



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ANA CAROLINA FERREIRA DOS SANTOS

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTÇÃO IDEAL DE ZINCO E MANGANÊS
COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA
POSTURA**

RECIFE – PE

2024

ANA CAROLINA FERREIRA DOS SANTOS

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE ZINCO E
MANGANÊS COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS
LEVES NO INÍCIO DA POSTURA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Área de concentração: Zootecnia

Orientadora: Profa. Dra. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso

Coorientadores: Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Profa. Dra. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke

RECIFE – PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S237e Santos, Ana Carolina Ferreira dos.
Estimativa da suplementação ideal de zinco e manganês complexados
A aminoácidos para poedeiras leves no início da postura / Ana Carolina
Ferreira dos Santos. - Recife, 2024.
84 f.: il.

Orientador(a): Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-Graduação em Integrado em Zootecnia, Recife, BR-PE,
2024.

Inclui referências.

1. Aves domésticas – Alimentação e rações 2. Enzimas 3. Ingestão
4. Minerais na nutrição animal 5. Ovos - Produção I. Manso, Helena Emília
Cavalcanti da Costa Cordeiro, orient. II. Título

CDD 636



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE ZINCO E MANGANÊS
 COMPLEXADOS A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA
 POSTURA**

Tese elaborada por:

ANA CAROLINA FERREIRA DOS SANTOS

Aprovada em 27/09/2024

BANCA EXAMINADORA:



Documento assinado digitalmente

HELENA EMÍLIA CAVALCANTI DA COSTA CORDEI
 Data: 21/11/2024 10:44:52-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso

Universidade Federal Rural de Pernambuco

(PRESIDENTE)

Documento assinado digitalmente



CARLOS BOA VIAGEM RABELLO
 Data: 21/11/2024 14:18:14-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Documento assinado digitalmente



LILIAN FRANCISCO ARANTES DE SOUZA
 Data: 21/11/2024 09:54:53-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Documento assinado digitalmente



PRISCILA ANTÃO DOS SANTOS
 Data: 21/11/2024 13:10:29-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Priscila Antão dos Santos

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Documento assinado digitalmente



HERALDO BEZERRA DE OLIVEIRA
 Data: 21/11/2024 12:27:06-0300
 Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Heraldo Bezerra de Oliveira

Instituto Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor meu **Deus**, por toda misericórdia, por cada ‘SIM’ e cada ‘NÃO’ e por todas as vezes em que os nossos planos divergiram, os seus terem prevalecidos.

Agradeço também **Eloah**, por todo cuidado que sempre teve por mim e que é perceptível desde o meu nascimento, ao me entregar aos cuidados dos meus avôs, Ivone Heráclio e Luiz Ferreira (*In memoriam*), eles foram os melhores pais que alguém poderia ter, os amo para além da vida.

Além deles **Adonai**, ainda me é perceptível o seu toque de carinho pela presença de tio Telson e tia Telma (*In memoriam*) na minha vida. Tio Telson é fantástico, bondoso, acolhedor, honesto e trabalhador. Ele segurou diversas barras e ficou quando todos fugiram. Já sobre tia Telma, nunca conheci alguém que acreditasse tanto no poder transformador que a educação tem, se estou onde estou, devo a ela, sem dúvidas.

E na ausência de irmãos **Yahweh**, o Senhor me concedeu Danielli e Daniel, eles são meus melhores amigos, confidentes e conselheiro. A Dani, ainda é mãe de Luisa (minha afilhada) que tenho certeza que nasceu com o único motivo de tornar minha vida mais feliz e acarinhar meu coração. Muito obrigada por eles.

Jeová Rafah, uma vez li em algum lugar, que mais importante do que saber quais guerras devemos lutar e saber quem as guerreará conosco. E isso me fez muito sentido. Agradeço ao Senhor pelo Rogério, Waleska, Heraldo, Lidiane, Andresa, Sharlane, Gabriel, Dayane, Apolônio, Ana Gabriela, Camila, Webert, Daniela, Stefane, Ju oliveira e Ju Ferreira. Nos dias atuais, ter pessoas que além de torcerem por você, ainda lhe estendem a mão quando você cai é privilégio. Por diversas vezes ouvi você não vai parar, estamos aqui! Peço Senhor, que para onde quer que eu vá o Senhor continue me cercado de pessoas como eles.

