



Efeito da manipulação térmica durante a incubação sobre as variáveis hematológicas, 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 variables, serum biochemistry and morphometry of cloacal bursa of Japanese quails submitted to chronic heat stress]

M.L. Porto¹, J.D. Fontenele-Neto²

¹Aluna de pós-graduação - Universidade Federal Rural do Semi-Árido - Mossoró, RN

²Universidade Federal Rural do Semi-Árido - 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 de 60%. A partir do sexto dia de incubação até a eclosão, as temperaturas foram ajustadas em 37,8°C (padrão), 38,5°C (intermediária) e 39,5°C (alta). Após a eclosão as codornas foram pesadas e distribuídas, em delineamento inteiramente ao acaso, 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, do fígado e do coração, para se determinar o peso absoluto (g), o peso relativo (%) e a área dos folículos bursais. Sangue foi coletado para realização do hemograma, do leucograma e da 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, do coração, da bolsa cloacal e na área dos folículos bursais, além de 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 60% humidity. From the 6th 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 bourse, liver and heart to determine the absolute weight (g), relative weight (%) and area of the bursal follicles. Blood was sampled for determination of 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, there was heterofilia, lymphopenia and increased heterophile/lymphocyte ratio. In conclusion, heat stress after 10 days of age can cause immunosuppression.

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

Recebido em 22 de novembro de 2018

Aceito em 27 de março de 2019

E-mail: marinalporto@yahoo.com.br

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 em boa parte do ano, gera 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 a qualidade dos ovos e a qualidade da carcaça, além de aumentar a taxa de mortalidade, resultando grandes prejuízos econômicos para o setor avícola (Kamel *et al.*, 2017).

O estresse térmico provoca múltiplas mudanças na fisiologia neuroendócrina das aves. Várias pesquisas relatam ativação contínua do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), o que promove o aumento dos níveis circulantes de corticosterona, resultando em maior catabolismo proteico, 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). Além disso, 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), bem como 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-tireoide 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 são nas vias regulatórias do estresse, o que diminui a taxa metabólica e aumenta a expressão de genes pró-angiogênicos no músculo. Isso potencializa a resposta vasomotora e, conseqüentemente, a perda de calor, bem como aumenta a expressão de genes antiapoptóticos, preservando a integridade das células durante um desafio térmico após a eclosão (Loyau *et al.*, 2016).

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 as variáveis hematológicas, 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 Semiárido (Ceua/Ufersa), sob nº. 37/2016. O ensaio de incubação foi realizado no laboratório multidisciplinar do Departamento de Biociência da Universidade Federal Rural do Semiárido (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, de 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[®]), cuja

Efeito da manipulação...

temperatura foi ajustada para 37,8°C e umidade relativa de 60%. No sexto 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 ao acaso, com três temperaturas de incubação (37,8, 38,5 e 39,5°C) e duas temperaturas ambientes (estresse e termoneuro). Para submeter as codornas japonesas a uma situação de estresse térmico crônico por calor, a temperatura permaneceu constante, do primeiro ao 40º dia de idade, em 40°C e umidade de ±60%. Para manter essa temperatura, foram utilizadas quatro lâmpadas de secagem infravermelha. 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 a 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/termoneuro), T5 (38,5°C/termoneuro) e T6 (39,5°C/termoneuro).

As aves receberam água e ração *ad libitum*; as rações foram formuladas à base de milho e soja, seguindo as recomendações nutricionais para idade (Rostagno, 2011). O manejo foi realizado diariamente às oito, 14 e 20 horas. 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, do fígado e do coração. Determinou-se o peso absoluto (g) e o peso relativo (%) dos órgãos pela seguinte 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 avaliadas 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, do leucograma e da 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 micro-hematócrito. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados por meio das fórmulas: VCM = hematócrito x 10/valor das hemácias e CHCM = hemoglobina x 100/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 a albumina (ALB) por meio 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 a albumina e foi, então, calculada a relação albumina:globulina. Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico SAS (Statistical..., 2001), versão 2001, em um esquema fatorial 3x2. 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 a temperatura ambiente, de tal forma que as codornas provenientes da manipulação térmica por calor durante a incubação com

temperatura de 38,5°C apresentaram maior peso relativo em situações de estresse térmico por calor (Tab. 1).

