetidas ao estresse térmico por calor após eclosão. Esta melhoria pode ser explicada pelas mudanças epigenéticas que desencadearam a termotolerância das codornas a após eclosão.

### REFERÊNCIAS

- Abdelhady, D.H., El-Abasy, M.A., Atta, M.S., Ghazy, E.W., Abuzed, T.K. & El-Moslemany, A.M. 2017. Synergistic Ameliorative Effects of Organic Chromium and Selenium Against Heat Stress in Japanese Quails: Performance, Immunological, Hematological, Biochemical And Antioxidant Studies. *Alexandria J. Vet. Sci.* 55(2), 113-123.
- Abuoghaba, A.A. 2016. Impact of spraying incubated eggs submitted to high temperature with ascorbic acid on embryonic development, hatchability, and some physiological responses of hatched chicks. *Can. J. Anim. Sci.* 97(2), 172-182.
- Ainsworth, S.J., Stanley, R.L., & Evans, D.J. 2010. Developmental stages of the Japanese quail. *J. Anatomy*, 216(1), 3-15.
- Alagawany, M., Farag, M.R., El-Hack, M.A. & Patra, A. 2017. Heat stress: effects on productive and reproductive performance of quail. *World's Poult Sci J.* 73(4), 747-756.
- Alkan, S., Karsli, T., Karabag, K., Galic, A. & Balcioglu, M.S. 2013. The effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on hatchability, hatching weight and body weight in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Arch Tierz.* 56(1), 789-796.
- Al-Zghoul, M.B. 2018. Thermal manipulation during broiler chicken embryogenesis increases basal mRNA levels and alters production dynamics of heat shock proteins 70 and 60 and heat shock factors 3 and 4 during thermal stress. *Poult. Sci.* 97(10), 3631-3670.

- Al-Zhgoul, M.B., Dalab, A.E. S., Ababneh, M.M., Jawasreh, K.I., Al Busadah, K.A. & Ismail, Z.B. 2013. Thermal manipulation during chicken embryogenesis results in enhanced Hsp70 gene expression and the acquisition of thermotolerance. *Res. Vet. Sci.* 95(2), 502-507.
- Barri, A., Honaker, C.F., Sottosanti, J.R., Hulet, R.M. & McElroy, A.P. 2011. Effect of incubation temperature on nutrient transporters and small intestine morphology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 90(1), 118-125.
- Bayrakdar, A., Dalkiliç, B., Yaman, M., Şimşek, U.G. & Çiftçi, M. 2017. Effect of Dietary Orange Peel Essential Oil and Thermotolerance on Histo-morphometry and Serotonin-immunoreactive Endocrine Cell Numbers in the Small Intestines of Heat Stressed Japanese Quails. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 23(2), 177-184.
- Bonfim, D.S., de Siqueira, J.C., Bomfim, M.A.D., Ribeiro, F.B., de Oliveira, F.L., Nascimento, D.C.N. & de Araujo Melo, S. 2016. Productive characteristics of meat quails reared in different environments. *Ciênc Agrár* 37(6), 4313–4326.
- Burggren, W.W. & Elmonoufy, N.A. 2017. Critical developmental windows for morphology and hematology revealed by intermittent and continuous hypoxic incubation in embryos of quail (*Coturnix coturnix*). *PloS One.* 12(9), e0183649.
- Burkholder, K.M., Thompson, K.L., Einstein, M.E., Applegate, T.J. & Patterson, J.A. 2008. Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to *Salmonella* enteritidis colonization in broilers. *Poult. Sci.* 87(9), 1734-1741.
- De Barros Moreira Filho, A.L., de Oliveira, C.J.B., de Oliveira, H.B., Campos, D.B., Guerra, R.R., Costa, F.G.P. & Givisiez, P.E.N. 2015. High incubation temperature and threonine dietary level improve ileum response against post-hatch salmonella enteritidis inoculation in broiler chicks. *PloS One.* 10(7), e0131474.
- El-Kholy, M.S., El-Hindawy, M.M., Alagawany, M., El-Hack, M.E.A. & El-Sayed, S.A. 2018. Use of acetylsalicylic acid as an allostatic modulator in the diets of growing Japanese quails exposed to heat stress. *J. therm. biol.* 74, 6-13.
- El-Kholy, M.S., El-Hindawy, M.M., Alagawany, M., El-Hack, M.E.A., El, S.A.E.G.A. & El-Sayed, H. 2017. Dietary supplementation of chromium can alleviate negative impacts of heat stress on performance, carcass yield, and some blood hematology and chemistry indices of growing Japanese quail. *Biol. trace elem. res.* 179(1), 148-157.

- El-Tarabany, M.S. 2016. Impact of temperature-humidity index on egg-laying characteristics and related stress and immunity parameters of Japanese quails. *Int. J. Biometeorol.* 60(7), 957-964.
- Erişir, Z., Şimşek, Ü.G., Özçelik, M., Baykalır, Y., Mutlu, S.İ. & Çiftçi, M. 2018. Effects of dietary grape seed on performance and some metabolic assessments in Japanese quail with different plumage colors exposed to heat stress. *Rev. Bras. Zootec.* 47, e20170172.
- Fernandes, J.I.M., Gonçalves, D.R.M., Riffel, E.T., Vanroo, E., Lima, F.K.D. & Broch, J. 2017. Effect of oral dietary supplement for chicks subjected to thermal oscillation on performance and intestinal morphometry. *Acta Sci., Anim. Sci.* 39(4), 385-392.
- Flores, F., Nääs, I.D.A. & Garcia, R.G. 2017. EFFECT OF THERMAL STIMULATION IN EMBRYOS FROM COBB® GENETIC STRAIN UNDER COMMERCIAL SCALE. *Engen. Agríc.* 37(2), 236-245.
- Furlan, R.L., Macari, M., Torres, K.A.A., Filho, F.D.E., Campos, D.M.B. & Vaz, A.M. 2012. Estresse térmico no nascedouro sobre a função imune de frangos de corte. *Avisite.* (18).
- Kisielinski, K., Willis, S., Prescher, A., Klosterhalfen, B. & Schumpelick, V. 2002. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. *Clin. exp. med.* 2(3), 131-135.
- Lopes, J.C.O., Figueirêdo, A.V.D., Lopes, J.B., Lima, D.C.P., Ribeiro, M.N., & Lima, V.B.D.S. 2015. Zinc and vitamin E in diets for broilers reared under heat stress. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 16(2), 350-364.
- Loyau, T., Hennequet-Antier, C., Coustham, V., Berri, C., Leduc, M., Crochet, S. & Brionne, A. 2016. Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge. *BMC Genomics.* 17(1), 329-344.
- McBride, B.W. & Kelly, J.M. 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. *J. Anim. Sci.* 68(9), 2997-3010.
- Mehaisen, G.M., Ibrahim, R.M., Desoky, A.A., Safaa, H.M., El-Sayed, O.A. & Abass, A.O. 2017. The importance of propolis in alleviating the negative physiological effects of heat stress in quail chicks. *PloS One.* 12(10), e0186907.
- Nyoni, N.M.B., Grab, S. & Archer, E.R.M. 2018. Heat stress and chickens: climate risk effects on rural poultry farming in low-income countries. *Clim. Dev.* 1-8.

- Nyuiadzi, D., Travel, A., Méda, B., Berri, C., Guilloteau, L.A., Coustham, V. & Collin, A. 2017. Effect of low incubation temperature and low ambient temperature until 21 days of age on performance and body temperature in fast-growing chickens. *Poult. Sci.* 96(12), 4261-4269.
- Piestun, Y., Halevy, O., Shinder, D., Ruzal, M., Druyan, S. & Yahav, S. 2011. Thermal manipulations during broiler embryogenesis improves post-hatch performance under hot conditions. *J. Therm. Biol.* 36(7), 469-474.
- Piestun, Y., Halevy, O. & Yahav, S. 2009. Thermal manipulations of broiler embryos—The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poult. Sci.* 88(12), 2677-2688.
- Porto, M.L., Givisiez, P.E.N., Saraiva, E.P., Costa, F.G.P., Moreira Filho, A.L.B., Andrade, M.F.S., Brandão, P.A. & Guerra, R.R. 2015. Glutamic acid improves body weight gain and intestinal morphology of broiler chickens submitted to heat stress. *Braz. J. of Poultry. Sci.* 17(3), 355-362.
- Ramli, M.B., Wahab, M.S., Zain, B.A., Raus, A.A., Raja, P., & Pahat, B. 2017. Effect Of Incubation Temperature On Ikta's Quail Breed With New Rolling Mechanism System. *J. Mechanic. Engineer.* v.4(3), 78-88.
- Reyna, K.S. & Burggren, W.W. 2017. Altered embryonic development in northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*) induced by pre-incubation oscillatory thermal stresses mimicking global warming predictions. *PloS One.* 12(9), e0184670.
- Romao, J.M., de Moraes, T.G.V., de Castro Teixeira, R.S., Buxade, C.C., & Cardoso, W.M. 2009. Incubation of Japanese quail eggs at different temperatures: hatchability, hatch weight, hatch time and embryonic mortality. *Arch Veterin Sci.* 14(3), 155-162.
- Rostagno, H.S. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed, Universidade Federal de Vicosa. p.186.
- Sandikci, M., Eren, U., Onol, A.G. & Kum, S. 2004. The effect of heat stress and the use of *Saccharomyces cerevisiae* or (and) bacitracin zinc against heat stress on the intestinal mucosa in quails. *Rev. Méd. Vét.* 155(11), 552-556.
- Santos, T.C.D., Gates, R.S., Tinôco, I.D.F.F., Zolnier, S. & Baêta, F.D.C. 2017. Behavior of Japanese quail in different air velocities and air temperatures. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 52(5), 344-354.
- SAS 2001. SAS User's Guide: statistics. 8th ed. Institute Incorporation, Statistical Analisis System. [S.1]



- Silva, A.F., Sgavioli, S., Domingues, C.H.F. & Garcia, R.G. 2018. Quail production as an alternative to improve income to small farmers. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 70(3), 913-920.
- Sousa, M.S., Ferreira Tinôco, I.D.F., Barreto, S.L.D.T., Amaral, A.G.D., Pires, L.C. & Ferreira, A.S. 2014. Determinação de limites superiores da zona de conforto térmico para codornas de corte aclimatizadas no Brasil de 22 a 35 dias de idade. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 15(2), 350-360.
- Tona, K., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Bruggeman, V., Moraes, V. M., Buyse, J., & Decuyper, E. 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.* 82(5), 736-741.
- Wu, Q.J., Liu, N., Wu, X.H., Wang, G.Y. & Lin, L. 2018. Glutamine alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, intestinal inflammatory response, and barrier integrity in broilers. *Poult. Sci.* 97(8), 2675-2683.
- Xiaofang, H.E., Zhuang, L.U., Bingbing, M.A., Lin, Z., Jiaolong, L.I., Yun, J., Guanghong, Z., & FENG, G. 2018. Chronic Heat Stress Damages Small Intestinal Epithelium Cells Associated with the Adenosine 5'-Monophosphate-Activated Protein Kinase Pathway in Broilers. *J. agric. and food chem.* 66(28), 7301-7309.
- Zaboli, G.R., Rahimi, S., Shariatmadari, F., Torshizi, M.A.K., Baghbanzadeh, A. & Mehri, M. 2016. Thermal manipulation during Pre and Post-Hatch on thermotolerance of male broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Poult. Sci.* 96(2), 478-485.