Elohim, obrigada também por me conceder a amizade do Daniel Jimenez ou também conhecido por Peter Pan ou babaca. Um dia ele cresce, Deus. A nossa amizade se baseia em pessoas complementares, o que sobra nele, falta em mim e vice versa. Eu sou quadrada e ele fora da caixinha, eu sou arengueira e ele da paz, tenho medo de tudo e ele de quase nada, sou emotiva e ele racional, ele diz que me protege com suas ‘boascumbas’ e eu o protejo com minhas orações. E o que nos uni é carinho, respeito e admiração que nutrimos um pelo outro. Ei 5° série te gosto muito, sua amizade é importante para mim.

Javé, agradeço por toda paciência, oportunidades, ensinamentos, eu já disse paciência?! rs, que me foram dados pelos professores Carlos, Helena, Maria do Carmo e Lilian. Senhor, eles foram luz na minha vida e, dessa forma, peço que senhor os abençoe e traga muita luz para vida deles.

Obrigada Senhor por todos os anos de aprendizados que tive na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Sem dúvidas vivi tantas coisas boas nela, aprendi, cresci, fiz irmão, amadureci e agora chega a hora de ir, irei, mas com o coração transbordando de gratidão.

El Shaddai, ainda lhe sou grata pela oportunidade de ter sido Bolsista CAPES e participar do experimento Zinpro que forneceu os minerais e apoiou na realização da pesquisa.

Senhor agradeço também por toda a ajuda que me foi dada pelos técnicos Carlos, Júlio e Vanessa. E todos demais que contribuíram de forma direta e indireta para execução dessa pesquisa.

E por **YHWH**, peço Senhor, que faça coisas incríveis por cada pessoa citada acima, coisas que ouvido nenhum ainda tenha ouvido, que olhos nenhum tenha visto, que realize sonhos que ainda nem mesmo tenham chegado aos seus corações, e o principal Deus, guarda o coração de cada um deles para continuarem sendo faróis para quem precisar.

“Não te mandei eu? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desamine, porque o Senhor, teu Deus, é contigo por onde quer que andares”

Josué 1:9

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi estimar o consumo ideal do zinco e manganês complexados a aminoácidos, com base no desempenho produtivo, perfil bioquímico e qualidade físico-química das tíbias. Dessa forma dois experimentos foram desenvolvidos, em cada um foram utilizados 216 aves com dezesseis semanas de idade da linhagem Dekalb White, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 6 aves cada. Os tratamentos tanto no experimento zinco quanto do manganês consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas variando apenas os níveis de inclusão de MnAA ou ZnAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹. As ingestões de Zn e Mn para as variáveis de desempenho foram calculadas pelo modelo $Y = R_{max} \cdot (1 - e^{-bx})$, onde R_{max} é a resposta máxima, e é o número de Euler, b é a taxa de crescimento e x é a ingestão do mineral. E a estimativa dos minerais para essas variáveis foram calculadas pela inversão do modelo. Posteriormente os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). A ingestão do Zn e Mn para os parâmetros sanguíneos e ósseos foram calculadas pelos modelos $Min = R_{max} \cdot x / (k_m + x)$ e $Min = -r \ln((-y - R_{min} - \ln(y - R_{min})/s))$, onde: R_{max} é a resposta máxima, k_m é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de mineral. A estimativa dos minerais para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Dessa forma no experimento I foi possível estimar a suplementação de Mn em: 3,45; 3,11; 3,22; 3,05; 3,09; 3,40; 3,16; 3,39; 3,20; 3,08; 3,32; 3,39; 3,19 e 2,85 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para produção de ovos (PR), massa de ovos (MO), peso do oviduto (POV), peso do fígado (PF), hematócrito (HTC), hemoglobina (HGB), proteína plasmática total (PPT), volume corpuscular médio (VCM), ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), peso ósseo (PO), densitometria óssea medial (DOM) e resistência óssea (RO), respectivamente. No experimento II foi possível estimar a suplementação ideal de Zn em: 3,01; 2,88; 3,12; 3,04; 2,83; 2,81; 3,03; 2,99; 2,49; 2,85; 3,01; 2,98; 3,04; 3,10 e 3,09 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para produção de ovos (PR), peso de ovos (PO), massa de ovos (MO), leucócitos (LEU), proteína plasmática total (PPT), volume corpuscular médio (VCM), ácido úrico (AUR), albumina (ALB), proteínas totais (PT), aspartato aminotransferase (AST), peso ósseo (PO), comprimento ósseo (CO), densitometria óssea proximal (DOP), densitometria óssea medial (DOM) e resistência óssea (RO), respectivamente. Diante dos resultados encontrados neste estudo, concluímos que a recomendação para suplementação de MnAA para poedeiras de 16 a 26 semanas é de 3,45 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (37,48 mg kg⁻¹) e a de Zn é de 3,12 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (33,8 mg kg⁻¹) considerando o desempenho produtivo, homeostase hematológica e bioquímica, bem como a qualidade óssea.

