

ELISA SIALINO MÜLLER

**PERFIL ENZIMÁTICO DA α -AMILASE E DA LIPASE E BIOMETRIA DE
ÓRGÃOS DE CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*) DE UM A 25 DIAS
DE IDADE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa como
parte das exigências do Programa de
Pós – Graduação em Bioquímica
Agrícola para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M958p
2006

Müller, Elisa Sialino, 1977-

Perfil enzimático da α -amilase e da lipase e biometria de órgãos de codornas (*Coturnix coturnix japonica*) de um a 25 dias de idade / Elisa Sialino Müller. – Viçosa : UFV, 2006.

ix, 41f. : il. ; 29cm.

Orientador: George Henrique Kling de Moraes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 33-41.

1. Enzimas digestivas - Análise. 2. Amilase. 3. Lipase.
4. Nutrição animal. 5. Codorna - Nutrição. 6. Biometria.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 572.79341

ELISA SIALINO MÜLLER

**PERFIL ENZIMÁTICO DA α -AMILASE E DA LIPASE E BIOMETRIA DE
ÓRGÃOS DE CODORNAS (*Coturnix coturnix japonica*) DE UM A 25 DIAS
DE IDADE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa como
parte das exigências do Programa de
Pós – Graduação em Bioquímica
Agrícola para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 29 de setembro de 2006

Prof. Paulo Roberto Cecon
(Co-orientador)

Prof^a. Ana Cláudia Peres Rodrigues

Prof^a. Valéria Monteze Guimarães

Prof. Luiz Fernando Teixeira Albino

Prof. George Henrique Kling de Moraes
(Orientador)

Dedico este trabalho a
minha filha Valkíria,
razão de viver.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de participar do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola.

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

Ao professor George Henrique Kling de Moraes, pela amizade, apoio e orientação.

Aos professores Sérgio Luiz de Toledo Barreto e Paulo Roberto Cecon pelo apoio técnico.

Aos amigos do laboratório, Anderson de Almeida Barbosa, Patrícia A. Fontes Vieira, Denise Torres e Jefferson Dias, pelos bons momentos de convivência, (muita) amizade e apoio, uma verdadeira equipe de trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, especialmente ao Sr. Geraldo Dias, Eduardo Monteiro e Reginaldo Barbosa.

À aluna do curso de Doutorado em Zootecnia Regina Tié Umigi pelo apoio nos trabalhos realizados.

À minha família, por estar sempre presente em todos os momentos, em especial a Patrick, Iago, Bruno, Luca, Leonardo e Valkíria por darem “pitadas” de alegria sempre.

Ao Leandro pelo amor, amizade, carinho e paciência em tantos momentos.

A todos os amigos, professores e funcionários que por acaso tenha me esquecido de mencionar, mas que serei eternamente grata pela convivência e colaboração.

BIOGRAFIA

Elisa Sialino Müller, filha de Antística Sialino Müller e Roberto Andrea Müller, nascida em 29 de maio de 1977 na cidade de São Paulo, São Paulo.

Em fevereiro de 1998 iniciou o curso de Ciência e Tecnologia de Laticínios na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, colando grau em maio de 2002.

Em março de 2005 iniciou o curso de pós-graduação de Bioquímica Agrícola, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de tese no dia 02 de outubro de 2006.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 - α -amilase	4
2.2 – Lipase	5
2.3 - Desenvolvimento do aparelho digestivo	6
2.4 - Desenvolvimento enzimático	9
3 – MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 – Criação e manejo	12
3.2 - Delineamento experimental	13
3.3 - Ganho de peso	14
3.4 – Coleta e biometria	14
3.5 – Preparo das amostras	14
3.5 - Determinação da atividade de α -amilase	14
3.6 - Determinação da atividade de lipase	15
3.7 – Determinação de proteína solúvel total	15
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1 – Biometria dos órgãos	16
4.2 – Atividade de α -amilase	20
4.3 – Atividade de lipase	25
5 – CONCLUSÕES	32
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

RESUMO

MÜLLER, Elisa Sialino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2006. **Perfil enzimático da α -amilase e da lipase e biometria de órgãos de codornas (*Coturnix coturnix japonica*) de um a 25 dias de idade.** Orientador: George Henrique Kling de Moraes. Co-orientadores: Sérgio Luiz de Toledo Barreto, Paulo Roberto Cecon e Tânia Toledo de Oliveira.

Foi realizado um experimento com o objetivo de determinar o perfil das enzimas α -amilase e lipase e a biometria de órgãos de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix japonica*) de um a 25 dias de idade. Avaliou-se o peso vivo das aves, e os pesos do pâncreas, do coração, da moela e do fígado bem como a atividade enzimática da α -amilase e da lipase no pâncreas e no quimo. Foram utilizadas 90 codornas japonesas fêmeas com um dia de idade, sendo 30 codornas por boxe forrados com maravalha. As aves foram tratadas com rações balanceadas segundo as exigências nutricionais. Ração e água foram fornecidas à vontade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis idades de avaliação e cinco repetições, sendo cada animal uma unidade experimental. Aos 1, 5, 10, 15, 20 e 25 dias de idade, cinco animais de cada idade foram sacrificados por deslocamento cervical. O pâncreas e o quimo foram coletados, pesados, congelados em nitrogênio líquido e acondicionados sob refrigeração a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma alíquota dos tecidos foi coletada, homogeneizada com água destilada para a determinação das atividades da α -amilase e da lipase no homogenato com *kit* colorimétrico. A concentração de proteína foi determinada pelo método de Lowry. O peso vivo apresentou-se de forma linear crescente com a idade, indicando que os níveis dos nutrientes da dieta foram adequados para o desempenho dos animais. A

biometria dos órgãos apresentou tendência de crescimento linear, mas quando comparado ao peso vivo, houve um comportamento alométrico do crescimento do pâncreas, do primeiro ao quinto dia. Os perfis das enzimas amilase e lipase do pâncreas e do quimo foram estabelecidos por modelos que explicam o comportamento observado no período. A atividade da amilase pancreática foi responsiva ao estímulo da dieta, e a lipase pancreática demonstrou uma diminuição na atividade nos primeiros dias e se manteve em níveis mais baixos no decorrer das outras idades.

ABSTRACT

MÜLLER, Elisa Sialino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2006. **α -amilase and lipase enzymatic profile and biometry of quail (*Coturnix coturnix japonica*) organs from one to 25 days of age.** Adviser: George Henrique Kling de Moraes. Co-advisers: Sérgio Luiz de Toledo Barreto, Paulo Roberto Cecon and Tânia Toledo de Oliveira.

An experiment was conducted in order to determine the enzymatic profile of α -amylase e lipase and biometry of quail (*Coturnix coturnix japonica*) organs from one to 25 days of age. Body quail, pancreas, heart, gizzard, liver weight and pancreas and chyme activities of α -amylase and lipase were measured. Ninety Japanese quail, day old, female, were used distributed in three box covered with wood shave. The quails were fed with diets in accordance with their nutritional requirements and water *ad libitum*. A completely randomized experimental design was used with six ages, five replicates and one quail per experimental unit. At one, five, ten, 15, 20 and 25 days of age, five quails from each age were sacrificed by cervical dislocation. Pancreas and chyme were collected, weighed, frozen with liquid nitrogen and storage at -20 °C. An aliquot from each tissue was collected, homogenized with distilled water, centrifuged at 3500 rpm for 10 minutes and α -amylase and lipase activities were determined in the supernatants with a specific kit. Protein levels were determined by the Lowry method. Quail body weights showed a linear response with age due to the levels of nutrients were adequate for the performance of the animals. Organ growth also showed a tendency to linear response with age. Pancreas from one to five days of age showed an allometric growth in relation to the body weight. Enzymatic profiles were established by statistical models. Pancreatic amylase

activity responds to dietary stimulus. Pancreatic lipase activities showed a reduction with age.

1 – INTRODUÇÃO

A avicultura vem se consolidando como um importante setor da economia devido aos vários avanços em genética, nutrição, manejo e sanidade, contribuindo para melhorar a qualidade do produto e diminuir o custo de produção (Araújo, 2002). Isso aumenta a competitividade, principalmente no comércio internacional, tendo o Brasil alcançado o primeiro lugar no ranking mundial como exportador de carne de frango (AviSite, 2006).

A coturnicultura era considerada uma atividade alternativa para pequenos produtores, mas em função do potencial dessas aves para a produção de ovos e da possibilidade de diversificação para comercialização de carne, a exploração comercial de codornas tem crescido, estando em contínua expansão. A espécie mais difundida no Brasil é a *Coturnix coturnix japonica*, usada principalmente para produção de ovos, sendo que a sua carne é comercializada apenas ao término da postura. Todavia, a qualidade da carne não satisfaz plenamente as exigências de mercado e as carcaças são muito pequenas variando de 70 a 130 gramas.

Recentemente, a espécie *Coturnix coturnix coturnix*, também chamada de codorna Européia, está sendo criada para postura e abate. Apesar de fenotipicamente serem bastante semelhantes, as codornas européias são maiores (200 a 300g), possuem temperamento mais calmo, produzem ovos ligeiramente maiores embora sua maturidade sexual seja praticamente a mesma da codorna de postura japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) (Rezende et al, 2004).

São vários os fatores que têm contribuído para o aumento da criação de codornas, entre eles se destacam: rápido crescimento, precocidade na maturidade sexual (35 a 42 dias), alta produtividade (média de 300 ovos/ano), pequenos espaços para criação, grande longevidade em alta produção (14 a 18 meses), baixo investimento e, conseqüentemente, rápido retorno financeiro (Oliveira et al., 2002; Pinto et al, 2002).

Com a redução do tempo de abate para aves de corte, a primeira semana de vida passou a representar um período muito importante (Nitsan et al, 1991a, b; Uni et al, 1998), e como os processos digestivos nesta idade não estão plenamente desenvolvidos, a baixa síntese enzimática pode se tornar

fator limitante no consumo e crescimento das aves (Fanchiotti et al, 2005). Com isso, vários trabalhos têm sido realizados para inter-relacionar o desempenho do animal com o desenvolvimento do intestino (morfometria) e atividade das enzimas digestivas nas diversas fases do crescimento do animal.

No período inicial do crescimento, os segmentos do trato gastrintestinal das aves aumentam de tamanho muito mais rapidamente que o restante do corpo (Jin *et al.*, 1998). A síntese das enzimas digestivas é limitada durante os primeiros dias após o nascimento e as funções digestivas das aves, como a produção enzimática, o processo de absorção de nutrientes e os órgãos que compõem o sistema digestivo passam por um processo de maturação com o avanço da idade (Monteiro, 2004).

Após a eclosão, os pintinhos apresentam uma reserva pancreática de lipase, pois o ovo é rico em lipídeos, mas é pobre em amilase. A ingestão de alimentos permite que o pâncreas e as atividades das enzimas do intestino delgado apresentem mudanças para se adaptar às novas condições, sendo que as maiores mudanças do sistema digestivo ocorrem nesse período. (Nitsan *et al.*, 1995). A síntese e a liberação dessas enzimas são influenciadas por estimulação humoral e mecânica causada pela passagem de maior quantidade de quimo através do aparelho digestório (Monteiro, 2004). A mucosa intestinal, composta pelos enterócitos, está em constante adaptação às variações na qualidade dos alimentos. A presença de alimentos fibrosos na ração estimula a produção de mucinas para proteção contra agressões físicas destes ingredientes. Também certos aminoácidos, como a glutamina (Yi, 2005) e a lisina (Pophal, 2004), são essenciais para a nutrição dos enterócitos e estimulam a síntese protéica. Devem ser adicionados em quantidades adequadas desde o início, para não prejudicar o pleno desenvolvimento da mucosa intestinal e, conseqüentemente, prejudicar o pleno desempenho do animal na fase adulta.