**Quadro 1. Peso vivo neonato, eclodibilidade, escore de qualidade física e mortalidade das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a manipulação térmica durante a incubação**

Variáveis	Temperatura de incubação (°C)			Valor de P
	37,8	38,5	39,5	
Peso vivo neonato (g)	9,83±0,80a	8,02±0,84b	7,76±0,91b	0,0496
Eclodibilidade (%)	81,11b	87,22a	70,55c	<.0001
Qualidade física	95,48±5,16a	91,90±3,20b	93,08±3,30ab	<.0001
Máximo-Mínimo	100 - 88	100 - 63	100 - 66	
Mortalidade (%)	18,89b	12,78c	29,45a	<.0001
Precoce	7,22a	3,88c	10,0b	<.0001
Intermediária	6,12c	7,23b	17,78a	<.0001
Tardia	5,55a	1,67b	1,67c	<.0001

Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%

**Quadro 2. Peso vivo (g) das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	35,94	67,08	103,38	130,74
	38,5/estresse	31,30	61,22	99,76	129,14
	39,5/estresse	36,18	68,38	106,80	133,06
	37,8/termoneutro	30,63	70,42	121,03	143,43
	38,5/termoneutro	29,24	66,00	117,00	148,09
	39,5/termoneutro	35,44	75,61	126,73	158,41
TI	Padrão (37,8°C)	33,28 b	68,75 b	112,20 b	137,08 b
	Intermediária (38,5°C)	30,27 c	63,61 c	108,38 c	138,61 b
	Alta (39,5°C)	35,81 a	71,99 a	116,76 a	145,41 a
TA	Estresse	34,24 B	65,63 B	102,76 B	130,58 B
	Termoneutra	35,44 A	75,61 A	126,73 A	158,41 A
Probabilidade	TI	<.0001	<.0001	0,0005	0,05
	TA	0,0014	<.0001	<.0001	<.0001
	TIxTA	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

**Quadro 3. Peso absoluto(g) do duodeno de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,67	1,20 aA	1,39	1,86
	38,5/estresse	0,66	0,72 cA	1,29	1,37
	39,5/estresse	0,71	0,94 bA	1,10	1,51
	37,8/termoneutro	0,69	0,88 aA	1,48	1,44
	38,5/termoneutro	0,64	0,94 aA	1,35	1,49
	39,5/termoneutro	0,59	0,97 aA	1,54	1,31
TI	Padrão (37,8°C)	0,68	1,04 a	1,43	1,65
	Intermediária (38,5°C)	0,65	0,83 b	1,32	1,43
	Alta (39,5°C)	0,65	0,95 a	1,32	1,41
TA	Estresse	0,68	0,95	1,26 B	1,58
	Termoneutra	0,64	0,93	1,45 A	1,41
Probabilidade	TI	NS	0,02	NS	NS
	TA	NS	NS	0,04	NS
	TIxTA	NS	0,02	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

**Quadro 4. Peso relativo (%) do duodeno de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	2,09	2,00	1,44	1,32
	38,5/estresse	2,10	1,34	1,25	1,14
	39,5/estresse	2,21	1,33	1,05	1,21
	37,8/termoneutro	2,15	1,36	1,26	1,05
	38,5/termoneutro	1,87	1,49	1,30	1,19
	39,5/termoneutro	1,85	1,30	1,18	1,08
TI	Padrão (37,8°C)	2,12	1,68	1,35	1,18
	Intermediária (38,5°C)	1,98	1,41	1,27	1,16
	Alta (39,5°C)	2,03	1,31	1,11	1,14
TA	Estresse	2,13 A	1,55	1,24	1,22
	Termoneutra	1,95 B	1,38	1,24	1,10
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	0,02	NS	NS	NS
	TIxTA	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

**Quadro 5. Altura do vilo ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	687,57 bA	711,09 aA	722,25 aA	778,57 aA
	38,5/estresse	746,69 bA	628,34 bA	656,31 bA	738,02 bA
	39,5/estresse	826,22 aA	700,18 aA	730,31 aA	793,07 aA
	37,8/termoneutro	704,40 aB	675,57 aB	690,88 aB	720,05 aB
	38,5/termoneutro	587,75 bB	638,20 aB	648,90 bB	634,45 cB
	39,5/termoneutro	677,96 aB	567,64 bB	666,98 aB	645,38 bB
TI	Padrão (37,8°C)	695,98 b	693,33 a	706,56 a	749,31 a
	Intermediária (38,5°C)	667,22b	633,20 b	652,60 b	686,23 c
	Alta (39,5°C)	752,09 a	633,91b	698,64 a	719,22 b
TA	Estresse	753,49 A	679,87 A	702,95 A	769,88 A
	Termoneutra	656,96 B	627,13 B	668,92 B	666,62 B
Probabilidade	TI	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
	TA	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
	TIxTA	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

**Quadro 6. Profundidade de cripta ( $\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	47,65	40,36 bA	46,48 aA	39,98 aA
	38,5/estresse	45,52	45,58 aA	40,46 aA	37,61 bA
	39,5/estresse	45,98	43,70 bA	35,94 bA	37,64 bA
	37,8/termoneutro	46,53	41,90 bA	38,40 bB	40,35 aA
	38,5/termoneutro	46,41	45,20 aA	40,25 aB	36,04 bA
	39,5/termoneutro	44,80	38,52 bA	40,94 aB	38,76 aA
TI	Padrão (37,8°C)	47,09 a	41,13 b	42,44 a	40,16 a
	Intermediária (38,5°C)	45,96 b	45,39 a	40,35 a	36,82 b
	Alta (39,5°C)	45,39 b	41,11 b	38,44 b	38,2 a
TA	Estresse	46,38	43,21	40,96 A	38,41
	Termoneutra	46,91	41,87	39,86 B	38,38
Probabilidade	TI	0,02	<.0001	<.0001	<.0001
	TA	NS	NS	0,0004	NS
	TIxTA	NS	<.0001	<.0001	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

**Quadro 7. Relação vilo/cripta ( $\mu\text{m}/\mu\text{m}$ ) do duodeno das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	14,62 bA	17,86	15,66 bA	19,51 bA
	38,5/estresse	16,59 bA	14,86	16,40 bA	19,72 aA
	39,5/estresse	18,25 aA	16,11	20,44 aA	21,14 aA
	37,8/termoneutro	15,39 aB	17,62	18,09 aB	17,93 aB
	38,5/termoneutro	13,09 bB	14,41	16,17 bB	17,69 aB
	39,5/termoneutro	15,35 aB	14,95	16,40 bB	16,71 bB
TI	Padrão (37,8°C)	15,00 b	17,74 a	16,87 b	18,72
	Intermediária (38,5°C)	14,84 b	14,63 b	16,28 b	18,70
	Alta (39,5°C)	16,80 a	15,53 b	18,42 a	18,92
TA	Estresse	16,48 A	16,27	17,50 A	20,12 A
	Termoneutra	14,61 B	15,66	16,88 B	17,44 B
Probabilidade	TI	<.0001	<.0001	<.0001	NS
	TA	<.0001	NS	<.0001	<.0001
	TIxTA	<.0001	NS	<.0001	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