PALAVRAS-CHAVES: Exigência Nutricional, Fitase, Ingestão Suplementar, Minerais Complexados, Produção de ovos

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the ideal intake of zinc and manganese complexed with amino acids, based on productive performance, biochemical profile, and the physical-chemical quality of the tibias. Two experiments were conducted, each involving 216 sixteen-week-old Dekalb White hens distributed in a completely randomized design with 6 treatments and 6 replications of 6 birds each. The treatments in both the zinc and manganese experiments consisted of isonutritive and isoenergetic experimental diets, varying only in the levels of inclusion of MnAA or ZnAA at: 5, 15, 25, 35, 55, and 75 mg kg⁻¹. Zinc and manganese intakes for performance variables were calculated using the model $Y = R_{max} \cdot (1 - e^{(-b \cdot x)})$, where R_{max} is the maximum response, e is Euler's number, b is the growth rate, and x is the mineral intake. Mineral estimates for these variables were calculated by inverting the model. Data were subsequently adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). Zinc and manganese intakes for blood and bone parameters were calculated using the models $Min = R_{max} \cdot x / (K_m + x)$ and $Min = -r + \ln((-y - R_{min} - amp) / (y - R_{min}) / s)$, where R_{max} is the maximum response, K_m is a biological function parameter, and x is the mineral intake. Mineral estimates for each variable were calculated by inverting the models. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). In Experiment I, the Mn supplementation estimates were: 3,45; 3,11; 3,22; 3,05; 3,09; 3,40; 3,16; 3,39; 3,20; 3,08; 3,32; 3,39; 3,19 and 2,85 mg bird⁻¹ day⁻¹ for egg production (PR) and egg mass (MO), oviduct weight (POV), liver weight (PF), hematocrit (HTC), hemoglobin (HGB), total plasma protein (PPT), mean corpuscular volume (MCV), uric acid (AUR), albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), bone weight (BW), medial bone densitometry (MBD), and bone resistance (BR), respectively. In Experiment II, the ideal Zn supplementation estimates were: 3.01; 2.88; 3.12; 3.04; 2.83; 2.81; 3.03; 2.99; 2.49; 2.85; 3.01; 2.98; 3.04; 3.10 and 3.09 mg bird⁻¹ day⁻¹ for egg production (PR), egg weight (EW), egg mass (MO), leukocytes (LEU), total plasma protein (PPT), mean corpuscular volume (MCV), uric acid (AUR), albumin (ALB), total proteins (TP), aspartate aminotransferase (AST), bone weight (BW), bone length (BL), proximal bone densitometry (PBD), medial bone densitometry (MBD), and bone resistance (BR), respectively. Based on the results of this study, we conclude that the recommended supplementation for MnAA for layers from 16 to 26 weeks is 3.45 mg bird⁻¹ day⁻¹ (37.48 mg kg⁻¹) and for Zn is 3.12 mg bird⁻¹ day⁻¹ (33.8 mg kg⁻¹), considering productive performance, hematological and biochemical homeostasis, as well as bone quality.