Como as codornas possuem ciclo de vida ainda mais curto, o conhecimento das alterações das funções digestivas nas diversas fases de crescimento torna-se ainda mais relevante para poder viabilizar o maior desempenho dos animais. Também não se encontra, na literatura, trabalhos de desenvolvimento enzimático em codornas. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi estudar, em codornas japonesas fêmeas de um 25 dias de idade, o

padrão de desenvolvimento do pâncreas e do intestino delgado e a atividade de suas enzimas, a fim de melhorar a utilização de nutrientes e tornar cada vez mais viável a produção industrial, tanto de carne como de ovos.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - α -amilase (E.C. 3.2.1.1.)

A α -amilase presente no suco pancreático de animais (α -1,4-glucano-4-glucano hidrolase) é uma endoglicosidase que catalisa a hidrólise das ligações (1 \rightarrow 4)- α -D-glicosídicas do amido, amilose, amilopectina, glicogênio e várias maltodextrinas (Yoon e Robyt, 2003). Essa α -amilase consiste em um polipeptídeo simples com cadeia de aproximadamente 470 resíduos de aminoácidos de seqüência conhecida, peso molecular de 53 kDa e máxima atividade em pH de 7,5 (D'Amico et al, 2000; Matsumoto et al, 1997; Moran JR, 1982). A α -amilase contém um átomo grama de Ca^{++} por molécula, que apenas confere estabilidade secundária e terciária a molécula não havendo evidências que o Ca^{++} tenha função direta na transformação do substrato.

Em aves é a principal enzima no processo de hidrólise de sacarídeos. O principal local da digestão do amido e do glicogênio é o intestino delgado, pois as enzimas amilolíticas não estão presentes no suco gástrico (Smith *et al.*, 1988; Nelson e Cox, 2002; Berg *et al.*, 2002). A hidrólise do amido pela α -amilase é rápida, sendo geralmente completada no momento em que os conteúdos intestinais alcançam a junção do duodeno e jejuno.

A hidrólise de polissacarídeos amiláceos produz amilose, amilopectina, maltotriose e maltose. A amilose é uma cadeia não ramificada de unidades de glicose unidas por ligações α -1,4, e amilopectina contém unidades de glicose em ligação α -1,4 e unidades com ligações α -1,6, que representam os pontos de ramificação presentes a cada 24 a 30 resíduos de carboidrato.

A amilase não hidrolisa as ligações α -1,4 que se encontram em torno dos pontos de ramificação e não efetua a hidrólise das ligações α -1,6. Sua ação sobre a amilopectina dá origem à α -dextrina limite. Vários animais produzem dois tipos de α -amilases: salivar, produzida pela glândula parótida, e a pancreática. As duas α -amilases se assemelham, dentre outros fatores, ao pH ótimo de atuação que fica em torno de 7,0 (Smith *et al.*, 1988).

Nas aves, a digestão do amido é quase exclusivamente realizada pela α -amilase pancreática, pois elas não possuem α -amilase salivar (Moran Jr.,

1982). A hidrólise do amido se inicia no papo pela ação fermentativa de microrganismos com baixa produção de ácido láctico e ácido acético, contribuindo com aproximadamente 3% da necessidade energética do animal. Assim, a digestão dos carboidratos realmente acontece quando o bolo alimentar entra em contato com a α -amilase pancreática no duodeno da ave (Rostagno, 1994).

2.2 - Lipase (E.C. 3.1.1.3.)

A lipase (triacilglicerol éster hidrolase), presente no suco pancreático dos animais, catalisa a hidrólise de triacilgliceróis em ácidos carboxílicos em solução aquosa. Essa enzima é ativada em solventes orgânicos hidrofóbicos com pequena quantidade de água, onde ocorre o equilíbrio químico. Essa enzima apresenta peso molecular que varia de 19 a 60 KDa, dependendo da espécie (Jaeger e Reetz, 1998).

O sítio ativo da lipase é formado por uma tríade catalítica constituída pelos aminoácidos: serina, ácido aspártico (ou glutâmico) e histidina (Castro, 2004).

A maior parte da dieta consiste em triacilgliceróis formados por ácidos carboxílicos de cadeia longa. No duodeno e jejuno, esses lipídios são emulsificados pela ação detergente dos sais biliares e, posteriormente, hidrolisados pela lipase. O produto resultante consiste numa mistura de ácidos graxos livres, monoacilgliceróis e poucos diacilgliceróis.

A lipase é capaz de realizar uma reação hidrolítica muito rápida entre duas fases não miscíveis. O substrato encontra-se na fase lipídica, enquanto moléculas de água, necessárias para hidrólise, estão presentes na fase aquosa. A reação enzimática ocorre na interface óleo – água, favorecida pela colipase, que é um co-fator protéico liberada pelo pâncreas que permite a interação da lipase com gotículas de gordura na luz intestinal. Os sais biliares e a colipase alteram o pH ótimo da lipase pancreática de 8,5 para 6,0, beneficiando um incremento em sua atividade, pois o pH da porção superior do intestino delgado, principal local de atuação da enzima, está normalmente entre 6,0 e 6,5 (Smith *et al.*, 1988; Moran Jr., 1994).

Os íons Ca^{++} aumentam a taxa de hidrólise dos triacilgliceróis ao interagirem com os ácidos graxos livres formando sais de cálcio insolúveis melhorando as condições do meio para a ação da enzima (Smith *et al.*, 1988).

2.3 - Desenvolvimento do aparelho digestivo

As aves nascem com uma reserva alimentar contida no saco vitelino que representa aproximadamente 10% do seu peso corporal. Esta reserva proporciona sua nutrição até os três primeiros dias de vida e é o depósito das imunoglobulinas transferidas pela mãe (Nunes, 1998). Os enterócitos formados no período embrionário não possuem carboidrases, não estão envolvidos no processo de absorção de glicose e parecem ser especializados em transferência de imunoglobulinas no ovo (Moran, 1985). A adaptação de pintos à alimentação exógena está associada ao aumento do peso do trato digestivo e das atividades das enzimas digestivas. A rápida transição do sistema digestivo de absorção embrionária do ovo para alimentos exógenos é fundamental para maximizar o crescimento.

O amido é a principal fonte de carboidratos para aves e o intestino ajusta suas funções digestivas em função das quantidades deste alimento, alterando a secreção de amilase, a área da superfície intestinal e concentração das carboidrases dos enterócitos (Moran, 1985). E a taxa de desenvolvimento físico do sistema digestivo das aves é maior durante o período inicial após a eclosão, excedendo ao ganho de peso corporal e de outros órgãos e tecido (Nitsan *et al.*, 1991a,b; Sell *et al.*, 1991; Nir, 1998; Jin *et al.*, 1998). O aumento do pâncreas é essencial para sua atividade secretória (Nitsan *et al.*, 1991a, b; Cleophas *et al.*, 1995; Dibner, 1997). Kawahara & Saito (1976) avaliaram a hereditariedade e correlações entre o peso corporal e os órgãos internos em codornas japonesas, observando que existe uma hereditariedade de 76% para ossos e apenas de 17% para o intestino, tendo também uma correlação entre os outros órgãos. Lenhardt *et al.* (2001) avaliaram o desenvolvimento funcional do intestino delgado de codornas japonesas incubadas em ambiente micro gravitacional pela análise das atividades das enzimas fosfatase alcalina e ácida presentes nos enterócitos do duodeno e jejuno. Constataram que as codornas no espaço ingeriram menos alimento e tiveram as suas atividades enzimáticas aumentadas em relação às codornas criadas nas mesmas condições na Terra,

que se alimentaram normalmente, demonstrando provavelmente um atraso no desenvolvimento do intestino delgado.

Uni *et al.* (1995) estudando o desenvolvimento embrionário do trato gastrintestinal em linhagens leves e pesadas de pintinhos, observou que, para ambas, na última semana de incubação e imediatamente após o nascimento, o desenvolvimento do intestino ocorreu por, principalmente, hiperplasia e não por hipertrofia dos enterócitos. Nir *et al.* (1993) demonstraram que aves de corte têm crescimento alométrico do trato digestivo e fígado, superiores às aves de postura, que possuem crescimento mais lento. Os enterócitos do epitélio duodenal nos pintos de corte recém nascidos estão quase maduros ao contrário dos de postura. Entretanto, o crescimento do pâncreas e a atividade das enzimas pancreáticas foram similares para ambos e, ainda, os animais de corte apresentaram atividades enzimáticas do conteúdo intestinal inferiores aos animais de postura, apontando uma deficiência de animais selecionados para crescimento rápido.

Ritz *et al.* (1995) compararam o desenvolvimento do intestino delgado em perus recém nascidos quando tratados com dietas suplementadas com as enzimas xilanase e α -amilase e observaram que o comprimento do *villus* no jejuno e íleo aumentou mais na dieta suplementada com amilase. O aumento do *villus* com o aumento da atividade enzimática demonstra um aumento da área de absorção dos nutrientes disponibilizados pela adição de enzimas (Caspary, 1992) e repercutindo no maior ganho de peso dos animais neste tratamento de 0 a 3 semanas de idade.

Segundo Shi-Hou Jin *et al.* (1998), após o nascimento, o trato gastrintestinal de frangos sofre um processo de desenvolvimento e maturação, especialmente o duodeno, o jejuno e o pâncreas que aumentam rapidamente. A atividade específica das enzimas digestivas no pâncreas e no intestino diminuem, mas a atividade total aumenta com o aumento da idade, devido ao aumento dos órgãos supra citados, o que, muitas vezes, não acompanha a demanda devido a grande quantidade de alimento ingerido pelo animal. Maiorka *et al.* (2004) estudando o efeito da idade de matrizes de corte sobre o desenvolvimento do trato digestivo de embriões e pintinhos recém nascidos observou que as atividades da amilase e tripsina no pâncreas e o peso relativo

do trato digestivo de embriões de matrizes de corte com 30 semanas foram menores que matrizes com 60 semanas de idade.

Outro aspecto que tem sido considerado no processo de criação intensiva é o período em que os pintos recém nascidos ficam sem alimentar até serem alojados. Nas últimas três décadas pensava-se que os animais poderiam ficar em jejum por até dois dias que não afetaria o desempenho. Todavia, vários autores têm estudado o efeito da restrição alimentar sobre o trato gastrintestinal de aves recém nascidas, comprovando que esta restrição pode comprometer o pleno desenvolvimento dos animais. Palo *et al.* (1995) observaram que o peso corporal e o peso dos órgãos gastrintestinais foram reduzidos pela restrição alimentar aos 14 dias de idade. A restrição, contudo, não diminuiu o peso relativo dos órgãos do trato digestório, exceto do fígado. Também, foi observado redução do número e tamanho de células do fígado e diminuição do número de células do jejuno. Todos os órgãos recuperaram o peso normal depois da realimentação e as taxas dos constituintes celulares retornaram ao normal aos 41 dias de idade. Os pesos absoluto e relativo dos órgãos foram menos afetados pela restrição e responderam mais rapidamente a realimentação do que o peso corporal. Corless (1999), estudando os efeitos da restrição alimentar e água após o nascimento sobre o desenvolvimento físico e funcional do aparelho digestivo de perus jovens, observou que 54 horas de jejum atrasaram o desenvolvimento do aparelho digestivo, prejudicaram a utilização de nutrientes, reduziram o ganho de peso e também as atividades da amilase pancreática aos 3 e 4 dias de idade e da tripsina aos 3 dias de idade.