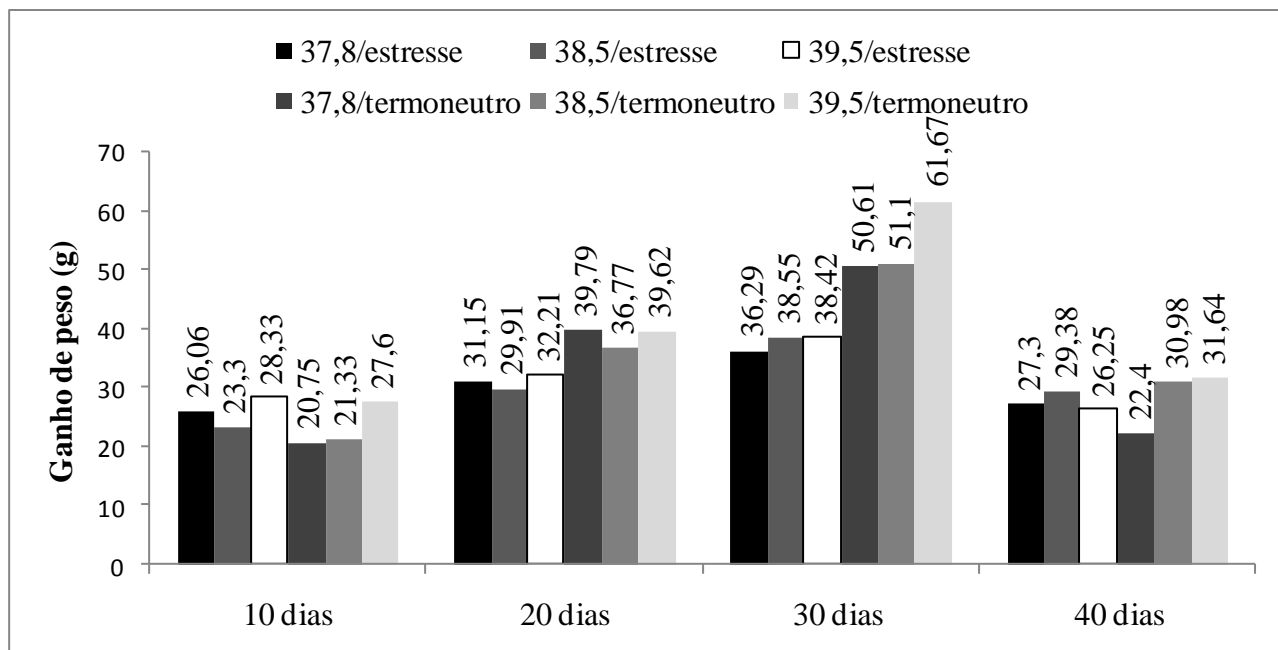


**Quadro 8. Área de absorção do duodeno das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão**

		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	14,64 bA	15,82 aA	15,84 bA	18,41 aA
	38,5/estresse	14,69 bA	13,39 bA	15,57 bA	17,68 bA
	39,5/estresse	15,82 aA	14,64 aA	18,98 aA	18,70 aA
	37,8/termoneutro	13,79 aB	14,66 aA	17,50 aA	16,69 aB
	38,5/termoneutro	11,84 bB	14,88 aA	15,86 bA	15,51 bB
	39,5/termoneutro	13,67 aB	13,50 bA	16,96 aA	15,16 bB
TI	Padrão (37,8°C)	14,21 a	14,97 a	16,67 b	17,55 a
	Intermediária (38,5°C)	13,26 b	14,13 a	15,71 b	16,59 b
	Alta (39,5°C)	14,74 a	13,98 b	17,97 a	16,93 ab
TA	Estresse	15,05 A	14,37	16,79	18,26 A
	Termoneutra	13,01 B	14,34	16,77	15,78 B
Probabilidade	TI	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
	TA	<.0001	NS	NS	<.0001
	TIxTA	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.



**Figura 1. Ganho de peso (g) das codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após a eclosão**

7. Capítulo III

**Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e características morfológicas da bolsa cloacal de codornas japonesas submetidas ao estresse crônico por calor**

O presente trabalho foi enviado à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

**Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e morfometria da bolsa cloacal de codornas japonesas submetidas ao estresse crônico por calor**

Effect of thermal manipulation during incubation on the hematological parameters, serum biochemistry and morphometry of cloacal bag of Japanese quails submitted to chronic heat stress

M.L. Porto<sup>1\*</sup>, J.D.F. Neto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal Rural do Semi-Árido –UFERSA - Mossoró-RN

<sup>2</sup> Docente da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA - Mossoró-RN

**Resumo** – Objetivou-se avaliar os efeitos da manipulação da temperatura de incubação sobre a resposta imune de codornas desafiadas termicamente após eclosão. Para isso, foram utilizados 540 ovos distribuídos em três incubadoras, com temperatura de 37,8°C e umidade 60%. A partir do 6º dia de incubação até eclosão as temperaturas foram ajustadas 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta). Após eclosão as codornas foram pesadas e distribuídas, em delineamento inteiramente casualizado com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas de ambiente (estresse e termoneutro). Aos 10, 20, 30 e 40 dias quatro codornas por tratamento foram eutanasiadas para coleta da bolsa cloacal, fígado e coração para determinar o peso absoluto (g), peso relativo (%) e área dos folículos bursais. Sangue foi colhido para realização do hemograma, leucograma e bioquímica sérica. Os dados foram analisados e as diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey a 5%. O estresse térmico por calor, a partir dos 20 dias, promove redução no peso absoluto do fígado, coração, bolsa cloacal e na área dos folículos bursais. Além disso, heterofilia, linfopenia e aumento da relação heterófilo/linfócito. Em conclusão, o estresse térmico por calor após 10 dias de idade pode causar imunossupressão.

Palavras chave: aclimação, codornas japonesas, estresse, imunidade, leucograma

**Abstract-** The objective of this study was to evaluate the effects of manipulation of the incubation temperature on the immune response of quails challenged thermally after hatching. For this, 540 eggs were distributed in three incubators, with temperature of 37.8°C and humidity 60%. From the 6<sup>th</sup> day of incubation to hatching the temperatures were adjusted to 37.8°C (standard), 38.5°C (intermediate) and 39.5°C (high). After hatching the quails were weighed and distributed in a completely randomized design with three incubation temperatures (37.8, 38.5 and 39.5°C) and two ambient temperatures (stress and thermoneutral). At 10, 20, 30 and 40 days four quail per treatment were euthanized to collect the cloacal burse, liver and heart to determine the absolute weight (g), relative weight (%) and area of the bursal follicles. Blood was sample for hemogram, leukogram and serum biochemistry. The data were analyzed and the differences between the means were determined by the Tukey test at 5%. Heat stress from 20 days onwards promotes a reduction in the absolute weight of the liver, heart, cloacal sac and in the area of the follicles. In addition, heterofilia, lymphopenia and increased heterophile/lymphocyte ratio. In conclusion, heat stress after 10 days of age can cause immunosuppression.

Keywords: acclimatization, japanese quail, stress, immunity, leukogram

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da coturnicultura em climas tropicais e subtropicais como o do Brasil, com radiação solar intensa, elevada temperatura e umidade relativa do ar, boa parte do ano, geram condições de desconforto térmico quase permanente às codornas, dificultando seu desempenho produtivo e constituindo um dos principais problemas que afetam a sua criação. O estresse térmico por calor promove alterações fisiológicas e comportamentais como redução no consumo de ração, aumento da ingestão de água, taquicardia, taquipneia, alterações hematológicas e imunossupressão (El-Kholy *et al.*, 2017). Além disso, as codornas se tornam mais agitadas e começaram a abrir mais as asas para aumentar a dissipação do calor corporal para o meio ambiente. Essas alterações provocadas pelo estresse térmico reduzem o ganho de peso, aumentam a conversão alimentar, reduzem o número e qualidade dos ovos e qualidade da carcaça, bem como aumenta a taxa de mortalidade, resultando em grandes prejuízos econômicos o para setor avícola (Kamel *et al.*, 2017).

Em resposta à condição de estresse térmico, múltiplas mudanças na fisiologia neuroendócrinas nas aves ocorrem para manter seu estado de homeostase. Várias pesquisas relatam ativação contínua do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), promovendo o aumento dos níveis circulantes de corticosterona, resultando em maior catabolismo protéico, hiperglicemia, imunossupressão e aumento da susceptibilidade a infecções (Ebrahimzadeh *et al.*, 2012; Mehaisen *et al.*, 2017).

O aumento dos níveis circulantes de corticosterona na corrente sanguínea durante o estresse térmico por calor intensifica o processo de apoptose dos linfócitos na bolsa cloacal, ocasionando redução nos níveis circulantes de anticorpos, hipotrofia e involução do tecido linfóide (Calefi *et al.*, 2017). Assim como, resulta em imunidade sistêmica irregular e desequilíbrio na expressão de moléculas inflamatórias (Mehaisen *et al.*, 2017), alteração nos valores de leucócitos circulantes desencadeando heterofilia e linfopenia (Rosa *et al.*, 2011), aumento dos níveis de glicose circulante, proteínas totais e globulinas (Nazar *et al.*, 2018a). Outro relato sugere que o estresse térmico por calor mantido por mais de três dias consecutivos compromete de forma drástica a resposta imune, afetando negativamente a saúde e o bem-estar de codornas japonesas (Nazar *et al.*, 2018b).

Estudos recentes revelam que a manipulação térmica durante a incubação (MT), nos períodos de desenvolvimento dos eixos hipotálamo-hipófise-tireóide e hipotálamo-hipófise-adrenal do embrião, promove mudanças epigenéticas e metabólicas, as quais permitem adaptação das aves a altas temperaturas ambientais (Piestun *et al.*, 2009; Alkan *et al.*, 2013). Essas mudanças ocorrem nas vias regulatórias do estresse, diminuindo a taxa metabólica, aumentando a expressão de genes pró-angiogênicos no músculo potencializando a resposta vasomotora e conseqüentemente, a perda de calor, e aumentando a expressão de genes anti-apoptóticos, preservando a integridade das células durante um desafio térmico após eclosão (Loyau *et al.*, 2016). Segundo Zimmer *et al.* (2017) os ovos de codornas que receberam injeção de corticosterona durante a incubação originaram codornas e suas proles com mecanismos de feedback negativo no eixo HPA mais eficientes, ou seja as aves quando são desafiadas com situações estressantes ao longa da sua vida, apresentam 50% a menos de níveis circulantes de corticosterona em comparação às codornas e suas proles que não foram estressadas durante a incubação. Os autores atribuem este fato ao aumento da expressão de receptores para corticosterona no hipotálamo e na hipófise durante o desenvolvimento

embrionário. Isso pode permitir que as mães preparem melhor seus filhos para enfrentar situações estressantes em seu ambiente futuro.

Considerando que a alta temperatura ambiente é prejudicial para o sistema imune e que a manipulação térmica durante a incubação é capaz de influenciar de forma benéfica os mecanismos regulatórios do estresse, desencadeando a termotolerância em aves, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da manipulação térmica durante a incubação sobre os parâmetros hematológicos, bioquímica sérica e morfologia da bolsa cloacal de codornas japonesas desafiadas termicamente após a eclosão.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (CEUA/UFERSA) sob no. 37/2016. O ensaio de incubação foi realizado no laboratório multidisciplinar do departamento de Biociência da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Foram utilizados 540 ovos de codornas japonesas adquiridos de um incubatório comercial (Granja Fujikura/Suzano-SP), sendo considerados incubáveis os ovos de casca limpa, íntegra e pigmentada, forma elíptica e sendo descartados aqueles pontiagudos, com presença de mofo e quebrados.