KEYWORDS: Nutritional requirement, Phytase, Supplemental intake, Complexed minerals, Egg production

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Absorção transcelular do zinco pelas células intestinais (Goff, 2018).....	23
Figura 2 Absorção transcelular de Manganês no enterócito (Goff, 2018).....	23

CAPITULO I

Figura 1 Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental	41
Figura 2 Classificação de ovos.....	45
Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis: produção de ovos e massa de ovo baseada no consumo de MnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comerciais.....	50
Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima do peso do oviduto e fígado baseada no consumo de MnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comerciais	51
Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima do hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática total e volume corpuscular médio baseada no consumo de MnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comerciais.....	52
Figura 6 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis ácido úrico, albumina e aspartato aminotransferase baseada no consumo de MnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	53
Figura 7 A linha azul representa a resposta máxima do peso ósseo, densitometria óssea medial e resistência óssea baseada no consumo de MnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	54
Figura 8 Comparação entre as distintas recomendações de suplementações de Mn.....	55

CAPÍTULO II

Figura 1 Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental.....	67
Figura 2 Classificação dos ovos de acordo com o peso.....	71
Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima da produção de ovos, peso de ovo e massa do ovo baseada no consumo de ZnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	75
Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima de leucócitos, proteína plasmática total e volume corpuscular médio baseada no consumo de ZnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	76
Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima de ácido úrico, albumina, proteína total e aspartato aminotransferase corpuscular médio baseada no consumo de ZnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	77
Figura 6 A linha azul representa a resposta máxima do peso ósseo, comprimento ósseo, densitometria óssea proximal, densitometria óssea medial e resistência óssea baseada no consumo de ZnAA (mg ave ⁻¹ dia ⁻¹) para poedeiras comercial.....	79
Figura 7 Comparação entre as distintas recomendações de suplementações de Zn.....	79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais complexados nas dietas experimentais nas fases de pré-postura e início da postura	42
Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de pré- postura (16 A 17° semana).....	43
Tabela 3 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de postura (18 a 26° semana).....	43
Tabela 4 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P das dietas experimentais das fases de pré-postura e início da postura	44
Tabela 5 Desempenho produtivo de poedeiras comerciais no início da produção (20 a 26° semana) alimentadas com níveis crescentes de manganês complexado a aminoácidos.	49
Tabela 6 Peso dos órgãos de poedeiras comerciais suplementadas com níveis crescentes de MnAA.....	50
Tabela 7 Hemograma de galinha poedeiras (25 semanas de idade) suplementadas com níveis crescentes de inclusão de Mn-AA	51
Tabela 8 Bioquímica sérica de poedeiras comerciais com 25 semanas suplementadas com níveis crescentes de MnAA	53
Tabela 9 Avaliação óssea de poedeiras comerciais (26 semanas) suplementadas com MnAA	54

CAPÍTULO II

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais complexados nas dietas experimentais nas fases de pré-postura e início da postura	67
Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de pré- postura (16 a 17° semana).....	67
Tabela 3 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de postura (18 a 26° semana).....	68
Tabela 4 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P das dietas experimentais das fases de pré-postura e início da postura	69
Tabela 5 Desempenho produtivo de poedeiras comerciais no início da produção (20 a 26° semana) alimentadas com níveis crescentes de manganês complexado a aminoácidos.	74
Tabela 6 Peso dos órgãos de poedeiras comerciais suplementadas com níveis crescentes de ZnAA	75
Tabela 7 Hemograma de galinha poedeiras (25 semanas de idade) suplementadas com níveis crescentes de inclusão de ZnAA	76

Tabela 8 Bioquímica sérica de poedeiras comerciais com 25 semanas suplementadas com níveis crescentes de ZnAA. 77

Tabela 9 Avaliação óssea de poedeiras comerciais (26 semanas) suplementadas com ZnAA 78

LISTA DE ABREVIACÕES

AAFCO - Association of American Feed Control Officials

AAOC - Association of Official Analytical Chemists

AC – Anidrase carbônica

ALB – Albumina

AST – Aspartato aminotransferase

Ca – Cálcio

CDZ- Conversão por dúzia de ovos;