Tabela 1. Peso absoluto (g) e peso relativo (%) da bolsa cloacal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade, submetidas à manipulação térmica durante e após a eclosão. Cada valor representa a média de quatro 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	0,07B	0,11B	0,13B
	Termoneutra	0,04	0,49A	0,22A	0,17A
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	0,09bB	0,13	0,11
	38,5/estresse	0,16	0,17aA	0,12	0,11
	39,5/estresse	0,12	0,11bB	0,09	0,11
	37,8/termoneutro	0,14	0,18aA	0,22	0,11
	38,5/termoneutro	0,26	0,09bB	0,17	0,14
	39,5/termoneutro	0,16	0,16aA	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	0,11B	0,11B
	Termoneutra	0,18	0,14	0,19A	0,14A
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.

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 a temperatura de incubação e a temperatura ambiente para o peso relativo do fígado (Tab. 2).

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), quando a manipulação térmica durante a incubação com a temperatura de 39,5°C apresentou a melhor média ($< 0,05$) em

situação de estresse térmico por calor, aos 20 dias. Esse efeito, entretanto, não foi observado aos 30 dias, quando apresentou a menor média, assim como as codornas provenientes da temperatura de incubação de 37,8°C. Para o peso relativo do coração aos 30 dias, a manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 38,5°C apresentou a 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.

Efeito da manipulação...

Tabela 2. Peso absoluto (g) e peso relativo (%) do fígado de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade, submetidas à manipulação térmica durante e após a eclosão. Cada valor representa a média de quatro 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	1,42B	1,88B	2,44
	Termoneutra	1,07	1,66A	2,48A	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.

Os resultados do leucograma aos 30 e 40 dias de codornas japonesas encontram-se na Tab. 4. Aos 30 dias, não houve diferença ($P > 0,05$) entre a temperatura de incubação e a temperatura ambiente para os leucócitos, eosinófilos e monócitos. Para os basófilos, observou-se interação entre a temperatura de incubação e a temperatura ambiente, e a maior média ($P < 0,05$) foi observada nas codornas oriundas da manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 38,5°C, criadas em temperatura ambiente termoneutra. Os heterófilos também apresentaram interação entre os fatores estudados. Maiores médias foram observadas nas codornas provenientes da manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 39,5°C, criadas em situação de estresse térmico por calor, e nas codornas criadas em situação de

termoneutralidade provenientes da temperatura de 37,8°C.

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

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

Peso absoluto (g)		10 dias	20 dias	30 dias	40 dias
Tratamentos	37,8/estresse	0,31	0,63abA	1,06bB	1,38
	38,5/estresse	0,32	0,54bB	1,25bA	1,40
	39,5/estresse	0,42	0,70aA	1,07bB	1,29
	37,8/termoneutro	0,34	0,74aA	1,36aA	1,72
	38,5/termoneutro	0,38	0,72aA	1,39aA	1,51
	39,5/termoneutro	0,34	0,76aA	1,51aA	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	0,62B	1,12B	1,35B
	Termoneutra	0,35	0,74A	1,42A	1,57A
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	1,10b	1,12
	Intermediária (38,5°C)	1,05	1,24	1,26a	1,18
	Alta (39,5°C)	1,12	0,98	1,09b	1,13
TA	Estresse	1,04	1,00	1,09B	1,05B
	Termoneutra	1,07	1,17	1,21A	1,24A
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.

Houve interação ($P < 0,05$) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente, aos 40 dias de idade, para as seguintes variáveis: leucócitos, heterófilos, linfócitos e relação heterófilo/linfócito, sendo as maiores médias observadas nos leucócitos e linfócitos nas codornas oriundas da temperatura de incubação de 37,8°C, 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 de 38,5°C, com as codornas sendo criadas em situação de estresse térmico por calor (Tab. 4). 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/linfócito, e a menor média foi observada para os linfócitos. Para o fator temperatura de incubação, as

maiores médias foram observadas nos leucócitos na temperatura de incubação de 37,8°C, monócitos nas temperaturas de 38,5 e 39,5°C e para relação heterófilo/linfócito com temperatura de 38,5°C.

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os fatores temperatura de incubação e temperatura ambiente no eritrograma e no proteinograma de codornas japonesas aos 30 e 40 dias de idade. A área dos folículos bursais de codornas japonesas foi afetada por temperatura ambiente e temperatura de incubação, mas não houve interação entre os dois fatores aos 20, 30 e 40 dias (Tab. 5). Codornas provenientes da temperatura de incubação de 38,5°C, criadas em situação de estresse térmico por calor apresentaram os piores resultados.

Efeito da manipulação...