A incubação foi realizada em uma sala com temperatura e umidade controlada. Foram distribuídos 180 ovos de forma aleatória em cada incubadora (Brood Chocadeira<sup>®</sup>). Cujas temperaturas foram ajustadas para 37,8°C e umidade relativa de 60%. No 6º dia de incubação até o momento da eclosão, foi realizada a manipulação térmica (MT) por 24h, sendo as temperaturas das incubadoras ajustadas para 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta) e umidade de 65%. A viragem automática ocorreu a cada duas horas nos três tratamentos.

Após eclosão as codornas foram pesadas e distribuídas de forma uniforme, em gaiolas de madeira e arame galvanizado com o piso forrado com 3cm de cama de maravalha, no galpão aviário no setor de avicultura da UFERSA. A distribuição das aves seguiu um delineamento inteiramente casualizado com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas ambientes (estresse e termoneutro). Para submeter as codornas japonesas a uma situação de estresse térmico crônico por calor, a temperatura permaneceu constante do 1º ao 40º dia de idade em 40°C e umidade  $\pm 60\%$ . Para manter essa temperatura foram utilizadas quatro lâmpadas de secagem infravermelha. O controle da temperatura e umidade relativa do ar foi

realizado por termohigrômetros instalados na altura do dorso das codornas japonesas. Para proporcionar um ambiente de conforto térmico foram estabelecidas as seguintes temperaturas de 35°C- 23°C ao longo dos 40 dias, havendo uma redução de 3°C à cada semana (El-Tarabany 2016). Havia no total seis tratamentos: T1 (37,8°C/estresse), T2 (38,5°C/estresse), T3 (39,5°C/estresse), T4 (37,8°C/termoneutro), T5 (38,5°C/termoneutro) e T6 (39,5°C/termoneutro).

As aves receberam água e ração *ad libitum*. As rações foram formuladas com farelo de milho e soja, seguindo as recomendações nutricionais da idade (Rostagno *et al.*, 2011). O manejo foi realizado diariamente às 08:00h, 14:00h e 20:00h. No 10º dia, todas as aves foram vacinadas (vacina viva atenuada) contra a doença de Newcastle por via ocular na dose de 0,06ml de acordo com o fabricante (New Vacin, La Sota, Fort Dodge).

Aos 10, 20, 30 e 40 dias, quatro codornas de cada tratamento foram eutanasiadas com anestesia geral dissociativa, com associação de cloridrato de cetamina, cloridrato de xilazina e sulfato de atropina. Após a indução, foi realizado o deslocamento cervical com posterior necropsia para coleta da bolsa cloacal, fígado e coração. Determinou-se o peso absoluto (g) e peso relativo (%) dos órgãos pela fórmula: (peso absoluto/peso do animal)x100.

Para avaliação morfométrica da bolsa cloacal, foram utilizados quatro codornas por tratamento, sendo coletados fragmentos de aproximadamente 4cm. As amostras foram processadas por técnicas histológicas rotineiras e coradas em HE. As lâminas foram observadas à microscopia de luz e as análises das imagens foram realizadas no programa Axio Vision. Foram medidas 20 áreas de folículos bursais em cada bolsa cloacal, totalizando 80 leituras por tratamento e 480 leituras por idade.

Aos 30 e 40 dias de idade foi coletado sangue com e sem anticoagulante de quatro codornas por tratamento, para realização do hemograma, leucograma e bioquímica sérica. O hemograma foi realizado pela técnica manual, a contagem dos eritrócitos foi realizada em Câmara de Neubauer, com diluição prévia do sangue (1:100) na solução de Natt e Herrick. O hematócrito foi determinado pela técnica do microhematócrito. O volume corpuscular médio (VCM) e concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados por meio das fórmulas:  $VCM = \text{hematócrito} \times 10 / \text{valor das hemácias}$  e  $CHCM = \text{hemoglobina} \times 100 / \text{hematócrito}$ . Para contagem e diferenciação dos leucócitos, foram realizados esfregaços sanguíneos



corados por panótico rápido. A relação heterófilo:linfócito foi obtida dividindo-se o número de heterófilos pelo número de linfócitos.

Na bioquímica sérica foram analisadas a proteína total (PT) e albumina (ALB) através dos kits comerciais Proteínas Totais e Albumina (kit VIDA biotecnologia), pelo método do refratômetro (Rosa *et al.*, 2011). A concentração sérica de globulinas foi obtida pela diferença entre a proteína total e albumina e foi então calculada a relação albumina:globulina.

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) versão 2001. Médias significativas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS**

O estresse térmico por calor reduziu ( $P<0,05$ ) o peso absoluto da bolsa cloacal das codornas japonesas aos 20, 30 e 40 dias de idade e o peso relativo aos 30 e 40 dias. Aos 20 dias houve interação ( $P<0,05$ ) entre a temperatura de incubação e temperatura ambiente, de tal forma que as codornas provenientes da manipulação térmica por calor durante a incubação com temperatura de  $38,5^{\circ}\text{C}$  apresentaram maior peso relativo em situações de estresse térmico por calor (Tab. 1).

Além disso, o estresse térmico por calor reduziu o peso absoluto do fígado aos 20 e 30 dias, no entanto, não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre as temperaturas de incubação e temperaturas ambiente para o peso relativo do fígado (Tab. 2).

Tabela 1. Peso absoluto (g) e relativo (%) da bolsa cloacal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após a eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Peso absoluto (g)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,05	0,05	0,13	0,15
	38,5/estresse	0,05	0,09	0,13	0,13
	39,5/estresse	0,04	0,09	0,08	0,13
	37,8/termoneutro	0,05	0,14	0,26	0,14
	38,5/termoneutro	0,04	0,10	0,18	0,17
	39,5/termoneutro	0,05	1,24	0,23	0,17
TI	Padrão (37,8°C)	0,05	0,09	0,19	0,14
	Intermediária (38,5°C)	0,04	0,09	0,15	0,15
	Alta (39,5°C)	0,04	0,66	0,15	0,16
TA	Estresse	0,04	0,07 B	0,11 B	0,13 B
	Termoneutra	0,04	0,49 A	0,22 A	0,17 A
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	0,02	<.0001	0,04
	TIxTA	NS	NS	NS	NS
Peso relativo (%)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,15	0,09 bB	0,13	0,11
	38,5/estresse	0,16	0,17 aA	0,12	0,11
	39,5/estresse	0,12	0,11 bB	0,09	0,11
	37,8/termoneutro	0,14	0,18 aA	0,22	0,11
	38,5/termoneutro	0,26	0,09 bB	0,17	0,14
	39,5/termoneutro	0,16	0,16 aA	0,18	0,17
TI	Padrão (37,8°C)	0,14	0,13	0,17	0,11
	Intermediária (38,5°C)	0,16	0,13	0,14	0,12
	Alta (39,5°C)	0,14	0,13	0,13	0,14
TA	Estresse	0,14	0,12	0,11 B	0,11 B
	Termoneutra	0,18	0,14	0,19 A	0,14 A
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	<.0001	0,04
	TIxTA	NS	<.0001	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

Tabela 2. Peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Peso absoluto (g)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	1,11	1,56	2,00	2,72
	38,5/estresse	0,93	1,31	1,92	2,09
	39,5/estresse	1,11	1,41	1,73	2,53
	37,8/termoneutro	1,10	1,64	2,22	2,57
	38,5/termoneutro	1,04	1,62	2,39	2,86
	39,5/termoneutro	1,09	1,72	2,85	2,26
TI	Padrão (37,8°C)	1,10	1,60	2,11	2,64
	Intermediária (38,5°C)	0,98	1,46	2,15	2,47
	Alta (39,5°C)	1,10	1,56	2,29	2,39
TA	Estresse	1,05	1,42 B	1,88 B	2,44
	Termoneutra	1,07	1,66 A	2,48 A	2,56
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	0.02	<.0001	NS
	TIxTA	NS	NS	NS	NS
Peso relativo (%)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	3,42	2,53	2,02	1,92
	38,5/estresse	2,90	2,38	1,84	1,73
	39,5/estresse	3,46	1,97	1,65	2,03
	37,8/termoneutro	3,43	2,21	1,89	1,90
	38,5/termoneutro	3,13	2,57	2,32	2,32
	39,5/termoneutro	3,44	2,33	2,15	1,87
TI	Padrão (37,8°C)	3,42	2,37	1,95	1,91
	Intermediária (38,5°C)	3,01	2,47	2,08	2,02
	Alta (39,5°C)	3,45	2,15	1,90	1,95
TA	Estresse	3,26	2,29	1,83	1,89
	Termoneutra	3,33	2,37	2,12	2,03
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	NS	NS
	TIxTA	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

Para os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente houve interação ( $P < 0,05$ ) para o peso absoluto do coração aos 20 e 30 dias de idade (Tab. 3) onde a manipulação térmica durante a incubação com a temperatura 39,5°C apresentou a maior média ( $< 0,05$ ) em situação de estresse térmico por calor aos 20 dias, no entanto, esse efeito não foi observado aos 30 dias, a qual apresentou a menor média, assim como as codornas provenientes da temperatura de incubação 37,8°C. Para o peso relativo do coração aos 30 dias a manipulação térmica durante a incubação com temperatura 38,5°C apresentou maior ( $P < 0,05$ ) média em comparação às demais temperaturas. Aos 30 e 40

dias de idade, as maiores médias para o peso relativo do coração foram observadas em situações de termoneutralidade.