CM- Conversão por massa de ovos

CO – Comprimento ósseo da tíbia

CR -Consumo de ração

Cu – Cobre

DOD – Densitometria óssea distal da tíbia

DOM – Densitometria óssea medial da tíbia

DOP – Densitometria óssea proximal da tíbia

FA – Fosfatase alcalina

Fe – Ferro

GLOB - Globulina

HEM – Hemácias

I – Iodo

IS - índice de Seedor

LEU – Leucócitos

Mn – Manganês

MnAA- Manganês complexado a aminoácidos

MO -Massa dos ovos

P – Fósforo

PO – Peso ósseo da tíbia

PO -Peso dos ovos

PR- Produção de ovos

RO – Resistência óssea

Se – Selênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. IMPORTÂNCIA DOS MINERAIS TRAÇOS ZINCO E MANGANÊS PARA AVES	18
2.1. IMPORTÂNCIA DO ZINCO PARA POEDEIRAS NA FASE DE PRODUÇÃO.....	18
2.2. IMPORTÂNCIA DO MANGANÊS PARA POEDEIRAS NA FASE DE PRODUÇÃO	19
3. ZINCO E MANGANÊS: DIGESTÃO, ABSORÇÃO E METABOLISMO.....	20
3.1. DIGESTÃO	20
3.2. ABSORÇÃO DOS MICROMINERAIS.....	20
3.2.1. ABSORÇÃO DO ZINCO (FONTE INORGÂNICA)	20
3.2.2. ABSORÇÃO DO MANGANÊS (FONTE INORGÂNICA).....	22
3.3. METABOLISMO E EXCREÇÃO DO ZINCO E MANGANÊS	23
4. FONTES MINERAIS E SUA BIODISPONIBILIDADE	23
5. TECIDO ÓSSEO DE POEDEIRAS	25
5.1. FORMAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ÓSSEO DE GALINHAS POEDEIRAS.	26
5.2. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE MANGANÊS SOBRE O TECIDO ÓSSEO DE AVES.....	28
5.3. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO SOBRE O TECIDO ÓSSEO DE AVES.....	29

CAPÍTULO I

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA POSTURA	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	40

2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES	40
2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS.	41
2.3. DESEMPENHO	43
2.3.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS	44
2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	44
2.5. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	45
2.5.1. COLETA DE TÍBIAS	45
2.5.2. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE <i>SEEDOR</i>	45
2.5.3. DENSITOMETRIA ÓSSEA	45
2.5.4. RESISTÊNCIA ÓSSEA	45
2.6. QUANTIFICAÇÃO MINERAL DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS	46
2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
3. RESULTADOS	48
3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO.....	48
3.1.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS.....	49
3.2. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	50
3.3. AVALIAÇÃO ÓSSEA	53
3.4. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS.....	54
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÃO.....	57
6. AGRADECIMENTOS	57
7. REFERÊNCIAS.....	58

CAPÍTULO II

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA POSTURA	60
RESUMO	61
ABSTRACT	62

1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES	64
2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS.	65
2.3. DESEMPENHO	68
2.3.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS	69
2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	69
2.5. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	70
2.5.1. COLETA DE TÍBIAS	70
2.5.2. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE <i>SEEDOR</i>	70
2.5.3. DENSITOMETRIA ÓSSEA	70
2.5.4. RESISTÊNCIA ÓSSEA	71
2.6. QUANTIFICAÇÃO MINERAL DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS	71
2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
3. RESULTADOS	73
3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO.....	73
3.1.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS.....	74
3.2. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	74
3.3. AVALIAÇÃO ÓSSEA	77
3.4. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS.....	78
4. DISCUSSÃO	79
5. CONCLUSÃO.....	81
6. AGRADECIMENTOS	81
7. REFERÊNCIAS.....	82

1. INTRODUÇÃO

O início da produção de ovos em galinhas poedeiras é um período que requer bastante atenção, pois dele dependerá todo o ciclo produtivo. A nutrição adequada é essencial para que as aves consigam expressar o seu máximo potencial genético nessa fase tão crítica, diante disto, os minerais traços zinco e manganês vêm ganhando uma atenção especial pelos nutricionistas, já que os mesmos influenciam o desempenho produtivo, a formação óssea, a qualidade dos ovos e o sistema imunológico das aves (Carvalho et al., 2016).