Cançado e Baião (2002), estudando três períodos de jejum (zero, 24, 48 horas após o nascimento) e a adição de óleo na ração sobre o crescimento alométrico dos órgãos digestivos e atividade da lipase no pâncreas e intestino delgado, observaram que o crescimento alométrico dos órgãos digestivos foi maior para as aves alojadas ao nascimento. Também, a maior taxa de crescimento alométrico foi observada nos primeiros dias de vida e a atividade de lipase no intestino variou com a concentração de óleo na dieta. Pinchasov & Noy (1993) afirmaram que os fatores físicos do sistema gastrintestinal, como o comprimento e a área de superfície, limitam mais o crescimento precoce do que a disponibilidade de enzimas. Saki (2005), trabalhando com pintos de corte para testar o efeito do jejum após o nascimento, verificou que ao final de 42

dias houve menor ganho de peso para animais que ficaram sem alimentar por 24 horas após o nascimento.

Uni *et al.*, (1995b) testaram nas linhagens Arbor Acres e Lohman uma semana antes da eclosão até uma semana depois, um método para determinação do desenvolvimento intestinal baseado na concentração de DNA, taxa de correlação RNA/DNA, RNA/proteína e proteína/DNA concomitantemente com as medidas morfológicas do trato. E concluíram que estas relações podem ser usadas como critério adicional para evolução do desenvolvimento do intestino em pintos de maneira eficiente.

2.4 - Desenvolvimento enzimático

As enzimas digestivas aparecem durante a incubação, aumentando seus níveis após o nascimento (Dibner, 1997; Cançado e Baião, 2002). As aves nascem com alguma reserva de enzimas pancreáticas que são produzidas durante o período embrionário, mas esgotam rapidamente porque a síntese no período inicial é menor que a demanda para secreção no intestino para manter a concentração inicial (Nitsan *et al.*, 1991a). A baixa hidrólise no lúmen intestinal devido a pouca quantidade de enzimas pancreáticas, provoca a diminuição da digestibilidade aparente dos componentes da dieta e reduz o crescimento do animal (Corring e Bourdon, 1987; Nitsan *et al.*, 1991a).

As vilosidades intestinais possuem enterócitos que projetam microvillus com os glicocálix de superfície. Estas finas estruturas seqüestram água que estão misturadas nas mucinas próximas às células globet para formar uma camada de água em suspensão. Maltose, maltotriose e dextrina limite, devem difundir-se através desta primeira barreira para serem hidrolisadas pela maltase, sacarase e isomaltase imobilizadas na membrana, e conseqüentemente, a glicose resultante dessas hidrólises se concentra na superfície celular favorecendo sua absorção. As vilosidades embrionárias são estimuladas pela presença de alimento, havendo substituição dos enterócitos embrionários pelos enterócitos emergentes das criptas, aptos à digestão e absorção (Moran, 1985).

Ikeno & Ikeno (1991) estudando a atividade da α -amilase em ovos de galinhas poedeiras e codornas verificou que a atividade desta enzima não alterou em ovos não fertilizados durante os 21 dias de incubação. Todavia, em

gemas de ovos fertilizados, a atividade da α -amilase aumentou consideravelmente com o desenvolvimento do embrião. Por outro lado, no pâncreas, a atividade da α -amilase foi detectada aos seis dias de incubação aumentando em quatro estágios com maior atividade após 19 dias, coincidindo com a maturação morfológica do órgão. Apesar de não se saber qual é a função da α -amilase na gema embrionária, especula-se que pode servir como reserva para o pintinho ao nascer. Kulka e Duksin (1964) encontraram padrões de crescimento e atividade de amilase pancreática diferentes em embriões e em pintos recém nascidos. Yardley et al (1988) descreveram diferentes atividades *in vitro* para duas isoamilases de frangos em presença de amilose, proveniente de farinhas de milho e trigo. Hughes et al (1994) testaram essas duas isoenzimas *in vivo* em duas linhagens de frango selecionados para homozigose e encontraram diferenças para tipo de enzima e tipo de alimento em algumas idades, mas não foram conclusivos, podendo as diferenças estarem relacionadas a outros genes alelos ligados ao da amilase.

A lipase é a principal enzima pancreática que deve agir em perfeita coordenação com a colipase, sais biliares e fosfolípidios, associado a um grau adequado de mobilidade intestinal. Caso alguns destes fatores sejam alterados, poderá comprometer a utilização dos lipídeos da dieta (Escribano *et al.*, 1988). Sell *et al.* (1991) relataram grande aumento na atividade específica da lipase em perus entre a eclosão e os primeiros dias de vida, e que, em pintinhos, a atividade diminuiu nos seis primeiros dias de vida e aumentou aos 21 dias de idade. Entretanto, Krogdahl e Sell (1989) encontraram que a atividade específica da lipase em perus diminuiu na primeira semana de vida e depois aumentou até atingir um máximo aos 32 dias de idade. Nitsan *et al.* (1991b) encontraram que a atividade da lipase em pintinhos aumentou até o oitavo dia de vida e atingiu um máximo aos 17 dias de idade e, depois, foi diminuindo lentamente. Noy e Sklan (1995) relataram que a secreção de lipase dentro do duodeno foi baixa até os quatro dias de idade e aumentou continuamente até 21 dias em pintos de corte e postura. Uni *et al.* (1995a) mostraram que em pintos de postura, a secreção de lipase por grama de alimento ingerido foi também baixa aos quatro dias e aumentou aos sete dias e depois diminuiu de 10 a 14 dias.

A adição de enzimas na dieta das aves tem sido uma prática muito utilizada na tentativa de melhorar a digestibilidade dos constituintes da ração. Geralmente, as enzimas mais usadas são para hidrolisar proteínas, fibras insolúveis e de baixa solubilidade como as pectinas. Mas devem-se ter alguns cuidados, pois esta prática pode alterar as funções secretoras do pâncreas. Mahagna *et al.*, (1995) estudando o efeito da adição de amilase e protease exógena sobre o trato digestivo e sobre as atividades das enzimas pancreáticas em frangos de corte, concluiu que a adição de enzimas exógenas reduz o tamanho do intestino e a atividade das enzimas pancreáticas, devendo ser adicionadas com cautela, principalmente se estas enzimas forem similares às endógenas. Brenes *et al.* (1993), comparando o efeito da adição de enzimas fúngicas em dietas a base de cevada e trigo sobre o desempenho e o tamanho do trato digestivo de frangos, observaram que a adição das enzimas promoveu maior ganho de peso, melhor conversão alimentar, e ainda promoveu uma diminuição do tamanho do pâncreas e do trato intestinal. Aqueles autores consideraram que a diminuição destes órgãos foi um ajuste à melhoria da digestibilidade dos β -glucanos que estando presentes na cevada e no trigo, aumentam a viscosidade do alimento e dificultando a ação das enzimas digestivas. Savory & Gentie (1976) trataram codornas japonesas com dieta convencional com baixa quantidade de fibra, e dieta com dois níveis de fibra insolúvel e observaram que aquelas alimentadas com altos teores de fibras pesaram menos que as alimentadas com baixo teor de fibras. Também, as que foram alimentadas com altos teores de fibras tiveram o peso do trato digestivo aumentado. Assim que as rações foram trocadas para baixos teores de fibras, houve redução do tamanho do trato digestivo, mostrando um ajuste ao grande volume de alimento ingerido. Gentie *et al.*, (1975) trabalhando com codornas, observaram aumento no comprimento do intestino, quando foram tratadas com ração diluída com fibras, mas nenhuma diferença foi observada na altura das vilosidades e espessura das camadas submucosas intestinais. As codornas que receberam dieta normal apresentaram maior número de células globet e linfonodos no ceco do que as tratadas com dieta fibrosa.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Criação e manejo

O presente experimento foi realizado no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, MG. Foram utilizadas 90 codornas fêmeas da espécie japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) com um dia de idade, alojadas em boxe, ocupando uma área de 190cm²/ave. O piso foi forrado com maravalha com 5 cm de espessura. A água foi fornecida em bebedouro do tipo copo de pressão e a ração em comedouro do tipo bandeja. O aquecimento foi feito por lâmpadas de 250 Watts. Na primeira semana, a temperatura foi mantida entre 33 e 36 °C, a fim de manter as aves sob conforto térmico, sendo monitorada três vezes por dia (7, 13 e 16 horas). Aos 17 dias de idade foi retirada a luz de aquecimento, ficando apenas iluminação ambiente em penumbra. As aves foram tratadas com ração balanceada segundo as exigências nutricionais recomendadas pelo National Research Council NRC (1994) que constam da Tabela 1.

Tabela 1 - Composição percentual, química e valor nutricional da dieta para codornas nas fases de cria e recria, na base da matéria natural.

Ingredientes	%
Milho	52,80
Farelo de Soja (45%)	42,80
Fosfato Bicálcico	0,96
Calcário	1,07
Óleo Vegetal	1,71
Sal	0,26
DL-Metionina (99%)	0,14
Avilamicina ¹	0,01
Anticoccidiano ²	0,05
Suplemento Mineral ³	0,05
Suplemento Vitamínico ⁴	0,10
Antioxidante ⁵	0,01
Cloreto de Colina (60%)	0,04
Total	100,000
Composição Calculada	
Proteína Bruta (%)	24,02
Energia Metabolizável (Kcal/kg)	2.900,00
Cálcio (%)	0,80
Fósforo disponível (%)	0,35
Sódio (%)	0,15
Lisina total (%)	1,32
Lisina digestível (%)	1,19
Metionina+Cistina total (%)	0,88
Metionina+Cistina digestível (%)	0,79
Metionina total (%)	0,51
Metionina digestível (%)	0,47
Triptofano total (%)	0,31
Triptofano digestível (%)	0,28
Treonina total (%)	0,94
Treonina digestível (%)	0,82

¹ Surmax.

² Coxistac 12%.

³ Composição/kg de produto: Manganês: 160g, Ferro: 100g, Zinco: 100g, Cobre: 20g, Cobalto: 2g, Iodo: 2g, Excipiente q.s.p.: 1000 g.

⁴ Composição/kg de produto: Vitamina A:12.000.000 U.I., Vitamina D₃:3.600.000 U.I., Vitamina E: 3.500 U.I., Vitamina B₁:2.500 mg, Vitamina B₂: 8.000 mg, Vitamina B₆:5.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Biotina: 200 mg, Vitamina K: 3.000 mg, Ácido fólico: 1.500 mg, Ácido nicotínico: 40.000 mg, Vitamina B₁₂: 20.000 mg, Selênio: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1.000 g.

⁵ Butil-hidróxi-tolueno

3.2 - Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis idades de avaliação e cinco repetições, sendo cada animal uma unidade experimental.

Os dados foram submetidos a análise de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste t, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no fenômeno biológico. As análises foram feitas utilizando o programa SAEG – Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas – UFV (2000).

3.3 - Ganho de peso

Todas as aves foram pesadas no início e término de cada idade para determinação do ganho de peso médio.

3.4 – Coleta e biometria

Aos um, cinco, 10, 15, 20 e 25 dias de idade foram sacrificadas cinco aves por deslocamento cervical. A moela, o pâncreas, o fígado, o coração e o conteúdo da porção proximal do intestino delgado (quimo) foram removidos de cada ave. Os órgãos foram imediatamente pesados e congelados em nitrogênio líquido, identificados e armazenados a -20 °C para posteriores análises.