Tabela 3. Peso absoluto (g) e relativo (%) do coração de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Peso absoluto (g)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,31	0,63 abA	1,06 bB	1,38
	38,5/estresse	0,32	0,54 bB	1,25 bA	1,40
	39,5/estresse	0,42	0,70 aA	1,07 bB	1,29
	37,8/termoneutro	0,34	0,74 aA	1,36 aA	1,72
	38,5/termoneutro	0,38	0,72 aA	1,39 aA	1,51
	39,5/termoneutro	0,34	0,76 aA	1,51 aA	1,50
TI	Padrão (37,8°C)	0,32	0,68	1,21	1,55
	Intermediária (38,5°C)	0,35	0,63	1,32	1,45
	Alta (39,5°C)	0,38	0,73	1,29	1,39
TA	Estresse	0,35	0,62 B	1,12 B	1,35 B
	Termoneutra	0,35	0,74 A	1,42 A	1,57 A
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	0.02	<.0001	0.02
	TIxTA	NS	0.04	0.03	NS
Peso relativo (%)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,95	1,06	1,06	0,97
	38,5/estresse	1,00	0,98	1,20	1,16
	39,5/estresse	1,17	0,96	1,02	1,03
	37,8/termoneutro	1,04	1,00	1,15	1,27
	38,5/termoneutro	1,10	1,51	1,33	1,21
	39,5/termoneutro	1,08	1,01	1,16	1,24
TI	Padrão (37,8°C)	0,99	1,03	1,10 b	1,12
	Intermediária (38,5°C)	1,05	1,24	1,26 a	1,18
	Alta (39,5°C)	1,12	0,98	1,09 b	1,13
TA	Estresse	1,04	1,00	1,09 B	1,05 B
	Termoneutra	1,07	1,17	1,21 A	1,24 A
Probabilidade	TI	NS	NS	0.03	NS
	TA	NS	NS	0.03	0.02
	TIxTA	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas

Os resultados do leucograma aos 30 dias de codornas japonesas encontram-se na (Tab. 4). Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre a temperatura de incubação e temperatura ambiente para os leucócitos, eosinófilos e monócitos. Para os basófilos observou interação entre a temperatura de incubação e temperatura ambiente e a maior média ( $P < 0,05$ ) foi observada nas codornas oriundas da manipulação térmica durante a

incubação com temperatura 38,5°C e criadas em temperaturas ambiente termoneutra. Os heterófilos também apresentaram interação entre os fatores estudados, onde as maiores médias foram observadas nas codornas provenientes da manipulação térmica durante a incubação com temperatura 39,5°C e criadas em altas temperaturas ambientes e nas codornas criadas em situação de termoneutralidade, mas provenientes da temperatura de 37,8°C.

Considerando a temperatura de incubação verifica-se que ocorreu redução no número de linfócitos nas codornas provenientes da temperatura 39,5°C. Por outro lado, a redução foi observada nas codornas criadas em alta temperatura ambiente. Como esperado, estes eventos resultaram na menor média (31,75%) de linfócitos, observada na interação entre os fatores de temperatura de incubação e temperatura ambiente. Para relação heterófilo/linfócito houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os fatores, sendo que a maior média foi observada nas codornas provenientes da temperatura de incubação 39,5°C e criadas sobre estresse térmico por calor.

Aos 40 dias de idade para o fator temperatura ambiente as maiores médias em situação de estresse térmico por calor foram observadas nos leucócitos, heterófilos, eosinófilos e na relação heterófilo/linfócitos e a menor média foi observado para os linfócitos. Para o fator temperatura de incubação as maiores médias foram observadas nos leucócitos na temperatura de incubação 37,8°C, monócitos nas temperaturas 38,5 e 39,5°C e para relação heterófilo/linfócito com temperatura 38,5°C. Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente para as seguintes variáveis: leucócitos, heterófilos, linfócitos e relação heterófilo/linfócito, onde as maiores médias foram observadas nos leucócitos e linfócitos nas codornas oriundas da temperatura de incubação 37,8°C e criadas em situação de estresse térmico por calor, já para as variáveis heterófilo e relação heterófilo/linfócito as maiores médias foram observadas na temperatura de incubação 38,5°C e criadas em situação de estresse térmico por calor (Tab. 5).

Tabela 4. Leucócitos (Leu), Heterófilos (H), Linfócitos (L), Eosinófilos (E), Monócitos (M), Basófilos (B) e relação Heterófilo/Linfócitos (H/L) de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 30 dias de idade submetidas a manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Leucograma 30 dias		Leu ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	H (%)	L (%)	E (%)	M (%)	B (%)	H/L
Tratamentos	37,8/estresse	2.575,0	26,25 bB	63,25 aA	3,00	6,50	1,25 bB	0,45 bB
	38,5/estresse	2.875,0	32,00 aB	52,25 aB	2,75	7,00	1,00 bB	0,57 bB
	39,5/estresse	3.112,5	42,75 aA	31,75 bB	4,50	3,75	1,25 bB	1,35 aA
	37,8/termoneutro	2.687,5	37,25 aA	54,75 bA	2,75	4,25	1,25 bB	0,68 bB
	38,5/termoneutro	3.262,5	27,00 bB	62,75 aA	3,25	5,75	1,75 aA	0,44 bB
	39,5/termoneutro	2.706,2	22,00 bB	61,00 aA	2,25	8,00	0,75 bB	0,34 bB
TI	Padrão (37,8°C)	2.631,2	31,75	59,00 a	2,87	5,37	1,25	0,56 b
	Intermediária (38,5°C)	3.068,7	29,5	57,5 a	3,00	6,37	1,37	0,50 b
	Alta (39,5°C)	2.909,3	32,37	46,37 b	3,37	5,87	1,00	0,84 a
TA	Estresse	2.854,1	33,66	49,08 B	3,41	5,75	1,16	0,79 A
	Termoneutra	2.858,4	28,75	59,5 A	2,25	6,00	1,25	0,48 B
Probabilidade	TI	NS	NS	0.002	NS	NS	NS	0.015
	TA	NS	NS	0.010	NS	NS	NS	0.005
	TIxTA	NS	0.019	0.003	NS	NS	0.04	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

Em Leu (leucócitos), H (heterófilo), L (linfócito), E (eosinófilo), M (monócito), B (basófilo) e H/L (relação heterófilo/linfócito)

Tabela 5. Médias dos Leucócitos (Leu), Heterófilos (H), Linfócitos (L), Eosinófilos (E), Monócitos (M), Basófilos (B) e relação Heterófilo/Linfócitos (H/L) de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 40 dias de idade submetidas à manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Leucograma 40 dias		Leu( $\mu\text{L}^{-1}$ )	H(%)	L(%)	E(%)	M(%)	B(%)	H/L
Tratamentos	37,8/estresse	3.075,0 aA	36,00 bB	59,00 aA	3,25	1,50	0,75	0,61 bB
	38,5/estresse	2.000,0 bB	60,00 aA	30,00 bB	3,50	5,75	0,75	2,09 aA
	39,5/estresse	2.075,0 bB	36,25 bB	43,50 bB	3,75	6,25	1,00	0,93 bB
	37,8/termoneutro	1.775,0 bB	44,25 bB	45,75 bA	3,00	5,00	0,50	1,00 bB
	38,5/termoneutro	1.975,0 bB	28,00 bB	63,75 aA	1,75	6,75	1,00	0,46 bB
	39,5/termoneutro	2.000,0 bB	33,75 bB	51,50 abA	2,00	4,25	1,00	0,70 bB
TI	Padrão (37,8°C)	2.425,0 a	40,12	52,37	3,12	3,25 b	0,62	0,80 b
	Intermediária (38,5°C)	1.987,5 b	42,5	46,87	2,62	6,25 a	0,87	1,27 a
	Alta (39,5°C)	2.037,5 b	35,00	47,50	2,87	5,25 a	1,00	0,81 b
TA	Estresse	2.383,3 A	44,08 A	44,16 B	3,5 A	4,5	0,83	1,21 A
	Termoneutra	1.916,6 B	35,33 B	53,66 A	2,25 B	5,33	0,83	0,72 B
Probabilidade	TI	0.037	NS	NS	NS	0.041	NS	0.010
	TA	0.003	0.010	0.010	0.022	NS	NS	0.001
	TIxTA	0.002	<.0001	<.0001	NS	NS	NS	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

Em Leu (leucócitos), H (heterófilo), L (linfócito), E (eosinófilo), M (monócito), B (basófilo) e H/L (relação heterófilo/linfócito)

Não foram observadas ( $P>0,05$ ) diferenças entre os fatores temperatura de incubação, temperatura ambiente e interação entre os fatores no eritrograma e proteinograma de codornas japonesas aos 30 e 40 dias de idade (Tab. 6 e 7).

Tabela 6. Eritrograma de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 30 e 40 dias de idade submetidas à manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Eritrograma 30 dias		Ht (%)	He ( $\times 10^6$ )	Hb (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (%)
Tratamentos	37,8/estresse	40,50	3,23	13,14	125,75	32,00
	38,5/estresse	40,00	3,15	12,98	122,75	31,50
	39,5/estresse	39,75	3,35	12,81	125,50	31,25
	37,8/termoneutro	40,75	3,15	13,02	128,50	31,50
	38,5/termoneutro	36,00	2,85	11,61	130,25	31,50
	39,5/termoneutro	39,00	2,95	12,84	127,50	31,25
TI	Padrão (37,8°C)	40,62	3,19	13,08	127,12	31,75
	Intermediária (38,5°C)	38,00	3,00	12,29	126,50	31,50
	Alta (39,5°C)	39,37	3,15	12,82	126,50	31,25
TA	Estresse	40,08	3,24	12,97	124,66	31,58
	Termoneutra	38,58	2,98	12,49	128,75	31,41
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	NS	NS	NS
	TIXTA	NS	NS	NS	NS	NS
Eritrograma 40 dias		Ht (%)	He ( $\times 10^6$ )	Hb (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (%)
Tratamentos	37,8/estresse	43,00	3,23	13,14	133,00	32,00
	38,5/estresse	40,00	3,00	12,98	133,50	31,75
	39,5/estresse	42,25	3,23	12,81	133,00	32,00
	37,8/termoneutro	43,50	3,11	13,02	129,50	31,25
	38,5/termoneutro	42,00	3,40	11,61	127,50	31,25
	39,5/termoneutro	43,00	3,42	12,84	132,00	32,00
TI	Padrão (37,8°C)	43,25	3,17	13,08	131,25	31,62
	Intermediária (38,5°C)	41,00	3,20	12,29	130,05	31,50
	Alta (39,5°C)	42,62	3,32	12,82	132,50	32,00
TA	Estresse	41,75	3,15	12,97	133,16	31,91
	Termoneutra	42,83	3,31	12,49	129,66	31,50
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	NS	NS	NS
	TIXTA	NS	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas.