Além disso, o zinco ainda atua como componente estrutural de diversas proteínas (aproximadamente 200), na produção de queratina, síntese de ácidos nucleicos e colágeno, secreção de hormônios e está envolvido no metabolismo intermediário (Scottá et al., 2014; Goff, 2018). Ele também é co-fator da anidrase carbônica, enzima responsável por regular a transferência de íons bicarbonato do sangue das aves para a glândula da casca do ovo (Sauer et al, 2017).

Já o manganês é imprescindível nos processos reprodutivos, na síntese da protombina, que promove o desenvolvimento de cartilagens e do sulfato de condroitina, e componente da matriz orgânica dos ossos (Bertechini, 2012; Scottá et al., 2014). Este micromineral age como modulador do sistema imunológico das aves, por estar integrado a superóxido dismutase que é a principal enzima antioxidante intracelular, responsável por proteger as células dos danos causados por espécies reativas de oxigênio, evitando dessa forma o envelhecimento precoce (Son et al., 2007).

Diante da relevância dos minerais traços zinco e manganês, e como as concentrações dos mesmos presentes nos ingredientes (milho e farelo de soja) que compoem as rações habitualmente, não são suficientes para atender ao requerimento das aves, a suplementação dos microminerais se torna indispensável. Atualmente, a suplementação feita com minerais complexados a moléculas orgânicas vêm em uma crescente, decorrente da sua maior biodisponibilidade em relação às fontes inorgânicas. A maior biodisponibilidade dos minerais complexados a moléculas orgânicas se deve ao fato de serem moléculas menores, estáveis no pH do organismo animal e sua absorção ser realizada por carreadores intestinais de aminoácidos e/ou peptídeos evitando dessa forma a competição pelo sítio de absorção de outros minerais (Goff, 2018).

A menor biodisponibilidade das fontes inorgânicas se justifica pela dissociação dessa molécula ao chegarem no trato gastrointestinal, resultando na liberação de íons livre que poderão interagir com outros componentes dietéticos, ficando indisponível para absorção por formar complexos insolúveis.

Além disso, esses íons podem não encontrar o agente ligante que os transportem, ocasionando a competição pelo mesmo sítio de absorção, resultando no antagonismo (Jintasataporn et al., 2015).

Diante do que foi exposto, esta revisão teve por objetivo abordar a importância do zinco e manganês sobre o desempenho, qualidade dos ovos, formação e manutenção do tecido ósseo e sistema imunológico de galinhas de postura comercial.

2. IMPORTÂNCIA DOS MINERAIS TRAÇOS ZINCO E MANGANÊS PARA AVES

O zinco (Zn) e manganês (Mn) são compostos inorgânicos que embora sejam requeridos em concentrações muito pequenas, desempenham funções vitais e específicas no organismo animal, como demonstradas abaixo.

2.1. IMPORTÂNCIA DO ZINCO PARA POEDEIRAS NA FASE DE PRODUÇÃO

O zinco é o micromineral mais abundante no meio intracelular e embora seja encontrado em todos os tecidos, tendem a acumular-se nos ossos, seu principal órgão de armazenamento (Sauer et al., 2017). É um mineral traço indispensável para os animais e humanos por estar envolvido em diversas funções fisiológicas (McDonald et al., 2010).

Este mineral traço ainda atua como cofator de metaloenzimas, como a anidrase carbônica (AC) que é essencial para formação da casca do ovo, pois controla a transferência de íons de bicarbonato do sangue para glândulas da casca do ovo (Zhang et al., 2017). A AC atua na calcificação dos ossos, além de ser imprescindível para funcionamento adequado do sistema imune (Scottá et al., 2014). Outras metaloenzimas de Zn importantes são a carboxipeptidase e DNA polimerase, por atuarem nas respostas imunológicas, cicatrização de ferimentos e produção hormonal (Favero et al., 2013).

Atualmente as recomendações de Zn para poedeiras são de 68,55 mg/kg de ração do mineral inorgânico e 30,8 mg/kg de zinco de fontes orgânicas (Rostagno et al., 2024).