Tabela 4. Leucócitos (Leu), heterófilos (H), linfócitos (L), eosinófilos (E), monócitos (M), basófilos (B) e relação heterófilo/linfócito (H/L) de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 30 e 40 dias de idade, submetidas à manipulação térmica durante e após a eclosão. Cada valor representa a média de quatro observações

Leucograma		Leu	H	L	E	M	B	H/L
30 dias		(μL^{-1})	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Tratamentos	37,8/estresse	2.575,0	26,25bB	63,25aA	3,00	6,50	1,25bB	0,45bB
	38,5/estresse	2.875,0	32,00aB	52,25aB	2,75	7,00	1,00bcB	0,57bB
	39,5/estresse	3.112,5	42,75aA	31,75cB	4,50	3,75	1,25bB	1,35aA
	37,8/termoneutro	2.687,5	37,25aA	54,75bA	2,75	4,25	1,25bB	0,68bB
	38,5/termoneutro	3.262,5	27,00bB	62,75aA	3,25	5,75	1,75aA	0,44bcB
	39,5/termoneutro	2.706,2	22,00bB	61,00aA	2,25	8,00	0,75cB	0,34bcB
TI	Padrão (37,8°C)	2.631,2	31,75	59,00a	2,87	5,37	1,25bB	0,56b
	Intermediária (38,5°C)	3.068,7	29,5	57,5a	3,00	6,37	1,37	0,50b
	Alta (39,5°C)	2.909,3	32,37	46,37b	3,37	5,87	1,00	0,84a
TA	Estresse	2.854,1	33,66	49,08B	3,41	5,75	1,16	0,79A
	Termoneutra	2.858,4	28,75	59,5A	2,25	6,00	1,25	0,48B
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
Leucograma 40 dias		Leu(μL^{-1})	H(%)	L(%)	E(%)	M(%)	B(%)	H/L
Tratamentos	37,8/estresse	3.075,0aA	36,00bB	59,00aA	3,25	1,50	0,75	0,61bB
	38,5/estresse	2.000,0bB	60,00aA	30,00cB	3,50	5,75	0,75	2,09aA
	39,5/estresse	2.075,0bB	36,25bB	43,50bB	3,75	6,25	1,00	0,93bB
	37,8/termoneutro	1.775,0bB	44,25bB	45,75bA	3,00	5,00	0,50	1,00bB
	38,5/termoneutro	1.975,0bB	28,00cB	63,75aA	1,75	6,75	1,00	0,46cbB
	39,5/termoneutro	2.000,0bB	33,75bB	51,50abA	2,00	4,25	1,00	0,70bB
TI	Padrão (37,8°C)	2.425,0a	40,12	52,37	3,12	3,25b	0,62	0,80b
	Intermediária (38,5°C)	1.987,5b	42,5	46,87	2,62	6,25a	0,87	1,27a
	Alta (39,5°C)	2.037,5b	35,00	47,50	2,87	5,25a	1,00	0,81b
TA	Estresse	2.383,3A	44,08A	44,16B	3,5A	4,5	0,83	1,21A
	Termoneutra	1.916,6B	35,33B	53,66A	2,25B	5,33	0,83	0,72B
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).

Tabela 5. Médias da área dos folículos bursais (μm^2) de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) com 10, 20, 30 e 40 dias de idade, submetidas à manipulação térmica durante e após a eclosão. Cada valor representa a média de quatro observações

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

A bolsa cloacal é um órgão linfoide presente apenas em aves, responsável pela proliferação e maturação dos linfócitos B e, conseqüentemente, pela produção de anticorpos. Apresenta grande importância na imunidade humoral e na memória imunológica das codornas (Nagy *et al.*, 2004). No presente estudo, o estresse térmico por calor reduziu o peso da bolsa cloacal e a área dos folículos bursais, a partir do 20º dia de idade, sendo indicativo de depleção linfocitária e atrofia do mesmo. Segundo Borges *et al.* (2004), o estresse térmico por ca. lor promove atrofia do timo, do baço e da bolsa cloacal e, com isso, redução no número de linfócitos circulantes. Os autores sugerem que a redução do peso dos órgãos linfoides é um bom indicativo para determinar estresse térmico em aves. Esses resultados corroboram Safdari-Rostamabad *et al.* (2016), que relataram que o aumento de 1°C acima da zona de conforto térmico, no período de 29 a 42 dias de idade, em frangos de corte, reduziu o peso da bolsa cloacal, do timo e a produção de anticorpos. Akbar e Qureshi (2012), ao estudarem o efeito da estação do ano sobre a morfometria da bolsa cloacal de codornas japonesas com 140 semanas de idade, observaram que, durante o verão, ocorre redução significativa no peso, no comprimento, na espessura, na largura e na área dos folículos bursais.