3.5 – Preparo das amostras

O pâncreas e o quimo foram descongelados dentro da geladeira em banho de gelo. Em seguida, a uma alíquota de 20 mg do pâncreas e a alíquota total de quimo coletado por animal foi adicionado 10 mL e 8 mL de água destilada e deionizada gelada, respectivamente, e homogeneizada com a utilização do equipamento tipo Potter-Ev, modelo TE-099, Tecnal. As amostras foram então centrifugadas a 3500 x *g* por 10 minutos. Os sobrenadantes obtidos foram utilizados para as determinações das atividades das enzimas digestivas α -amilase e lipase e do teor de proteína total.

3.6 - Determinação da atividade de α -amilase

A atividade de α -amilase foi determinada utilizando *kit* da marca Bioclin com metodologia de Caraway (1959) modificada que consiste em incubar a amostra com substrato de amido. O iodo reage com amido ainda não

hidrolisado produzindo uma coloração azul que é inversamente proporcional a atividade enzimática, sendo comparado com um controle. A leitura foi realizada por espectrofotometria a 660 nm. Os valores foram expressos em Unidades (U), sendo uma unidade igual à quantidade de enzima que hidrolisa totalmente 10 mg de amido em 30 minutos a 37 °C.

3.7 - Determinação da atividade de lipase

A atividade de lipase foi determinada empregando-se o *kit* específico produzido pela Bioclin. A lipase hidrolisa os triacilgliceróis liberando ácidos graxos e monoacilgliceróis que reagem com o ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzólico em meio tamponado, formando um ânion de coloração amarela, cuja intensidade de cor é proporcional à atividade da enzima. As amostras foram lidas espectrofotometricamente em 412 nm. Os valores foram expressos em Unidades Internacionais (UI).

3.8 – Determinação da proteína solúvel total

Para determinar o teor de proteína solúvel total no pâncreas e no quimo foi utilizado o método Lowry (1951). Esse método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin – Ciocalteau), que é reduzido quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II), e produz um composto que apresenta absorção máxima em 700 nm. Durante a reação ocorre uma redução das cadeias laterais de alguns aminoácidos (tirosina, triptofano, cisteína, asparagina e histidina), que contribuem com quatro elétrons, ou através de dois elétrons de cada unidade tetrapeptídica dos peptídeos e proteínas, que é facilitada pela formação do quelato entre o cobre (II) e peptídeos/proteínas. A curva padrão foi determinada utilizando albumina sérica bovina (BSA).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Biometria dos órgãos

Os resultados de biometria dos órgãos são mostrados na Tabela 2.

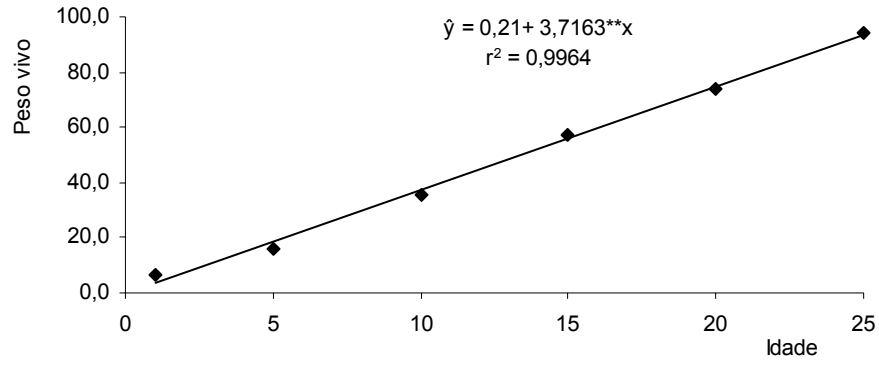
Tabela 2 – Valores médios de peso vivo e pesos do pâncreas, coração, moela e fígado para as respectivas idades.

Idade (dias)	Peso vivo (g)	Pâncreas (g)	Coração (g)	Moela (g)	Fígado (g)
1	6,9	0,014	-	-	0,2
5	16,2	0,093	0,3	0,9	0,7
10	35,6	0,145	0,4	1,3	1,2
15	57,0	0,233	0,6	2,1	1,4
20	74,0	0,316	0,7	2,5	1,9
25	94,0	0,361	0,9	2,6	2,3

Como observado na Tabela 2, o peso das codornas aumentou 2,3 vezes do primeiro para o 5º dia. Observação semelhante foi feita por Figueiredo e Amara (2005) para frangos de corte que dobraram seus pesos durante os primeiros cinco dias de vida, mesmo sendo esse período uma fase de transição de um metabolismo onde os embriões utilizavam lipídeos e proteínas do saco vitelino para uma alimentação a base de carboidratos após nascerem.

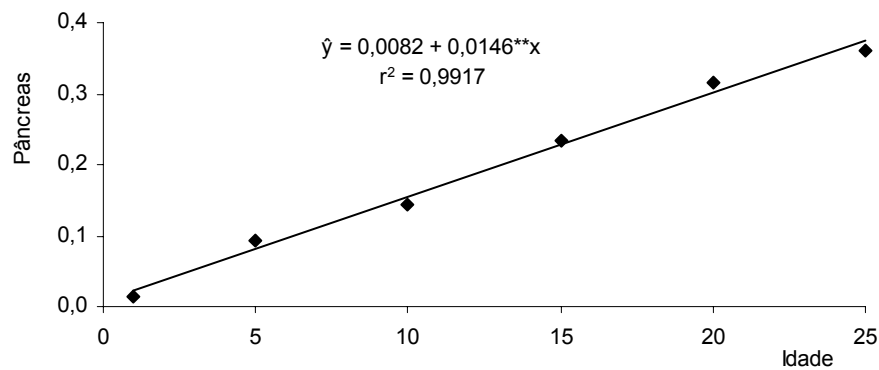
O desenvolvimento do aparelho digestório de codornas parece ter uma hereditariedade pequena, variando em torno de 17% (Kawahara & Saito, 1976) e as aves, de modo geral, respondem mais às condições alimentares variando de 10 a 100% (Battley, 2005).

Neste trabalho as variáveis peso vivo e pesos do pâncreas, coração, moela e fígado apresentaram crescimento linear em função da idade, como representados nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Essas observações estão em conformidade com Nir *et al.* (1993) que demonstraram que aves de postura possuem crescimento de vísceras mais lento do que aves de corte, que possuem crescimento alométrico para o trato digestivo e fígado.



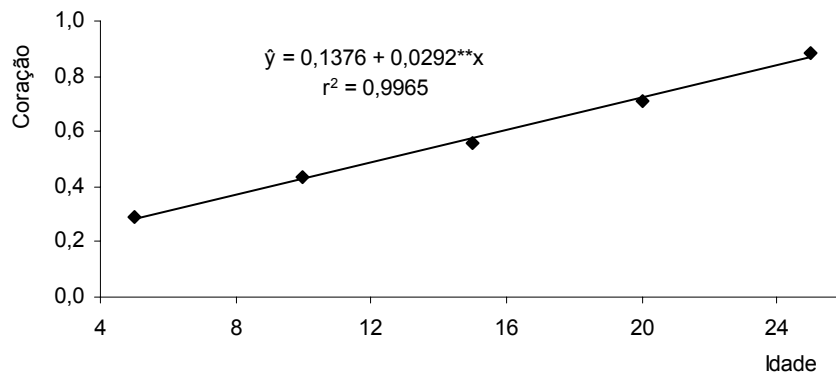
** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 1 – Estimativa do peso vivo (g) em função da idade em dias



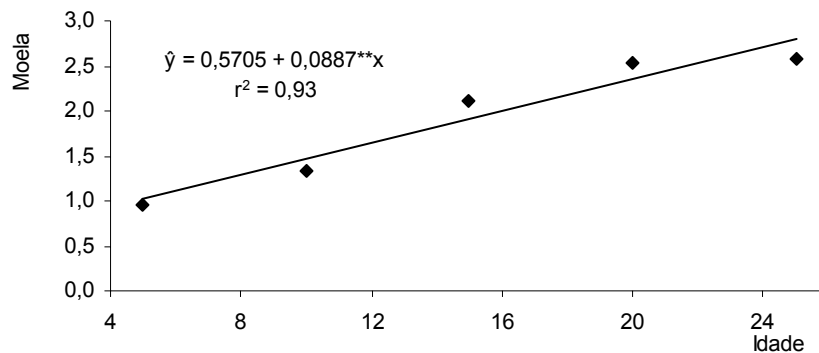
** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 2 – Estimativa do peso do pâncreas (g) em função da idade em dias



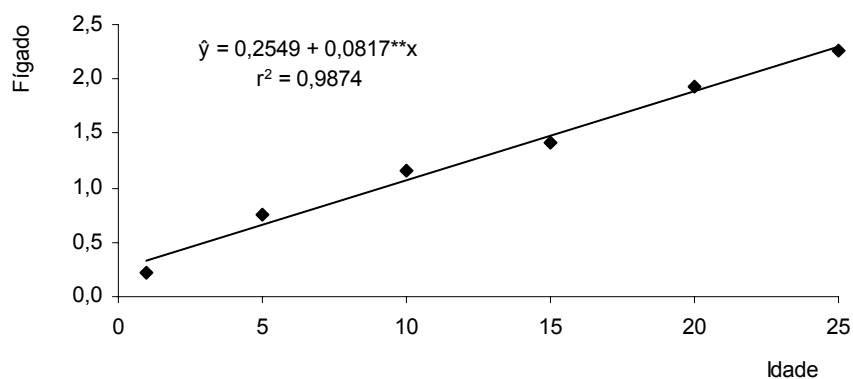
** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 3 – Estimativa do peso do coração (g) em função da idade em dias



** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 4 – Estimativa do peso da moela (g) em função da idade em dias



** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 5 – Estimativa do peso do fígado (g) em função da idade em dias

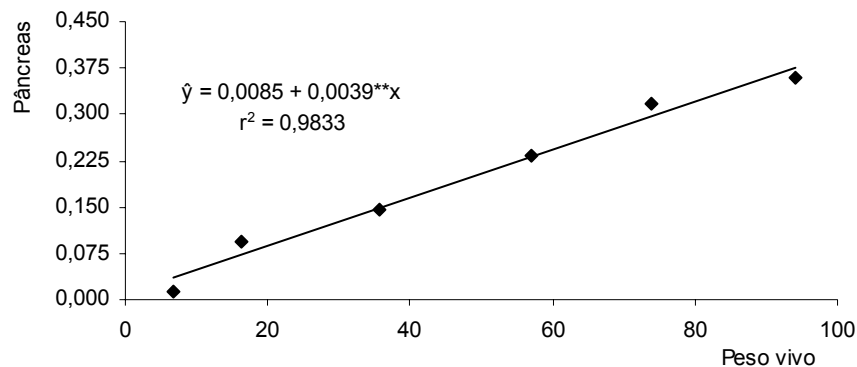
Tabela 3 – Taxa de crescimento do pâncreas, coração, moela e fígado

Variável	Taxa crescimento (g)/dia
Pâncreas	0,0146
Coração	0,0292
Moela	0,0887
Fígado	0,0817

Analisando a taxa de crescimento (g) por dia de cada órgão (Tabela 3), observa-se que a víscera que teve maior crescimento foi a moela com média de 0,0887 g por dia, seguido pelo fígado com 0,0817 g por dia. Isto é plenamente justificável, visto que a moela é um estômago muscular responsável por parte do processo de digestão e o fígado é um órgão central no metabolismo, tendo que responder a demanda de bile proveniente de

estímulos secretores do intestino. Além disso, está envolvido no metabolismo de moléculas essenciais como glicogênio, proteínas plasmáticas e séricas, hemoglobina, entre outras. Em especial, nas aves o fígado é responsável por todo o metabolismo da gordura e é o único órgão que sintetiza gordura de reserva nestes animais (Bacila, 2003).