Em Ht (hematócrito), He (hemácia), Hb (hemoglobina), VCM (volume corpuscular médio) e CHCM (concentração da hemoglobina corpuscular média).



Tabela 7. Proteinograma de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 30 e 40 dias de idade submetidas à manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Proteinograma 30 dias		PT (g/dl)	Albumina (g/dl)	Globulina (g/dl)	A/G
Tratamentos	37,8/estresse	4,80	1,23	3,57	0,34
	38,5/estresse	4,85	1,25	3,60	0,34
	39,5/estresse	4,53	1,13	3,40	0,33
	37,8/termoneutro	4,00	1,03	2,97	0,34
	38,5/termoneutro	4,95	1,48	3,47	0,42
	39,5/termoneutro	5,25	1,33	3,92	0,33
TI	Padrão (37,8°C)	4,40	1,13	3,27	0,34
	Intermediária (38,5°C)	4,90	1,36	3,54	0,38
	Alta (39,5°C)	4,89	1,23	3,66	0,33
TA	Estresse	4,72	1,20	3,52	0,34
	Termoneutra	4,73	1,28	3,45	0,37
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	NS	NS
	TIXTA	NS	NS	NS	NS
Proteinograma 40 dias		PT (g/dl)	Albumina (g/dl)	Globulina (g/dl)	A/G
Tratamentos	37,8/estresse	5,05	1,25	3,80	0,32
	38,5/estresse	3,80	0,98	2,82	0,34
	39,5/estresse	4,30	1,23	3,07	0,40
	37,8/termoneutro	4,10	1,13	2,97	0,38
	38,5/termoneutro	4,20	1,03	3,17	0,32
	39,5/termoneutro	4,20	1,08	3,12	0,34
TI	Padrão (37,8°C)	4,57	1,19	3,38	0,35
	Intermediária (38,5°C)	4,00	1,00	2,99	0,33
	Alta (39,5°C)	4,25	1,15	3,09	0,37
TA	Estresse	4,38	1,15	3,23	0,35
	Termoneutra	4,16	1,08	3,08	0,35
Probabilidade	TI	NS	NS	NS	NS
	TA	NS	NS	NS	NS
	TIXTA	NS	NS	NS	NS

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIXTA= Interação entre as temperaturas. Em PT (proteínas totais).

Área dos folículos bursais de codornas japonesas encontram-se no (Tab. 8). Para o fator temperatura ambiente aos 20, 30 e 40 dias de idade as maiores médias ( $P < 0,05$ ) foram observadas nas codornas criadas em situação de termoneutralidade. Para o fator temperatura de incubação as maiores médias foram encontradas nas temperaturas 37,8 e 39,5°C. Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre a temperatura de incubação e temperatura ambiente, onde o pior resultado foi observado nas codornas provenientes da temperatura de incubação 38,5° criadas em situação de estresse térmico por calor.

Tabela 8. Área dos folículos bursais ( $\mu\text{m}^2$ ) de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade submetidas à manipulação térmica durante e após eclosão. Cada valor representa a média de 4 observações.

Área dos folículos bursais ( $\mu\text{m}^2$ )		10	20	30	40
Tratamentos	37,8/estresse	45763,99	50234,21 bB	37085,91 bB	40968,46 bB
	38,5/estresse	41652,02	47617,48 cB	34662,52 cB	38708,36 cB
	39,5/estresse	40602,58	51145,72 bB	37386,59 bB	40905,89 bB
	37,8/termoneutro	45999,38	63099,59 aA	48815,32 aA	41920,46 aA
	38,5/termoneutro	42692,36	62005,94 aA	41539,23 bB	37842,70 cB
	39,5/termoneutro	45042,58	63208,15 aA	52774,05 aA	42520,39 aA
TI	Padrão (37,8°C)	45878,68	56666,90 a	42950,61 a	41444,46 a
	Intermediária (38,5°C)	42172,19	54811,71 b	38100,87 b	38275,53 b
	Alta (39,5°C)	42822,58	57176,93 a	45080,32 a	41713,14 a
TA	Estresse	42672,86	49665,80 B	36378,34 B	40194,23 B
	Termoneutra	44576,10	62771,11 A	47709,53 A	40761,18 A
Probabilidade	TI	NS	<.0001	<.0001	<.0001
	TA	NS	<.0001	<.0001	0.016
	TIXTA	NS	0.012	0.003	<.0001

A-B (temperatura ambiente); a-c (temperatura de incubação) indicam que as médias na mesma coluna são diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), NS não significativo.

TI= Temperatura de incubação; TA= Temperatura ambiente e TIxTA= Interação entre as temperaturas

## DISCUSSÃO

É sabido que o estresse térmico por calor é prejudicial para codornas. Em situação de estresse por calor, ocorrem alterações neuroendócrinas na tentativa do animal restabelecer a homeotermia. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal inicia a resposta por meio do hormônio liberador de corticotropina (CRH), que estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) pela adenohipófise. Este se liga aos seus receptores na região cortical da glândula adrenal, estimulando a secreção dos glicocorticóides. O aumento da secreção da corticosterona assim como de outros mediadores como as catecolaminas e citocinas, é necessária para auxiliar as codornas a superar a situação de estresse (Calefi *et al.*, 2017). No entanto, durante o estresse térmico por calor crônico o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é estimulado de forma contínua mantendo os níveis de corticosterona sempre altos, desta forma, intensificam-se o catabolismo protéico, hiperglicemia, mobilização do tecido adiposo e deposição na cavidade celômica, imunossupressão e aumento da susceptibilidade a infecções (Mehaisen *et al.*, 2017).

No presente estudo o estresse térmico por calor reduziu o peso da bolsa cloacal e área dos folículos bursais a partir do 20 dias de idade, sendo indicativo de depleção linfocitária. Estes resultados sugerem que agentes estressores e níveis elevados de corticosterona têm efeito negativo sobre os órgãos linfóides, promovendo atrofia e

regressão dos mesmos. Esses resultados corroboram Safdari-Rostamabad *et al.* (2016) no qual o aumento de 1°C acima da zona de conforto térmico entre o período de 29 aos 42 dias de idade em frangos de corte reduziu o peso da bolsa cloacal, timo e a produção de anticorpos. Akbar & Qureshi (2012), estudando o efeito da estação do ano sobre morfometria da bolsa cloacal de codornas japonesas com 140 semanas de idade, observaram que durante o verão ocorre redução significativa no peso, comprimento, espessura, largura e área dos folículos bursais. Resultados semelhantes foram observados por Ali *et al.* (2015) ao estudar o efeito das estações do ano sobre os parâmetros morfométricos da galinha-d'angola. Segundo Borges *et al.* (2004) aves criadas em ambientes com altas temperaturas causam atrofia do timo, baço e bolsa cloacal e com isso ocorre uma redução no número de linfócitos circulantes. Desta forma a redução do peso dos órgãos linfóides é um bom indicativo para identificar estresse térmico em aves.

Resultados diferentes aos observados no presente estudo foram relatados por Rouhalamini *et al.* (2014), em que o estresse térmico por calor em codornas japonesas não reduziu o peso da bolsa cloacal, timo e baço. Os autores atribuem este fato a suplementação na dieta com zinco e cromo, a qual pode reverter os efeitos negativos do estresse térmico por calor ao sistema imune. Este fato deve-se à redução dos radicais livres liberados pelo aumento dos níveis circulantes de corticosterona em situação de estresse.

Para tentar reverter os efeitos deletérios da alta temperatura ambiente na bolsa cloacal é necessário conhecer o desenvolvimento e morfologia do referido órgão. A bolsa cloacal é um órgão linfóide presente apenas em aves, responsável pela proliferação e maturação dos linfócitos B e consequentemente na produção de anticorpos, apresenta grande importância na imunidade humoral e memória imunológica das codornas. No 7º dia no embrião de codorna, a bolsa cloacal é uma cavidade aberta revestida por tecido epitelial que se comunica com cavidade amniótica, já no 9º dia é possível observar a presença de vários vasos sanguíneos e a presença de células de origem hemopoiéticas no mesênquima bursal, e no 11º dia as células se organizam em cordões e já é possível observar a presença de linfócitos B. No entanto, no momento da eclosão, a região cortical ainda não está definida. A bolsa cloacal em codornas jovens é um órgão cilíndrico localizado dorsalmente à cloaca, com 6 a 8 mm de comprimento e 3 a 4 mm de espessura, formado por seis a oito invaginações repletas de folículos bursais; o lúmen é revestido por epitélio simples cúbico a colunar. Cada folículo apresenta um

córtex repleto de pequenos linfócitos compactados e células reticulares, sendo separado da medula por uma membrana basal, no entanto, esta não é contínua como observada em galinhas. A região medular é rica em células estreladas que formam uma rede que é vagamente preenchida por linfócitos pequenos, médios e grandes. Cada folículo bursal é separado por tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos (Nag *et al.*, 2004).

Foi relatado que expor os embriões a altas temperaturas durante a incubação melhora sua capacidade de se adaptar a ambientes quentes após eclosão. É sugerido que a manipulação térmica durante a incubação deve coincidir com o desenvolvimento do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, desta forma as aves conseguem alterar a produção do calor metabólico e controlar a resposta em situação de estresse após eclosão (Piestun *et al.*, 2009).