Resultados diferentes ao observados no presente estudo foram relatados por Rouhalamini *et al.* (2014), em cujo estudo o estresse térmico por calor em codornas japonesas não reduziu o peso da bolsa cloacal, do timo e do baço. Os autores atribuem esse fato à suplementação da dieta com zinco e cromo, a qual reduz os radicais livres liberados pelo aumento dos níveis circulantes de corticosterona em situação de estresse.

Anteriormente, foi relatado que expor os embriões à alta temperatura durante a incubação melhora sua capacidade de se adaptar a ambientes quentes após a eclosão (Piestun *et al.*, 2009). No entanto, no presente estudo, a manipulação térmica durante a incubação não influenciou o peso da bolsa cloacal, porém, a partir dos 20 dias de idade, as codornas provenientes da temperatura de incubação padrão de 37,8°C e da manipulação térmica com temperatura de 39,5°C apresentaram as melhores médias para a área dos folículos bursais, tanto nas codornas criadas em temperatura ambiente alta quanto naquelas criadas em situação de termoneutralidade. Esse resultado pode caracterizar adaptação térmica epigenética nas codornas submetidas a altas temperaturas após a eclosão, uma vez que a temperatura de 39,5°C, por 12 horas, aumenta a expressão de genes antiapoptóticos, preservando a integridade das células durante um desafio térmico após a eclosão (Loyau *et al.*, 2016).

Efeito da manipulação...

Resultados semelhantes foram observados por Leandro *et al.* (2017), em que a manipulação da temperatura de incubação com 39,5°C, por seis 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, independentemente da idade da matriz. Segundo Zimmer *et al.* (2017), o aumento dos níveis circulantes de corticosterona no embrião de codornas japonesas promove alterações comportamentais e fisiológicas, tornando-as mais hábeis em responder aos desafios térmicos durante sua vida, e essas adaptações são transmitidas para seus descendentes até a terceira geração. Para esses autores, essas adaptações estão relacionadas ao aumento da expressão de receptores para corticosterona no hipotálamo e na hipófise e, assim, 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 Ozurlu *et al.* (2010), uma vez que o aumento da temperatura de incubação para 38,5°C, por 24 horas, retardou o desenvolvimento do timo e da bolsa cloacal durante a incubação e após a eclosão em comparação às aves incubadas na temperatura padrão. No presente estudo, a área dos folículos bursais das codornas provenientes da temperatura de incubação de 38,5°C foi reduzida após a eclosão, tanto nas codornas submetidas ao estresse térmico quanto 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 e à intensidade da exposição ao calor na espécie estudada.

Os resultados obtidos demonstram que o estresse térmico por calor aos 20 e 30 dias reduziu o peso absoluto do fígado. É possível que a redução do fígado seja um mecanismo de controle da temperatura interna, uma vez que esse órgão possui alta taxa metabólica e consequente alta produção de calor. Segundo Mohamed *et al.* (2015), o estresse térmico por calor em codornas provoca necrose dos hepatócitos e esteatose hepática; isso é um reflexo da ação da

corticosterona, que intensifica a lipólise do tecido adiposo subcutâneo e estimula a lipogênese nos órgãos da cavidade abdominal, sobrecarregando o fígado.

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, da albumina, das globulinas e da relação albumina/globulina aos 30 e 40 dias de idade. Resultados semelhantes foram observados por El-Kholy *et al.* (2017), em codornas japonesas, e por Berrama *et al.* (2018), em frangos de corte, em que o aumento da temperatura não alterou os valores da bioquímica sérica em codornas japonesas. No entanto, diferentemente do resultado observado no presente estudo, o peso do fígado não foi alterado. E que o aumento da temperatura não alterou os valores da bioquímica sérica em codornas japonesas. No entanto, diferentemente do resultado observado no presente estudo, o peso do fígado não foi alterado.

Segundo Safdari-Rostamabad *et al.* (2016), o estresse térmico por calor em frangos de corte reduz o peso do fígado e a concentração de proteínas totais. Os autores atribuem esse fato à redução no consumo de proteína e na digestibilidade em condições de estresse térmico. Nazar *et al.* (2018a) observaram redução nas proteínas totais e globulinas em codornas submetidas ao estresse térmico por calor por nove dias, por um período de duas horas ao dia. No entanto, não observaram diferença para albumina. De acordo com os autores, além de transportar hormônios, proteínas e lipídios, outra função desempenhada pela albumina é a antioxidante, sendo extremamente importante em situações de estresse, quando ocorre o aumento dos radicais livres.