Coração e pâncreas tiveram uma taxa média de crescimento bem menor que o crescimento corporal com 0,0292 g e 0,0146 g, respectivamente.



** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 6 – Estimativa da relação entre o peso vivo (g) e peso do pâncreas (g)

Apesar do crescimento linear do pâncreas durante o período de vinte cinco dias mostrada na Figura 6, observa-se na tabela 2 que a relação percentual do peso do pâncreas em relação ao peso vivo cresceu de 0,2% para 0,57% nos cinco primeiros dias e dos 5 aos 25 dias decresceu de 0,57% para 0,38% do peso corporal. Aos cinco dias de idade a maior taxa de crescimento foi de 6,64 vezes, enquanto que do quinto ao vigésimo quinto dia foi de aproximadamente 3,9 vezes. Assim, nos cinco primeiros dias houve crescimento alométrico em relação ao peso vivo que apresentou crescimento de apenas 2,3 vezes. Observações similares foram feitas anteriormente (Nitsan et al, 1991a,b; Sell et al, 1991; Nir, 1998; Jin et al, 1998). Diferentemente, Krogdahl (1989) observou que o peso relativo do pâncreas aumentou após a eclosão, tendo o pico de crescimento alcançado aos 14 dias e foi 4 a 5 vezes maior, ou seja, o pâncreas representou 0,2% do peso corporal após a eclosão, 0,4 a 0,5% no pico e correspondia a menos de 0,2% do peso corporal ao final do experimento.

4.2 – ATIVIDADE DE α -AMILASE

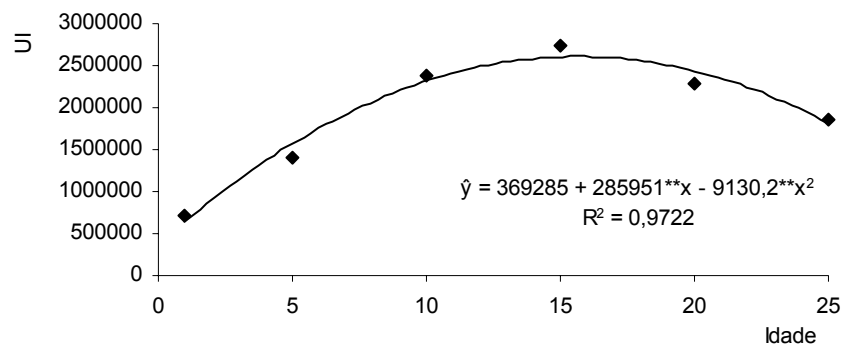
As atividades enzimáticas da α -amilase do pâncreas e do quimo das aves tem sido avaliados em diversas condições experimentais, muitas vezes obtendo-se resultados contraditórios. Todavia, tem sido unânime observar que ao nascer a atividade desta enzima no pâncreas e no quimo, é baixa com tendência de aumento à medida que o animal vai recebendo uma dieta a base de carboidratos (Figueiredo e Amara, 2005; Noy e Sklan, 1997). A presença do alimento no lúmen intestinal estimula as secreções enzimáticas e o processo de maturação do intestino, pela substituição dos enterócitos embrionários por enterócitos com maior capacidade secretora (Moran, 1985).

Pode ser observado (Figura 7) que a atividade da α -amilase no pâncreas das codornas aumentou de um aos 15,65 dias de idade, quando houve a maior atividade. Figueiredo e Amara (2005) observou que a atividade foi desprezível até o segundo dia de idade e entre o segundo e sétimo dia houve aumento na atividade desta enzima. Também Noy e Sklan (1997) verificaram a presença da amilase no pâncreas aos 18 dias de incubação, mas aumentando sua atividade após a eclosão.

A partir dos 15 dias, a atividade da α -amilase, neste experimento, teve um declínio até o fim do período. Diferente do observado por Pinchasov *et al.*, (1990) que estudando as enzimas digestivas em aves com idades entre 14 a 83 dias observou que os níveis de amilase pancreática aumentaram com a idade. Lima (2003) também encontrou o mesmo padrão encontrado por Pinchasov *et al.* (1990) de aumento de atividade para amilase pancreática em frangos até 42 dias de idade. Como as codornas receberam dieta com 52,8% de milho, que é rico em amido, poder-se-ia esperar uma resposta crescente da atividade de amilase do pâncreas até o final do período. Mas como afirmam Pinchasov & Noy (1993), os fatores físicos do sistema gastrintestinal, como o comprimento e a área de superfície, podem limitar mais o crescimento precoce do que a disponibilidade de enzimas.

As codornas deste experimento são de postura e não foram selecionadas para crescimento rápido, com isso parece não ter havido uma sobrecarga no pâncreas para produção de amilase. Geralmente, com o crescimento do

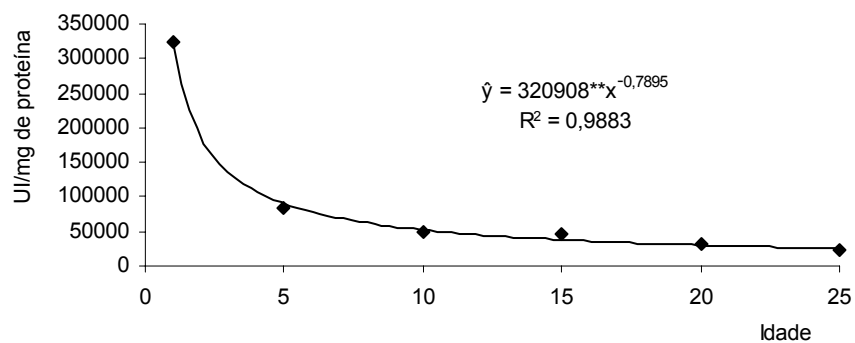
animal, o intestino e o pâncreas amadurecem, principalmente com relação à produção de lipase que é deficiente na fase inicial pós eclosão. O mesmo é observado com o fígado quanto à produção de bile (Krogdahl e Hell, 1989). Assim, com o aumento da idade ocorre o aumento da digestibilidade podendo melhorar a digestão de carboidratos da dieta e, conseqüentemente, reduzir os estímulos de secreção da amilase pelo pâncreas. Palo (1995) sugeriu que, as amilases se adaptam aos níveis de substrato, no caso, presença de carboidratos pré-hidrolisados no intestino.



** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 7 – Estimativa da atividade enzimática (U) da amilase pancreática em função da idade em dias

A atividade específica é obtida pela relação entre a atividade da enzima e mg de proteína total (Tabela – 4). As atividades específicas da α -amilase pancreática em função da idade estão na Figura 8.



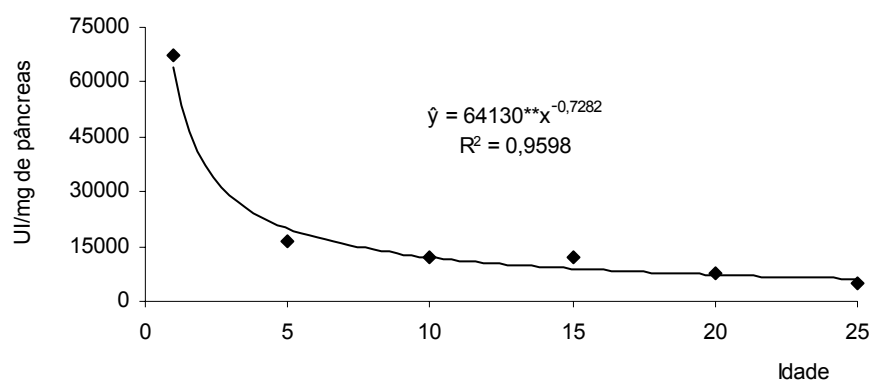
** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 8 – Estimativa da atividade específica (U/mg proteína) da amilase pancreática em função da idade em dias

Tabela 4 – Níveis médios de proteína (mg) do pâncreas (mg)

Idade (dias)	Proteína Solúvel Total (mg) por Pâncreas (mg)
1	18,57%
5	19,25%
10	32,77%
15	25,52%
20	23,42%
25	22,43%

No primeiro dia de idade a atividade específica foi maior, houve um declínio até aos cinco dias e, após, não houve grande diferença nos períodos seguintes. Resultado semelhante ao da atividade da α -amilase pancreática por peso de pâncreas em função da idade, representado na Figura 9.



** Significativo a 1% pelo teste t

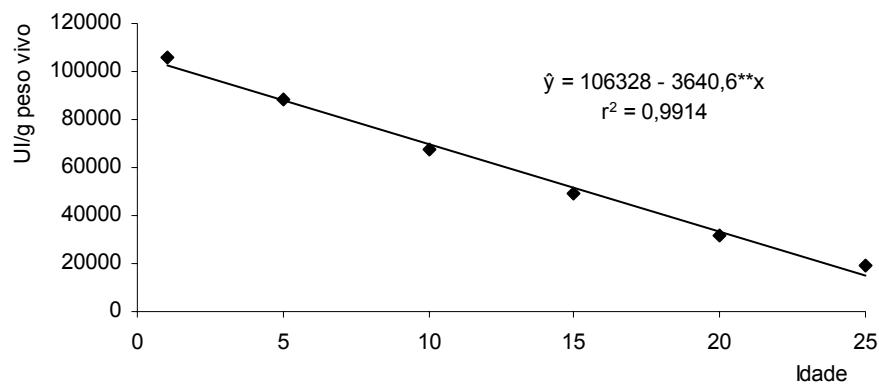
Figura 9 - Estimativa da atividade da amilase pancreática por mg de pâncreas (U/mg pâncreas) em função da idade em dias

Apesar da tendência de diminuição da relação entre atividade da amilase com níveis de proteína e peso do pâncreas, isso não denota uma deficiência para atividade desta enzima, visto que no primeiro dia de vida, o pintinho possuía pouca reserva desta enzima demonstrada pela baixa atividade, provavelmente pela falta de estímulo, como mencionado por Moran (1985), mas cresceu até os quinze dias.

O que determinou a redução na atividade específica com a idade foi o aumento dos níveis de proteína do pâncreas. Da mesma forma a atividade em relação ao peso do pâncreas teve redução devido ao tamanho do pâncreas, semelhante ao observado por Nir *et al.* (1993). De certa forma, isto pode ser visto como positivo, pois demonstra que o pâncreas está sintetizando mais

proteínas que, provavelmente, estão relacionadas a outras enzimas digestivas e hormônios.

A relação da atividade da amilase pancreática pelo peso vivo do animal em função da idade foi linear de forma decrescente e não pode ser visto da mesma forma, como positiva (Figura 10). Isto sugere uma possível deficiência da enzima, já que quanto maior o animal, maior será sua ingestão de alimentos, conseqüentemente, maior necessidade de incrementos na atividade enzimática.



** Significativo a 1% pelo teste

Figura 10 - Estimativa da atividade da amilase pancreática por g de peso vivo (U/g peso vivo) em função da idade em dias

Para a variável atividade da amilase do quimo em função da idade, não se verificou o efeito da idade e não houve modelo estatístico que explicasse, como representado no gráfico 11.