A manipulação térmica durante a incubação não influenciou o peso da bolsa cloacal, no entanto, a partir dos 20 dias de idade, as codornas provenientes da temperatura de incubação padrão 37,8°C e da manipulação térmica com temperatura 39,5°C apresentaram as maiores médias para área dos folículos bursais, tanto nas codornas criadas em temperatura ambiente alta e termoneutra. Estes resultados podem caracterizar adaptação térmica epigenética, nas codornas submetidas altas temperatura após eclosão. Resultados semelhantes foram observados por Leandro *et al.* (2017) em que a manipulação da temperatura de incubação com 39,5°C por 6 horas no período de 10 a 18 dias de incubação, refletiu em um aumento da área dos folículos bursais após eclosão em frangos de corte, independente da idade da matriz. De acordo com Loyau *et al.* (2016) a manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 39,5°C por 12 horas, aumenta a expressão de genes anti-apoptóticos preservando a integridade das células durante um desafio térmico após eclosão em frangos de corte. Segundo Zimer *et al.* (2017) o aumento dos níveis circulantes de corticosterona no embrião de codornas japonesas, promove alterações comportamentais e fisiológicas, tornando-as mais hábil em responder aos desafios térmicos durante sua vida e essas adaptações são transmitidas para seus descendentes até a terceira geração. Para estes autores essas adaptações estão relacionadas ao aumento da expressão de receptores para corticosterona no hipotálamo e na hipófise, e desta forma em situações de estresse, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é regulado de forma mais eficiente, diminuindo os danos provocados pela corticosterona no sistema imune.

Resultados diferentes foram observados por Oznurlu *et al.* (2010) que relataram o aumento da temperatura de incubação para 38,5°C por 24 horas do 10º dia de

incubação até eclosão em frangos de corte retardou o desenvolvimento do timo e da bolsa cloacal durante a incubação e após eclosão em comparação as aves incubadas na temperatura padrão. No presente estudo a área dos folículos bursais das codornas provenientes da temperatura de incubação 38,5°C foram reduzidas, após a eclosão tanto nas codornas submetidas ao estresse térmico como nas mantidas em situação de termoneutralidade. Abuoghaba (2016) observou que a temperatura de incubação de 40°C reduziu o peso da bolsa cloacal após eclosão e aos 42 dias de idade em frangos de corte. As diferenças encontradas nos resultados do presente estudo com a literatura podem estar associadas ao período de incubação, intensidade da exposição ao calor e espécie de ave estudada.

A partir dos resultados obtidos, o estresse térmico por calor aos 20 e 30 dias reduz o peso absoluto do fígado. É possível que a redução do fígado seja um mecanismo de controle da temperatura interna, uma vez, que este órgão possui alta taxa metabólica e conseqüente alta produção de calor. Além, da menor deposição de glicogênio. Segundo Mohamed *et al.* (2015) o estresse térmico por calor em codornas provoca necrose dos hepatócitos e esteatose hepática, isto é um reflexo da ação da corticosterona, o que intensifica a lipólise do tecido adiposo subcutâneo e estimula lipogênese nos órgãos da cavidade abdominal sobrecarregando o fígado, no entanto, para diminuir os efeitos deletérios no fígado foi feita suplementação de extrato de alho na dieta.

De acordo com Berrama *et al.* (2018), as proteínas plasmáticas do sangue desempenham um papel importante na homeostase, por isso, os parâmetros bioquímicos são frequentemente utilizados para avaliar a tolerância ao calor em aves. No entanto, no presente estudo não foram observadas diferenças nas concentrações das proteínas totais, albumina, globulinas e relação albumina/globulina aos 30 e 40 dias de idade. Resultados semelhantes foram observados por El-Kholy *et al.* (2017) em que o aumento da temperatura não alterou os valores da bioquímica sérica em codornas japonesas, no entanto, diferente dos resultados observados no presente o peso do fígado não foi alterado. Este resultado é consistente com observado por Berrama *et al.* (2018) em frangos de corte, na qual a concentração de proteínas plasmáticas totais não se alterou no sangue em aves criadas sob temperaturas quentes no verão, independente se aves passaram ou não pelo condicionamento térmico aos 5 dias de idade.

Segundo Safdari-Rostamabad *et al.* (2016), o estresse térmico por calor em frangos de corte reduziu o peso do fígado e a concentração de proteínas totais. Os

autores atribuem esse fato a redução no consumo de proteína e digestibilidade em condições de estresse térmico. Nazar *et al.* (2018a) observou redução nas proteínas totais e globulinas em codornas submetidas ao estresse térmico por calor por 9 dias, por um período de 2 horas ao dia. No entanto, não observou diferença para albumina. Segundo os autores, além de transportar hormônios, proteínas e lipídios, outra função desempenhada pela albumina é função antioxidante, sendo extremamente importante em situações de estresse, onde ocorre o aumento dos radicais livres. Outro estudo realizado por Nazar *et al.* (2018b) submeteu codornas japonesas ao estresse térmico por calor durante 9 dias, aumentando a temperatura de 24°C para 34°C durante as horas mais quentes do dia, seguido de um período de recuperação de 12 dias. Os autores não observaram diferença na concentração de proteínas totais e globulinas no período de estresse e no período de recuperação.

Para o fator temperatura de incubação, não foi observada diferença no peso do fígado e nos parâmetros bioquímicos. Resultados diferentes foram encontrados por Abuoghaba (2016) onde o aumento da temperatura de incubação para 40°C por três horas entre 6° ao 8° dia de incubação de frangos reduziu o peso do fígado. No entanto, Sgavioli *et al.* (2015) observou que frangos derivados da temperatura de incubação 39,0°C apresentam maior peso absoluto e relativo de fígado em comparação aqueles incubados em temperatura padrão. Segundo os autores o maior desenvolvimento hepático parece ser e resposta adaptativa relacionada com o aumento da taxa do metabolismo embrionário induzida pela temperatura de incubação quente.

Em situação de estresse ocorrem alterações no leucograma das aves, onde os principais parâmetros afetados são aumento no número de heterófilos, redução dos linfócitos, a qual resulta no aumento da relação heterófilo/linfócito. De acordo com Davis *et al.* (2008), a relação heterófilo:linfócito (H/L) é considerada o indicador mais sensível de estresse em aves do que os níveis plasmáticos de glicocorticóide. No presente estudo foram observados linfopenia e aumento da relação heterófilo/linfócito aos 30 dias e heterofilia, linfopenia e aumento da relação heterófilo/linfócito aos 40 dias de idade. Além disso, também foi relatado aumento no número de leucócitos, o que provavelmente não estava relacionado à doença clínica. Uma das respostas fisiológicas do estresse térmico é o aumento dos níveis circulante da corticosterona, a qual promove redistribuição dos linfócitos do sangue para os órgãos linfóides, produzindo consequentemente a linfopenia. Gross & Siegel (1993) sugerem uma escala do nível de estresse em aves de acordo com os valores da relação heterófilo/linfócito, nessa

classificação, o valor 0,2 indicaria grau leve de estresse, 0,5 estresse moderado e 0,8 estresse alto. No presente estudo em situação de termoneutra a relação H/L foi de 0,48 e 0,72 e em situação de estresse térmico por calor de 0,79 e 1,21 aos 30 e 40 dias respectivamente. De acordo com a classificação de Gross & Siegel (1993) as codornas mesmo em situação de termoneutralidade ainda apresentam uma situação de estresse moderado.

Corroborando o presente estudo Chand *et al.* (2014) encontrou diminuição dos leucócitos totais, linfócitos e monócitos em frangos submetidos aos estresse térmico cíclico por calor, no entanto, o efeito imunossupressor foi revertido quando as aves foram suplementadas com ácido ascórbico. Rosa *et al.* (2011) avaliaram o efeito do aumento da temperatura em ciclo consecutivos de produção de ovos em codornas japonesas e encontraram o valor de 2,4 da relação H/L em temperatura de 25,5°C, sendo considerado como estresse térmico severo. Nazar *et al.* (2018b) observaram que estresse térmico por calor em codornas japonesas aumentou de forma linear a relação H/L até o 9º dia em situação de estresse e que após as codornas retornarem para a situação de termoneutralidade foi necessário o período de 9º dias para que a relação H/L retornasse para os valores normais. Segundo Nazar *et al.* (2018a), a suplementação com timol na dieta de codornas japonesas submetidas aos estresse térmico por calor influencia de forma positiva na relação H/L, cujos valores são semelhantes aos observados nas codornas em situação de termoneutralidade. Os autores sugerem que essa melhora na relação H/L em situação de estresse é devido ação antioxidante e imunoestimulante do timol.

A manipulação térmica durante a incubação com temperatura 39,5°C desencadeou linfopenia e aumento da relação heterófilo/linfócito aos 30 dias após eclosão. Já a temperatura de 38,5°C promoveu diminuição dos leucócitos, aumento dos monócitos e da relação heterófilo/linfócitos aos 40 dias após eclosão. Segundo Oznuurlu *et al.* (2010) a relação H/L durante o desenvolvimento embrionário é maior do que após eclosão independente da temperatura 37,8°C (padrão) e 38,8°C (alta) de incubação. No entanto, após eclosão, a relação H/L é maior nos frangos provenientes da manipulação térmica com temperatura de 38,5°C. O aumento da temperatura de incubação durante um período prolongado pode causar problemas imunológicos e deixar as aves mais susceptíveis a ação de patógenos após eclosão. Abuoghaba (2016) relatou porcentagens de heterófilos e a relação H/L maiores, enquanto as porcentagens de linfócitos foram menores nos pintos produzidos a partir de ovos expostos a alta temperatura durante o

período de incubação. No entanto, a contagem total de leucócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos não foram afetadas pela temperatura de incubação. Segundo Al-Rukibat *et al.* (2016), a manipulação térmica durante a incubação com as temperaturas de 38,5 e 40,4°C, não foram capazes de aumentar a capacidade de termotolerância de frangos submetidos ao desafio térmico por calor aos 42 dias, onde a relação H/L foi maior nos frangos oriundos da manipulação em comparação ao controle.

Variações na temperatura ambiente podem resultar em alterações no sistema cardiocirculatório. Segundo Yahav *et al.* (1997), quando a temperatura ambiente está baixa, a demanda de oxigênio pelo organismo aumenta, para aumentar a produção de calor metabólico. Desta forma, a pressão parcial do oxigênio baixa estimula a eritropoiese, promovendo aumento dos valores hematológicos. No entanto, quando ocorre o aumento da temperatura ambiente, desencadeia a perda de calor evaporativo, através do aumento da frequência respiratória, para isso é necessário que ocorra expansão do volume sanguíneo, essa alteração na volemia resulta em redução no hematócrito e nas hemácias.