Diversos os trabalhos comprovam os efeitos benéficos das fontes orgânicas de Zn sobre a fase de produção das aves. Esfahani et al. (2021), ao avaliar o efeito da suplementação de Zn-metionina, Zn-treonina e ZnO sobre o desempenho produtivo, qualidade dos ovos e teor de zinco nos ovos e excretas, observaram que as fontes orgânicas afetaram positivamente a conversão alimentar, aumentaram a produção e massa dos ovos em relação as fontes inorgânicas.

Já no estudo de Li et al. (2019), a suplementação de 80 mg/kg de zinco metionina, proporcionou aumento da área de superfície e altura das vilosidades, e da expressão do RNAm no jejuno. Porém os autores não verificaram diferenças significativas nas expressões gênicas

das proteínas de transporte (Zip5, ZnT1, ZnT5, MTF-1 e DMT1 mRNA) no duodeno e jejuno, sugerindo que rotas captação e absorção alternativas foram utilizadas, provavelmente a da metionina.

Além das variáveis de desempenho, a forma com a qual a suplementação de zinco é realizada pode afetar a qualidade dos ovos. Zhang et al. (2017), ao avaliar o efeito de diferentes níveis e fontes de zinco sobre o desempenho, atividade da anidrase carbônica e qualidade da casca do ovo de poedeiras comerciais com 59 semanas, constataram que a suplementação dietética de Zn inorgânico ($\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) em até 140mg/kg de ração promoveu aumento da atividade da anidrase carbônica no plasma e na glândula da casca de aves mais velhas e, por consequência, aumentou a espessura da casca dos ovos. Corroborando, Min et al. (2018) observaram que a suplementação de zinco feita com a fonte orgânica (80mg/kg de MHA-Zn) resultou no aumento da espessura e resistência da casca do ovo, e redução da taxa de ovos quebrados.

E por fim, o zinco é essencial para o adequado desenvolvimento e funcionamento do sistema reprodutor das aves. No estudo de Pereira et al. (2020) os autores verificaram que a utilização de Zn, Mn e Cu complexados a aminoácidos nas dietas de poedeiras promoveu melhor peso do oviduto e precocidade. Corroborando Medeiros-Ventura et al. (2020), identificaram aumento na integridade celular do oviduto para os animais que consumiram Zn, Se e Mn complexados a moléculas orgânicas.

2.2.IMPORTÂNCIA DO MANGANÊS PARA POEDEIRAS NA FASE DE PRODUÇÃO

O manganês (Mn) é um micromineral de extrema importância para humanos e animais, pois está envolvido nas funções cerebrais, digestivas, fisiológicas, reprodutivas, desenvolvimento ósseo e metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos (Thesis, 2016).

O Mn atua como componente da glicosiltransferase, enzima envolvida na síntese das glicoproteínas e glicosaminoglicanos (GAGs), que cooperam para o desenvolvimento da matriz orgânica da casca do ovo, através da formação dos sítios de nucleação e regulação do crescimento e organização dos cristais de calcita durante a síntese da casca (Xiao et al., 2014). Dessa forma, a carência de Mn origina a redução da produção de ovos e má formação da casca.

Além disso, esse mineral traço é o ativador de algumas enzimas e metaloenzimas como: piruvato carboxilase, oxidoredutase, hidrolase, isomerases, liases e superóxido dismutase (MnSOD) (Suttle, 2010). A MnSOD, possui a função de combater o estresse oxidativo correlacionado com respostas inflamatórias, dessa forma a deficiência de Mn nas aves pode ocasionar a redução da atividade da MnSOD no coração e, por consequência, gera dano peroxidativo (Oberleas; Harland; Bobilya, 1999; Suttle, 2010).

Para poedeiras na fase de produção o Mn é essencial pois afeta de forma direta a liberação do hormônio luteinizante (LH) que induz a ovulação, afetando tanto a produção quanto a massa dos ovos (Pereira et al., 2020).

Ademais, este micromineral está correlacionado com síntese do sulfato de condroitina, molécula que previne o encurtamento e má formação dos ossos (Favero et al., 2013).