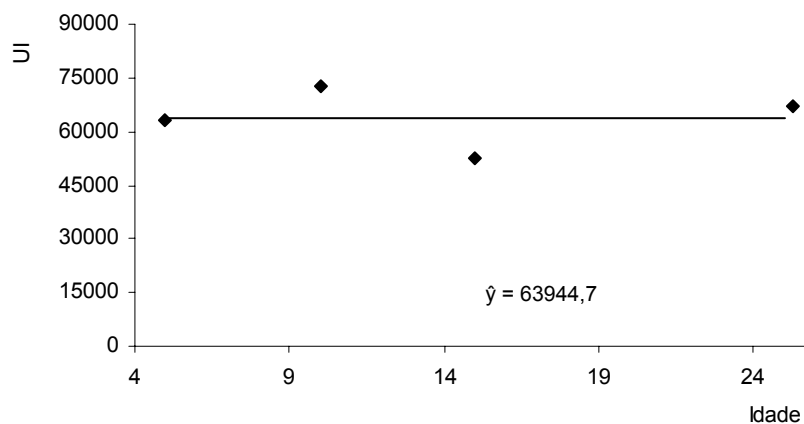


Figura 11 - Atividade enzimática (U) da amilase do quimo nas idades em dias

Vários fatores podem interferir na atividade da amilase no quimo, sendo a atividade diretamente dependente da secreção pancreática. Ocorre, também, influência de fatores locais como quantidade de alimento no intestino (Pinchasov *et al.*, 1990), taxa de passagem do alimento (Sakamoto, 2006), linhagens genéticas (Nitsan *et al.*, 1991). Da mesma forma, a presença de substâncias que possam interagir com o substrato ou mesmo com as enzimas, muitas vezes inativando-as (Monteiro *et al.*, 2004a). Ainda, as atividades das enzimas no intestino variam de acordo com o segmento intestinal, sendo mais alta no duodeno e diminuindo no jejuno e íleo (Noy *et al.*, 1995). No presente trabalho não foi avaliado a quantidade de enzima secretada, mas sim sua atividade no conteúdo intestinal, portanto não foi possível observar nenhum tipo de comportamento específico para a atividade desta enzima.

Pode-se observar tendência de diminuição da atividade da amilase do quimo por mg de quimo coletado, demonstrada na Figura 13.

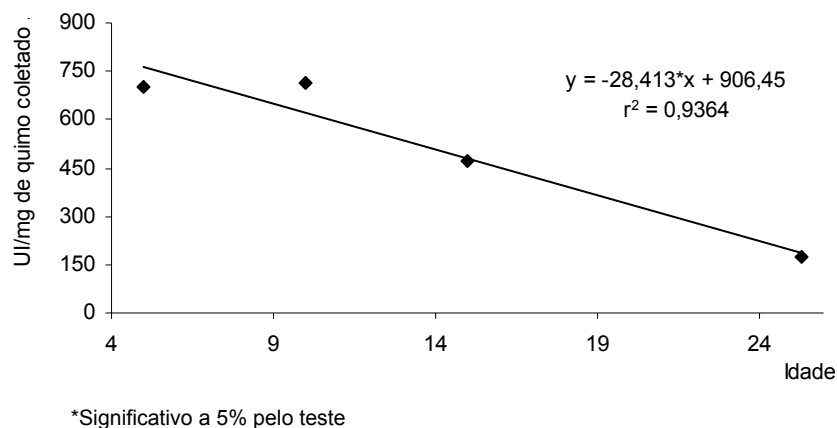


Figura 13 - Atividade da amilase do quimo por mg de quimo coletado (U/mg quimo) nas idades em dias

Isto pode ter sido devido ao fato de que o volume do quimo aumentou com a idade acompanhado do maior crescimento do intestino e conseqüente maior conteúdo, também, então o pâncreas pode não ter aumentado a produção da enzima o suficiente para acompanhar o volume do quimo.

Também observou-se tendência de diminuição mais acentuada até os 15 dias da atividade de amilase do quimo por g de peso vivo, demonstrada na Figura 14.

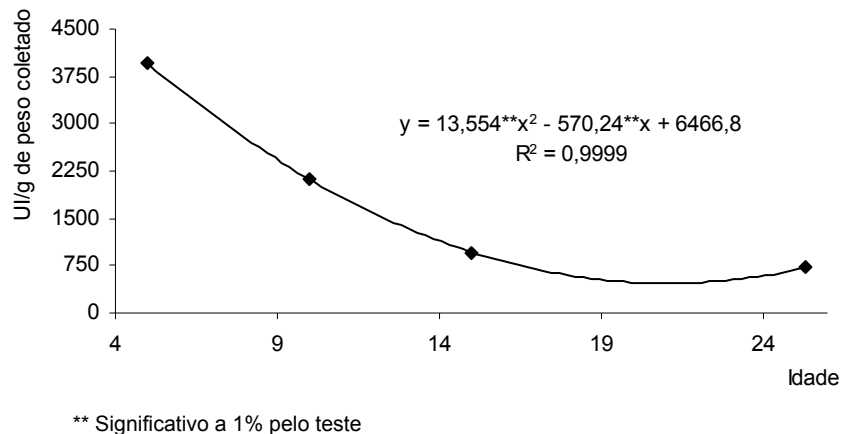


Figura 14 - Atividade da amilase do quimo por g de peso vivo (U/g peso vivo) nas idades em dias

Isto pode ter ocorrido devido ao fato de que a atividade da enzima (U/g peso vivo) diminuiu ao longo da idade e o animal estava crescendo de forma linear. Mas com o aumento da idade pode-se observar uma tendência de estabilização, pois, o animal tende a reduzir o crescimento tanto do intestino quanto do peso vivo.

4.3 – ATIVIDADE DE LIPASE

Não houve modelo estatístico que explique a relação entre a atividade enzimática (UI) da lipase pancreática em função da idade (Figura 14) cujo valor médio foi de 22.511,158 UI. O que se pode observar em relação a atividade da lipase pancreática é que houve tendência a diminuir do primeiro ao quinto dia e aumento aos 10 dias de idade. A seguir foi observada tendência a declinar até 20 dias e ocorrer estabilização dos 20 aos 25 dias de idade (Figura 14).

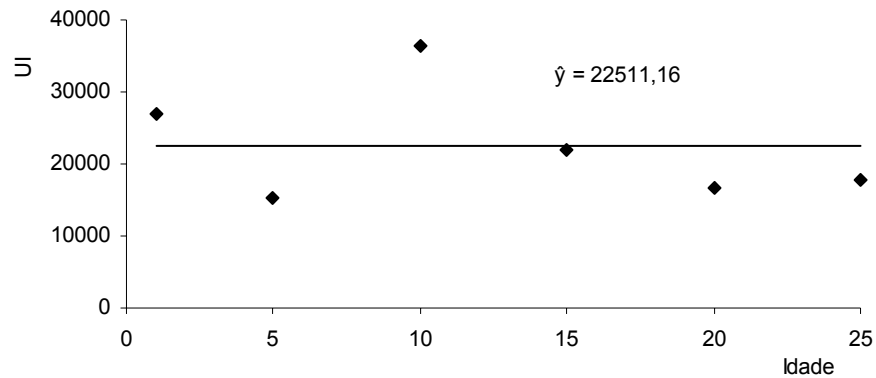
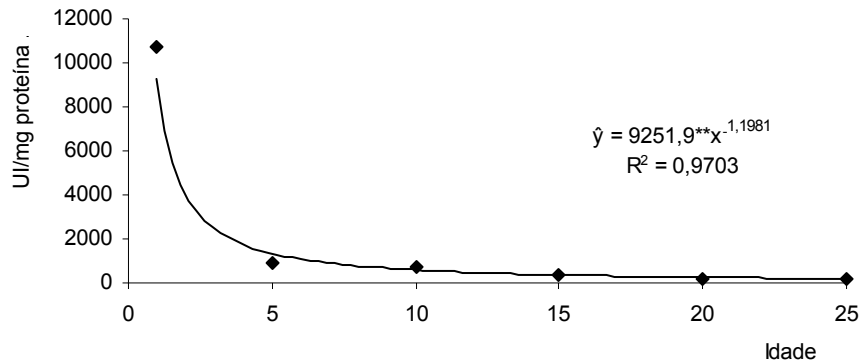


Figura 14 – Atividade enzimática (UI) da lipase pancreática em função da idade em dias

A lipase é produzida na fase embrionária, pois o alimento básico do embrião é o lipídio da gema que constitui o saco vitelínico (Escribano, 1988). Após o nascimento com a mudança de alimentação endógena para exógena, as reservas embrionárias desta enzima são consumidas. O pâncreas ainda está imaturo e não é capaz de produzir quantidades suficientes dessa enzima para atender as demandas do organismo. Este, estando em pleno crescimento (Krogdahl e Sell, 1989), observa-se diminuição na atividade da lipase nos cinco primeiros dias. A presença do alimento, principalmente gordura da dieta, pode resultar no estímulo para a produção e secreção da lipase pelo pâncreas (Palo 1995). Krogdahl e Sell (1989), também em estudos com perus, encontraram que o aumento da atividade da lipase pancreática ocorre mais lentamente que as enzimas proteolíticas e amilolíticas e que também depende do nível de lipídeos da dieta. Também, neste experimento, não foi possível perceber um aumento consistente na atividade da lipase pancreática.

A estimativa da atividade específica da lipase pancreática em função da idade é mostrada na Figura 15.

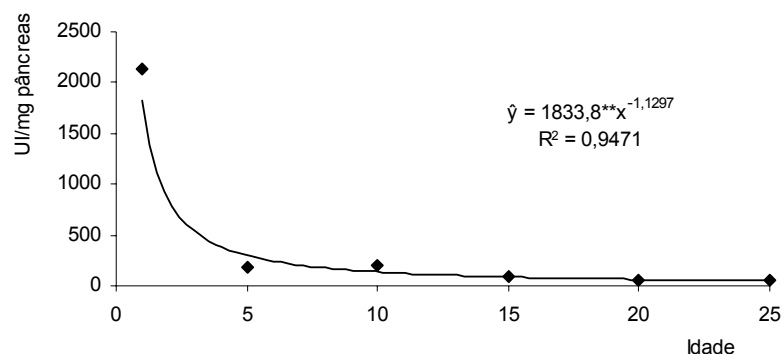


** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 15 – Estimativa da atividade específica (UI/mg proteína) da lipase pancreática em função da idade em dias

Observa-se uma diminuição acentuada a partir de um dia de idade até os cinco dias, havendo tendendo a estabilizar. Este resultado está em conformidade com *Escribano et al.* (1988) que encontrou menor atividade específica em perus do primeiro ao quarto dia, justificando que quando ocorre a eclosão, ocorre transferência do conteúdo de lipídeos do saco vitelínico para o embrião, sendo estocados na forma de éster de colesterol e nos tecidos extra hepáticos como fosfolipídios e triglicérides. Assim, espera-se que o sangue possua altas concentrações de lipídeos e que, de alguma forma, inibam os mecanismos para uma utilização adequada dos lipídeos da dieta, podendo chegar até aos 30 dias de idade. Esse resultado diferiu um pouco do encontrado por *Nitsan et al.* (1991) que verificou que a atividade específica de lipase no pâncreas de frangos de corte, diminuiu durante os 3-6 primeiros dias após o nascimento e aumentou cerca de 10-20% aos 21 dias.

A estimativa da atividade da lipase pancreática por mg de pâncreas em função da idade também foi semelhante à atividade específica, representada no gráfico 16.