Os dados do hematócrito, hemácias, hemoglobina, VCM e CHCM do presente estudo não foram influenciados pela temperatura de incubação e pela temperatura ambiente. Resultados semelhantes foram observados Al-Rukibat *et al.* (2016), de tal forma que o valor do hematócrito não foi alterado pela manipulação térmica durante a incubação, quando os frangos foram desafiados termicamente ao 42 dias de idade em comparação ao controle. Esses resultados diferem dos observados por Abuoghaba (2016) que relatou que o aumento da temperatura de incubação reduziu a concentração do hematócrito e quantidade de hemácias em frangos de corte. Berrama *et al.* (2018) observaram que o condicionamento térmico precoce aos 5 dias de idade em frangos de corte altera os parâmetros sanguíneos de aves desafiadas termicamente na vida adulta promovendo aumento no hematócrito, número de hemácias circulantes e leve aumento na concentração de hemoglobina. Os autores sugerem que o aumento desses parâmetros poderia ser uma resposta adaptativa ao condicionamento térmico precoce, o que possibilita uma eventual redução da depressão na eritropoiese causada pelo estresse térmico.

No estudo realizado por Rosa *et al.* (2011) as codornas japonesas submetidas ao estresse por calor reduziram o valor do hematócrito, no entanto, o estresse não alterou os valores das hemácias. Já Mohamed *et al.* (2015) encontrou valores reduzidos de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM) e concentração



da hemoglobina corpuscular média (CHCM) em codornas japonesas, submetidas ao estresse por calor. El-Kholy *et al.* (2017) observaram redução nos valores do hematócrito e da hemoglobina em codornas submetidas a temperatura ambiente de 33°C. Segundo os autores a redução desses parâmetros ocorre pela alteração na volemia na tentativa de manter a homeotermia.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam redução no peso absoluto do coração a partir dos 20 dias de idade e peso relativo a partir dos 30 dias, nas codornas submetidas ao estresse térmico por calor. A manipulação térmica durante a incubação com temperatura 39,5°C reduziu o peso do coração aos 30 dias. Resultados semelhantes foram observados Sgavioli *et al.* (2015) em que a temperatura de 39,0°C reduziu o peso do coração. Segundo os autores a hipoplasia do coração pode causar déficit cardíaco e comprometer o desenvolvimento do pintinho, resultando no surgimento de ascite durante o período de crescimento. Resultados diferente foram relatados por Safdari-Rostamabad *et al.* (2016), pois a alta temperatura ambiente aumentou o peso do coração de frangos de corte, no entanto, quando as aves foram suplementadas com selênio reduziu o peso, eles atribuem este fato ao efeito cardioprotetor do selênio.

## CONCLUSÕES

O estresse térmico por calor em codornas japonesas causa depleção de linfócitos, no qual, reduz o peso e área dos folículos bursais a partir dos 20 dias de idade, além de desencadear heterofilia, linfopenia e redução do fígado e coração.

## REFERÊNCIAS

ABUOGHABA, A.A. Impact of spraying incubated eggs submitted to high temperature with ascorbic acid on embryonic development, hatchability, and some physiological responses of hatched chicks. *Can. J. Anim Sci.* v.97, n.2, p.172-182, 2016.

ALKAN, S.; KARSLI, T.; KARABAG, K. et al. The effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on hatchability, hatching weight and body weight in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Arch Tierz.* v.56, n.1, p.789-796, 2013.

ALI, M.Z.; QURESHI, A.S.; REHAN, S. et al. Seasonal variations in histomorphology of testes and bursa, immune parameters and serum testosterone concentration in male guinea fowl (*Numida meleagris*). *Pak. Vet. J.* v.35, n.1, p.88-92, 2015.

AL-RUKIBAT, R.K.; AL-ZGHOUL, M.B.; HANANEH, W.M. et al. Thermal manipulation during late embryogenesis: Effect on body weight and temperature, thyroid hormones, and differential white blood cell counts in broiler chickens. *Poult. Sci.* v.96, n.1, p.234-240, 2016.

AKBAR, Z & QURESHI, A.S. Effects of Seasonal Variation in Different Reproductive Phases on the Cellular Response of Bursa and Testes in Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Pakistan. Pak Vet J.* v.32, n.4, p.525-529, 2012.

BERRAMA, Z.; TEMIM, S.; DJELLOUT, B. et al. The effects of early age thermal conditioning and vinegar supplementation of drinking water on physiological responses of female and male broiler chickens reared under summer Mediterranean temperatures. *Int. J. Biometeorol.* v.62, n.6, p.1039-1048, 2018.

BORGES, S.A.; FISCHER, DA SILVA, A.V.; MAJORKA, A. et al. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). *Poult. Sci.* v.83, n.9, p.1551-1558, 2004.

CALEFI, A.S.; QUINTEIRO-FILHO, W.M.; FERREIRA, A.J.P. et al. Neuroimmunomodulation and heat stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.* v.73, n.3, p.493-504, 2017.

CHAND, N.; NAZ, S.; KHAN, A. et al. Performance traits and immune response of broiler chicks treated with zinc and ascorbic acid supplementation during cyclic heat stress. *Int. J. Biometeorol.* v.58, n.10, p.2153-2157, 2014.

DAVIS, A.K.; MANEY, D.L.; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* v.22, n.5, p.760-772, 2008.

EBRAHIMZADEH, S.K.; FARHOOMAND, P.; NOORI, K. Immune response of broiler chickens fed diets supplemented with different level of chromium methionine under heat stress conditions. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* v.25, n.2, p.256, 2012.

EL-KHOLY, M.S.; EL-HINDAWY, M.M.; ALAGAWANY, M. et al. Dietary supplementation of chromium can alleviate negative impacts of heat stress on performance, carcass yield, and some blood hematology and chemistry indices of growing Japanese quail. *Biol. Trace Elem. Res.* v.179, n.1, p.148-157, 2017.

EL-TARABANY, M.S. Impact of temperature-humidity index on egg-laying characteristics and related stress and immunity parameters of Japanese quails. *Int. J. Biometeorol.* v.60, n.7, p.957-964, 2016.

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

KAMEL, N.N.; AHMED, A.M.; MEHAISEN, G.M. et al. Depression of leukocyte protein synthesis, immune function and growth performance induced by high environmental temperature in broiler chickens. *Int. J. Biometeorol.* v.61, n.9, p.1637-1645, 2017.

LEANDRO, N.S.M.; GOMES, N.A.; CAFÉ, M.B. et al. Morphological measurements of lymphoid tissues and intestinal development of chicks from different breeder ages and hatched under heat stress. *Cienc. Anim. Brás.* v.18, p.1-11, 2017.

LOYAU, T.; HENNEQUET-ANTIER, C.; COUSTHAM, V. et al. Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge. *BMC Genomics.* v.17, n.1, p.329-344, 2016.

MEHAISEN, G.M.; IBRAHIM, R.M.; DESOKY, A.A. et al. The importance of propolis in alleviating the negative physiological effects of heat stress in quail chicks. *PloS One*, v.12, n.10, p.e0186907, 2017.

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

NAGY, N.; MAGYAR, A.; TÓTH M. et al. Quail as the chimeric counterpart of the chicken: morphology and ontogeny of the bursa of Fabricius. *J Morphol.* v.259, n.3, p.328-339, 2004.

NAZAR, F.N.; VIDELA, E.A.; MARIN, R.H. Thymol supplementation effects on adrenocortical, immune and biochemical variables recovery in Japanese quail after exposure to chronic heat stress. *Animl.* v.9, p.1-8, 2018a.

NAZAR, F.N.; VIDELA, E.A.; FERNANDEZ, M.E. et al. Insights into thermal stress in Japanese quail (*Coturnix coturnix*): dynamics of immunoendocrine and biochemical responses during and after chronic exposure. *Stress.* v.21, n.3, p.257-266, 2018b.

OZNURLU, Y.; CELIK, I.; TELATAR, T. et al. Histochemical and histological evaluations of the effects of high incubation temperature on embryonic development of thymus and bursa of Fabricius in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* v.51, n.1, p.43-51, 2010.

PIESTUN, Y.; HALEVY, O.; YAHAV, S. Thermal manipulations of broiler embryos—The effect on thermoregulation and development during embryogenesis. *Poult. Sci.* v.88, n.12, p.2677-2688, 2009.

ROSA, G.A.; SORBELLO, L.A.; DITTRICH, R.L. et al. Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. *Ciênc Rural.* v.41, n.9, p.1605-1610, 2011.

ROSTAGNO, H.S. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed, Universidade Federal de Vicosa. p.186, 2011.

ROUHALAMINI, S.M.; SALARMOINI, M.; GH, A.K. Effect of zinc sulfate and organic chromium supplementation on the performance, meat quality and immune response of Japanese quails under heat stress conditions. *Poult. Sci. J.* v.2, n.2, p.165-181, 2014.

SAFDARI-ROSTAMABAD, M.; HOSSEINI-VASHAN, S.J.; PERAI, A.H. et al. Nanoselenium supplementation of heat-stressed broilers: effects on performance, carcass characteristics, blood metabolites, immune response, antioxidant status, and jejunal morphology. *Biol Trace Elem Res.* v.178, n.1, p.105-116, 2016.

SGAVIOLI, S.; MATOS, JÚNIOR J.B.; BORGES, L.L. et al. Effects of ascorbic acid injection in incubated eggs submitted to heat stress on incubation parameters and chick quality. *Revista. Bras. Ciênc. Avíc.* v.17, n.2, p.181-189, 2015.

YAHAV, S.; SHAMAY, A.; HOREV, G. et al. Effect of acquisition of improved thermotolerance on the induction of heat shock proteins in broiler chickens. *Poult. Sci.* v.76, n.10, p.1428-1434, 1997.

ZIMMER, C.; LARRIVA, M.; BOOGERT, N.J. et al. Transgenerational transmission of a stress-coping phenotype programmed by early-life stress in the Japanese quail. *Sci Rep.* v.7, p.46125. 2017.