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), em cujo estudo o aumento da temperatura de incubação para 40°C, por três horas, entre o sexto e o oitavo dia de incubação de frangos, reduziu o peso do fígado. No entanto, Sgavioli *et*

al. (2015) observaram que frangos derivados da temperatura de incubação de 39,0°C apresentam maiores pesos absoluto e relativo de fígado em comparação àqueles 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, e os principais parâmetros afetados são aumento no número de heterófilos e 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 glicocorticoide. 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. Esses eventos são desencadeados pelo aumento dos níveis circulantes da corticosterona, a qual promove redistribuição dos linfócitos do sangue para os órgãos linfoides, produzindo conseqüentemente a linfopenia. Em situação de termoneutralidade, 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 e Siegel (1983), as codornas, mesmo em situação de termoneutralidade, ainda apresentam situação de estresse moderado.

Corroborando o presente estudo, Chand *et al.* (2014) encontraram diminuição dos leucócitos totais, linfócitos e monócitos em frangos submetidos ao estresse térmico cíclico por calor. Nazar *et al.* (2018b) observaram que estresse térmico por calor em codornas japonesas aumenta de forma linear a relação H/L até o nono dia em situação de estresse e que, após as codornas retornarem para a situação de termoneutralidade, é necessário o período de nove dias para que a relação H/L retorne aos 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. Essa melhora na relação H/L em situação de estresse é devido à ação antioxidante e imunestimulante do timol.

A manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 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/linfócito aos 40 dias após eclosão. Segundo Oznuurlu *et al.* (2010), a relação H/L durante o desenvolvimento embrionário é maior do que após eclosão, independentemente da temperatura de 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 à ação de patógenos após eclosão. Segundo Al-Rukibat *et al.* (2016), a manipulação térmica durante a incubação, com as temperaturas de 38,5 e 40,4°C, não foi capaz de aumentar a capacidade de termotolerância de frangos submetidos ao desafio térmico por calor aos 42 dias, quando 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. No entanto, os dados do hematócrito, das hemácias, da hemoglobina, do VCM e da CHCM do presente estudo não foram influenciados pela temperatura de incubação e pela temperatura ambiente. Resultados semelhantes foram observados por 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 reduz a concentração do hematócrito e a quantidade de hemácias em frangos de corte. Berrama *et al.* (2018) observaram que o condicionamento térmico precoce aos cinco dias de idade em frangos de corte altera os parâmetros sanguíneos de aves desafiadas termicamente na vida adulta,

promovendo aumento no hematócrito, no 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. Mohamed *et al.* (2015) e El-Kholy *et al.* (2017) encontraram 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. 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 no peso relativo a partir dos 30 dias, nas codornas submetidas ao estresse térmico por calor. A manipulação térmica durante a incubação com temperatura de 39,5°C reduziu o peso do coração aos 30 dias. Resultados semelhantes foram observados por 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 diferentes 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 esse fato ao efeito cardioprotetor do selênio.

CONCLUSÕES

O estresse térmico por calor em codornas japonesas causa depleção de linfócitos, o que reduz o peso e a área dos folículos bursais a partir dos 20 dias de idade, além de desencadear heterofilia, linfopenia e redução do fígado e do 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, p.172-182, 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*). *Pak. Vet. J.*, v.32, p.525-529, 2012.
- 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, p.789-796, 2013.
- 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, p.234-240, 2016.
- 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, p.1039-1048, 2018.
- BORGES, S.A.; FISCHER, 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, 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, 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, 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, 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, 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, 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, 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, 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, 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. Bras.*, 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, 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, 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 Rev. J. Agric. 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, p.328-339, 2004.
- 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, p.257-266, 2018b.
- 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. *Animal*, v.9, p.1-8, 2018a.
- OZNUURLU, 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, 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, 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, p.1605-1610, 2011.
- ROSTAGNO, H.S. *Tabelas brasileiras para aves e suínos*. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Vicosa: Universidade Federal de Vicosa, 2011. p.186.
- 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, 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, 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. *Rev. Bras. Ciênc. Avic.*, v.17, p.181-189, 2015.
- STATISTICAL analysis system. Cary: SAS Institute, 2001.
- 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.