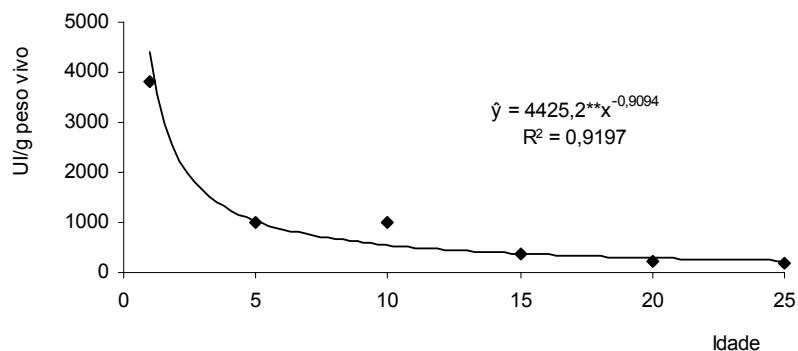


** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 16 - Estimativa da atividade da lipase pancreática por mg pâncreas (UI/mg pâncreas) em função da idade em dias

Com um dia de idade o valor da atividade foi bem maior que das outras idades, apresentando grande declínio no valor aos 5 dias e tendendo a estabilizar. Como este tipo de relação leva em consideração o aumento total da produção da lipase do pâncreas, quando estimamos atividade por mg de peso do órgão, pode-se quantificar se realmente houve aumento ou diminuição da produção desta enzima pelo órgão. Como o pâncreas nos cinco primeiros dias cresceu de forma alométrica, pode ter contribuído mais para a diminuição da relação que uma diminuição da atividade propriamente dita, mas a partir do quinto dia percebemos que a relação permaneceu estabilizada, pois o pâncreas continuou a crescer numa taxa menor. Diferente do encontrado por Pinchasov *et al.* (1990) que não observaram efeito da idade na atividade de lipase expressa em unidades/g de pâncreas.

A Figura 17 representa o comportamento da estimativa da atividade da lipase pancreática por peso vivo em função da idade.



** Significativo a 1% pelo teste t

Figura 17 - Estimativa da atividade da lipase pancreática por g de peso vivo (UI/g peso vivo) em função da idade em dias

Do primeiro para o quinto dia ocorre uma queda brusca da relação, e aos 10, 15, 20 e 25 dias ocorreu leve queda na atividade nesta relação. Da mesma forma como nas análises anteriores, como o peso corporal cresceu de forma linear e a atividade diminuiu do primeiro ao quinto dia, a relação mostrou queda intensa, mas quando a atividade aumentou ao décimo dia e depois tendeu a se estabilizar nas outras idades, a relação permaneceu praticamente constante com tendência de um leve declínio. Pinchasov *et al.* (1990) quando expressou o resultado em unidades/g de peso corporal, verificou diferença entre 20 e 33 dias de idade nas aves submetidos à alimentação intermitente, diferindo do resultado obtido no presente trabalho. De forma semelhante, Dunnington e Siegel (1995), observaram que a atividade relativa de lipase pancreática atingiu níveis mais elevados aos 8 dias e depois caiu até 15 dias de idade.

A atividade da lipase do quimo, representada na Figura 18, diminuiu do quinto para o décimo dia de idade, aumentou aos 15 dias, voltou a declinar aos 20 dias e novamente subiu aos 25 dias.

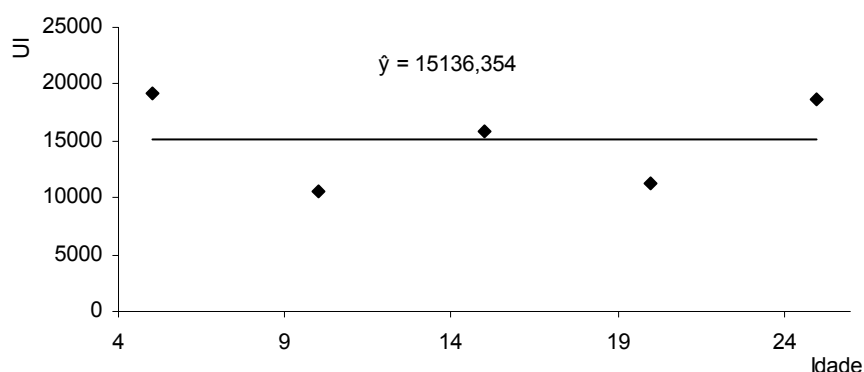


Figura 18 – Estimativa da atividade enzimática (UI) da lipase do quimo em função da idade em dias

Não há modelo estatístico que explique a relação entre os fatores demonstrando que a atividade da lipase do quimo está em função da idade. No primeiro dia de idade não foi possível coletar o conteúdo do quimo devido a pouca quantidade de conteúdo intestinal.

A atividade de lipase no conteúdo do intestino parece depender do teor de gordura na dieta, pois, rações com teores de gordura mais elevados produziram atividades de lipase mais altas (Krogdahl e Sell, 1989). Pinchasov *et al.* (1990) mostraram que a atividade das enzimas digestivas no intestino

delgado é correspondente com a quantidade de conteúdo intestinal e variam diariamente de acordo com o estado de alimentação. Esses autores verificaram ainda que a redução na atividade enzimática no conteúdo intestinal de aves com alimentação intermitente não foi acompanhada por um acúmulo de enzimas no pâncreas, sugerindo que a síntese de enzimas pancreáticas é também regulada pela presença do quimo no intestino. Muitas vezes, são observados picos de atividades enzimáticas que não são esperados, mas Krogdahl e Sell, (1989) supõem que podem estar associados a picos de secreção de sais biliares, e que estes podem otimizar a atividade das enzimas digestivas, inclusive da tripsina e quimotripsina.

A Figura 19 representa a atividade da lipase do quimo por peso de quimo coletado demonstrando redução no valor da atividade dos cinco para os 10 dias, tendendo a aumentar aos 25 dias de idade, sendo a idade que apresenta menor valor na atividade é de 19,71 dias.

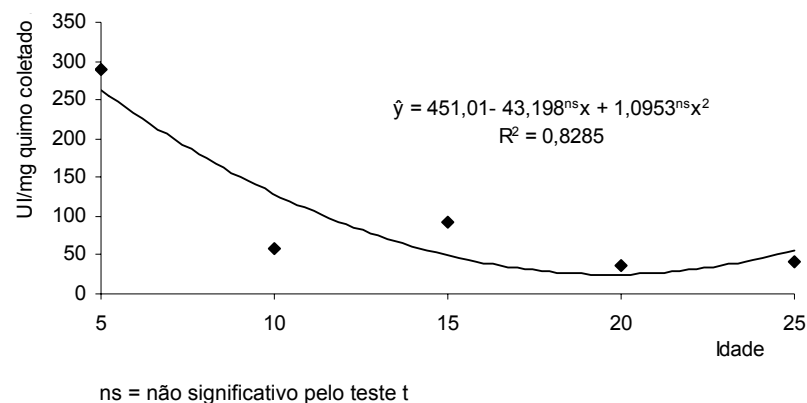


Figura 19 - Estimativa da atividade da lipase do quimo por mg de quimo coletado (UI/mg quimo) em função da idade em dias

Isto demonstra que a atividade da lipase não foi capaz de acompanhar um aumento do conteúdo de alimento ingerido pelo animal. Como foram avaliados apenas até os 25 dias de idade, não foi possível perceber se a tendência de crescimento da atividade nesta idade iria se manter. Talvez também, como os teores de gordura da ração não foram alterados com o decorrer da idade, a presença deste nível de nutriente na ração não foi capaz de estimular o pâncreas a produzir mais quantidade de lipase, podendo esta estar em níveis adequados e não limitantes no quimo.

O comportamento da atividade da lipase do quimo pelo peso vivo em função da idade, mostrado no gráfico 20, foi semelhante ao gráfico 19, onde ocorre declínio da atividade dos cinco aos 10 dias de idade, tendendo a aumentar no final do período de 25 dias e também apresenta menor valor de atividade aos 19 dias, como demonstra a linha de tendência da equação.

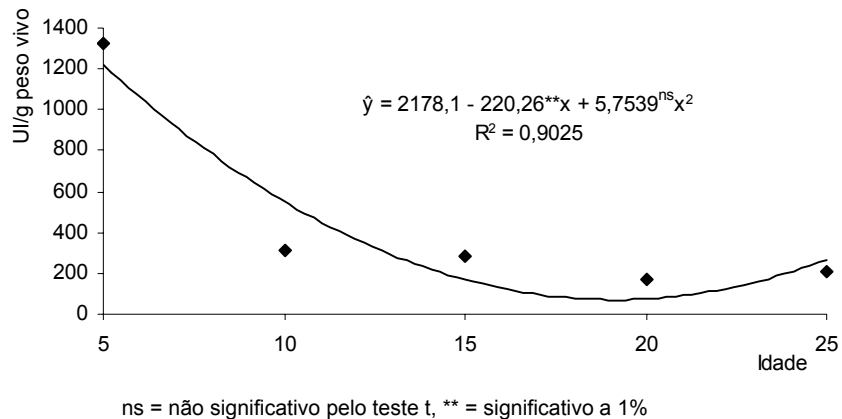


Figura 20 - Estimativa da atividade da lipase do quimo por g de peso vivo (UI/g peso vivo) em função da idade em dias

Como o animal teve crescimento de forma linear e a atividade não teve comportamento definido, a relação foi prejudicada pelo aumento do peso corporal dos animais.

5 – CONCLUSÕES

Os perfis das atividades específicas da amilase e lipase no pâncreas das codornas japonesas nas idades analisadas foram estabelecidos através de modelos que explicam bem o comportamento observado, estando em conformidade com outras espécies.

A atividade da amilase foi responsiva ao estímulo da dieta, e a lipase pancreática demonstrou uma queda nos primeiros dias e se manteve em níveis mais baixos no decorrer das outras idades.

São importantes novas análises, com níveis diferentes de lipídeos para podermos avaliar as respostas frente a novos estímulos.

O peso vivo aumentou de forma linear crescente com a idade, indicando que os níveis dos nutrientes da dieta foram adequados para o desempenho dos animais. Porém, para se estabelecer níveis ótimos de crescimento, novos experimentos devem ser desenvolvidos com outras relações de nutrientes, monitorando as atividades destas enzimas e comparando-as com os resultados deste experimento, a fim de se estabelecer relações que possam otimizar o máximo desempenho dos animais tanto para digestão de nutrientes quanto para ganho de peso.

Foi possível estabelecer modelos que explicam a biometria dos órgãos, onde apresentaram uma tendência de crescimento linear ao longo do período de 25 dias, mas quando comparado ao peso vivo, houve um comportamento alométrico do crescimento do pâncreas do primeiro ao quinto dia, estando em conformidade com outras espécies.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, C.S.S.; ARTONI, S.M.B.; ARAÚJO, L.F. *et al.* Avaliação do desempenho e excreção de cálcio em duas linhagens de frangos de corte, na fase inicial, alimentados com diferentes níveis de aminoácidos e de cálcio. **Rev. Bras. Ciência Avícola**, v.4, n.2, p.111-118, 2002.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 1 ed. São Paulo: Robe, 2003.

BATTLE, P. F.; PIERSMA, T. **Adaptive interplay between feeding ecology and features of the digestive tract**. In Starck, J.M. & T. Wang (eds). *Physiological and ecological adaptations to feeding in vertebrates*. Science Publishers, Enfield, USA, p.201-227, 2005.

BERG, J. M. S.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry**. 5th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2002. 974 p.

BRENES, A.; SMITH, M.; GUENTER, W.; MARQUARDT, R. R. Effect of enzymes supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat- and barley-based diets. **Poultry Science**, v.72, n.9, p.1731-1739, 1993.

CANÇADO, S. V.; BAIÃO, N. C. Efeitos do período de jejum entre o nascimento e o alojamento de pintos de corte e da adição de óleo à ração sobre o desenvolvimento do trato gastrintestinal e concentração de lipase. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.54, n.6, p.623-629, 2002.

CARAWAY, W. T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. **American Journal of Clinical Pathology**, v.32, n.6, p.97-99, 1959.

CASPARY, W. F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. **American Journal of Clinical Pathology**, v.55, n.1, p.299S–308S, 1992.

- CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v.27, n.1, p.146-156, 2004.
- CLEOPHAS, G. M. L.; VAN HARTINGSVELDT, W.; SOMERS, W. A. C.; VAN DER LUGT, J. P. Enzymes can play an important role in poultry nutrition. **World Poultry**, v.11, n.4, p.12-19, 1995.
- CORLESS, A.; J. L. SELL. The effects of delayed access to feed and water on the physical and functional development of the digestive system of young turkeys. **Poultry Science**, v.78, n.8, p.1158-1169, 1999.
- CORRING, T.; BOURDON, D. Exclusion of pancreatic exocrine secretion from intestine in the pig: existence of a digestive tract and the pig: existence of a digestive compensation. **Journal Nutrition**, v.107, n.7, p.1216-1221, 1987.
- D'AMICO, S.; GERDAY, C.; FELIER, G. Structural similarities and evolutionary relationships in chloride-dependent α -amylases. **Gene**, v.253, n.1, p.95-105, 2000.
- DIBNER, J. J. Early development of the digestive tract and the nutritional implications. **Poultry Digest**, v.1, n.1, p.16-18, 1997.
- DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Enzyme activity and organ development in newly hatched chicks selected for high or low eight-week body weight. **Poultry Science**, v.74, n.5, p.761-770, 1995.
- ESCRIBANO, F.; RAHN, B. E.; SELL, J. L. Development of lipase activity in yola membrana and páncreas of young turkeys. **Poultry Science**, v.67, n.7, p.989-1110, 1988.
- FANCHIOTTI, F. E.; MORAES, G. H. K.; OLIVEIRA, M. G. A.; ALBINO, L. F. T.; RODRIGUES, A. C. P. R.; REIS, E. L. R.; MONTEIRO, M. P. Efeitos de Níveis de Ácido L-Glutâmico e de Vitamina K da Dieta sobre a Atividade de

α -Amilase em Frangos de Corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v.34, n.2, p.541-547, 2005.

FIGUEIREDO, C. H. R.; AMARA, R. Importância e benefícios da dieta pré-inicial diferenciada para pintinhos na primeira semana. In: VII SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA E II SIMPÓSIO DE SUINOCULTURA – AVESUI CENTRO-OESTE. Goiânia, 2005, p.54-61.

GENTIE, M. J.; SAVORY, C. J. The effect of dietary dilution on the intestinal anatomy of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Res. Vet. Sci.**, v.19, n.3, p.284-7, 1975.

<http://www.avisite.com.br/noticias/maisnotss.asp?codnoticia=6334&codCategoria=3&Mes=12&Ano=2005>. Acessado em 12 de agosto de 2006.

HUGHES, B. L.; SUNIGA, R. G.; YARDLEY, D. G. Influence of amylase genotypes on growth rate and feed conversion of chickens. **Poultry Science**, v.73, n.7, p.953-957, 1994.

IKENO, T.; IKENO, K. Amylase activity increases in the yolk of fertilized eggs during incubation in chickens. **Poultry Science**, v.70, n.10, p.2176-2179, 1991.

JAEGER, K-E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Tibtech**, v.16, n.9, p.396-403, 1998.

JIN, S.-H.; CORLES, A. S.; SELL, J. L. Digestive system development in post-hatch poultry. **World's Poultry Science Association**, v.54, n.4, p.335-345, 1998.

KAWAHARA, T.; SAITO, K. Genetic parameters of organ and body weights in the Japanese quail. **Poultry Science**, v.55, n.4, p.1247-1252, 1976.

- KROGDAHL, A.; SELL, J. L. Influence of age on lipase, amylase and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. **Poultry Science**, v.68, n.11, p.1561-1568, 1989.
- KULKA, R. G.; DUKSIN, D. Patterns growth and α -amylase activity in the development chick pancreas. **Biochim. et Biophysica Acta**, v.91, p.506-514, 1964.
- LENHARDT, L.; CIGANKOVA, V.; ZIBRIN, M.; KOCISOVA, J.; TOMKOVA, I.; SABO, V.; BODA, K.; DADASHEVA, O. A.; GURIEVA, T. S.; MOZES, S. Functional development of small intestine of Japanese Quail hatched on MIR orbital station. **Acta Vet. Brno.**, v.70, n.2, p.127-137, 2001.
- LIMA, A. C. F.; PIZAURO Jr., J. M.; MACARI, M.; MALHEIROS, E. B.; Efeito do uso de probióticos sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J.. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.
- MAHAGNA, M.; NIR, I.; LARBIER, M.; NITSAN, Z. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. **Reprod. Nutr. Dev.**, v.35, n.2, p.201-212, 1995.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. F.; ROUTMAN, K S.; PIZAURO Jr, J. M.; MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.6, n.1, p.19-22, 2004.
- MATSUMOTO, T.; MAKIMOTO, S.; TANIGUSHI, Y. Effect of pressure on the mechanism of hydrolysis of maltotetrose, maltopentose and maltohexose

- catalyzed by porcine pancreatic α -amylases. **Bioch. Biophys. Act.**, v.1343, n.2, p.243-250, 1997.
- MORAN, E. T. Jr. Starch digestion in fowl. **Poultry Science**, v.61, n.17, p. 1257-1267, 1982.
- MORAN, E. T. Jr. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. **Journal Nutrition**, v.115, n.5, p.665-674, 1985.
- MONTEIRO, M. P. **Alfa-amilase em frangos de corte: efeitos do balanço eletrolítico e do nível protéico da dieta. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.** 2004. 46f.. (Dissertação Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- MONTEIRO, M. R. P.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. G. de A.; PIRES, C. V.; MOREIRA, M. A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases, **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.2, p.195-205, 2004a.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Poultry.** 9th ed., Washington, DC. National Academy Press 1994; p.155.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica.** Tradução: Arnaldo Antônio Simões. 3^a ed., São Paulo: Editora Sarvier, 2002, 975p.
- NIR, I.; NITSAN, Z.; MAHAGNA, M. Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks alter hatching. **British Poultry Science**, v.34, n.3, p.523-532, 1993.
- NIR, I. Mecanismos de digestão e absorção de nutrientes durante a primeira semana. In: CONFERÊNCIA APINCO'98 – IMPÓSIO INTERNACIONAL

- SOBRE MANEJO DE PINTOS DE CORTE. **Anais**. Campinas, p.82-91, 1998.
- NITSAN, Z.; BEN-AVRAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v.32, n.3, p.515-523, 1991a.
- NITSAN, Z.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**, v.70, n.10, p.2040-2048, 1991b.
- NITSAN, Z.; TURRO-VICENT, I.; LIU, G.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Incubation of weight-selected chicks with soybean oil or residual yolk: effect on early growth and development. **Poultry Science**, v.74, n.6, p.925-936, 1995.
- NOY, U.; SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chick. **Poultry Science**, v.74, n.2, p.366-373, 1995.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Journal Appl. Poultry Res.**, v.6, n.3, p.344-354, 1997.
- NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. 2 ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 1998. 387 p.
- OLIVEIRA, N. T. E. de; SILVA, M. de A. e; SOARES, R. da T. R. N. et al. Crude Protein and Metabolizable Energy Requirements for Japanese Quails Reared for Meat Production, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.675-686, 2002.
- PALO, P. E.; SELL, J. L.; PIQUER, F. J.; VILASECA, L.; SOTO-SALANOVA, M. F. Effect of early nutrient restriction on broiler chickens. 2. Performance and digestive enzyme activities. **Poultry Science**, v.74, n.9, p.1470-1483, 1995.

- PINCHASOV, Y.; NIR, I.; NITSAN, Z. Metabolic and anatomical adaptations of heavy-bodied chicks to intermittent feeding. 2. Pancreatic digestive enzymes. **British Poultry Science**, v.31, n.4, p.769-777, 1990.
- PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v.34, p.117-120, 1993.
- PINTO, R.; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; VARGAS Jr., J. G. Níveis de proteína e energia para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1761-1770, 2002.
- POPHAL, S.; MOZDZIAK, P. E.; VIEIRA, S. L. Satellite cell mitotic activity of broilers fed differing levels of lysine. **Int. Journal of Poultry Science**, v.3, n.12, p.758-763, 2004.
- REZENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; McMANUS, C.; OLIVEIRA, L. Q. M. Desempenho produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.6, n.3, p.353-358, 2004.
- RITZ, C. W.; HULET, R. M.; SELF, B. B.; DENBOW, D. M. Endogenous amylase levels and response to supplemental feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. **Poultry Science**, v.74, n.8, p.1317-1322, 1995.
- ROSTAGNO, H. S. **Fisiologia da digestão e absorção das aves**. Campinas: APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, p.43-58 (Carboidratos), 1994.
- SAKAMOTO, M. I.; MURAKAMI, A. E.; SOUZA, L. M. G. de; FRANCO, J. R. G.; BRUNO, L. D. G.; FURLAN, A. C. Valores energéticos de alguns alimentos alternativos para codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.818-821, 2006.

- SAKI, A. A. Effect of post-hatch feeding on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.1, p.4-6, 2005.
- SAVORY, C. J.; GENTLE, M. J. Effects of dietary dilution with fibre on the food intake and gut dimensions of Japanese quail. **British Poultry Science**, v.17, n.6, p.561-570, 1976.
- SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J.; MALLARINO, E. G.; AL-BATSHAN, H. A. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**, v.70, n.5, p.1200-1205, 1991.
- SMITH, E. L.; HILL, R. L.; LEHMAN, I. R.; LEFKOWITZ, R. J.; HANDLER, P.; WHITE, A. **Bioquímica: mamíferos**. Trad. por Patrícia Lydie Vouex Pinho. 7 Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620 p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa - MG, 2000.
- UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Development of the small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. **British Poultry Science**, v.37, n.1, p.63-71, 1995a.
- UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Post hatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light strain chicks. **Poultry Science**, v.74, n.4, p.1622-1629, 1995b.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Post hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v.77, n.1, p.75-82, 1998.
- YARDLEY, D. G.; GAPUSAN, R. A.; JONES, J. E.; HUGHES, B. L. The amylase gene-enzyme system of chickens. I. Allozymic and activity variation. **Biochemical Genetics**, v.26, n.11-12, p.11-12, 1988.

YI, G. F.; ALLEE, G. L.; KNIGHT, C. D.; DIBNER, J. J. Impact of glutamine and oasid hatchling supplement on growth performance, small intestine morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v.84, n.2, p.283-293, 2005.

YOON, S. H.; ROBYT, J. F. Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4^{IV}-α-maltohexaosyl and 4^{IV}-α-maltododecaosyl analogues. **Carbohydrate Res.**, v.338, n.19, p.1969-1980, 2003.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v.21, n.6, p.787-793, 1998.