Ainda na literatura, existem pesquisas que indicam a suplementação adequada do Mn favorece os índices zootécnicos das aves, além de melhorar a qualidade da casca dos ovos (Sazzad; Bertechini; Nobre, 1994), a fisiologia do trato reprodutivo (Pereira et al., 2020), formação e manutenção do tecido ósseo (Olgun, 2016) e prevenção da perose (Aschner; Aschner, 2005).

É válido ressaltar que uma suplementação inadequada de Mn para aves resulta na redução da fertilidade, alta mortalidade dos embriões, má formação óssea e qualidade da casca de ovos (Lyons, 1939). Dessa forma, é essencial que o manganês seja ofertado nas concentrações adequadas para possibilitar às aves uma boa produtividade e saúde.

3. ZINCO E MANGANÊS: DIGESTÃO, ABSORÇÃO E METABOLISMO

3.1.DIGESTÃO

De uma forma generalizada a maior parte dos processos digestivos e a absorção dos nutrientes ocorre no intestino delgado. No lúmen intestinal, por meio da ação das enzimas digestivas, ocorre a quebra dos alimentos, entretanto, é válido ressaltar que parte da digestão ocorre na superfície das vilosidades, através dos enterócitos e pela ação das enzimas de membrana (Denbow, 2000).

Atualmente a suplementação dos minerais traços zinco e manganês na nutrição das aves é feita com os sais inorgânicos, que ao chegarem no proventrículo das aves são dissociados devido ao pH, liberando os íons metálicos Zn^{++} e Mn^{++} , que posteriormente serão solubilizados por enzimas digestivas no intestino (Polli, 2002). Esses íons metálicos se movem associados a ligantes do lúmen intestinal para as células da parede intestinal, porém uma parte dos íons metálicos livres não se acopla a nenhuma outra molécula e é excretada, enquanto outros se ligam a moléculas (ex. fitato), ficando indisponível para absorção (Favero et al., 2013).

Já nos minerais complexados a moléculas orgânicas, os íons metálicos são previamente acoplados a um ligante, portanto, não sofrem a ação dos processos digestivos seguindo dessa forma intactos para a absorção, todavia, existe uma mínima parte que se rompe no estômago liberando íons e nesse caso não há nenhuma diferença das fontes inorgânicas (Ashemead, 1993).

A ligação de um metal a um aminoácido melhora a absorção devido à forte ligação formada, protegendo o mineral dos processos digestivos (Ashemead, 1993).

3.2 ABSORÇÃO DOS MICROMINERAIS

No intestino delgado, para que os íons metálicos ultrapassem a parede intestinal, necessitam estar acoplados a um agente ligante ou molécula transportadora (Goff, 2018). Quando esses íons não encontram um carreador disponível para o transporte, são excretados (Herrick, 1993). Dessa forma a suplementação excessiva de minerais inorgânicos pode causar diarreia e redução na absorção de outros minerais devido ao antagonismo (Bertechini, 2014).

Entretanto, é válido ressaltar que a barreira intestinal que é composta pelo pH, viscosidade e condições físico-química do intestino, afeta de forma direta a absorção dos minerais (Faria, 2000).

A viscosidade intestinal é resultante da ação do muco que é sintetizado e secretado pelas células caliciformes (Maiorka, 2004). A mucina é uma molécula composta por um núcleo central de proteína com cadeias de oligossacarídeos, ligados por N-acetil-galactosamina, serina ou treonina, que possui alta densidade de grupos sulfatos e carboxilatos, resultando em alta afinidade de associação com os íons (Maiorka, 2004).

Como solução a essa problemática surge a utilização de minerais complexados a moléculas orgânicas, que são absorvidos através de carreadores, resultando em uma maior biodisponibilidade e menor desperdício e excreção dos minerais.

3.2.1 ABSORÇÃO DO ZINCO (FONTE INORGÂNICA)

A maior parte da absorção do Zn ocorre no intestino delgado por meio do processo de transporte transcelular, embora também haja transportadores presentes no cólon (Gopalsamy et al., 2015).

O transporte do Zn da membrana apical para o interior da célula é realizado principalmente pela ZIP4, onde a quantidade dessa proteína na membrana apical é regulada pela necessidade de Zn da ave ou quando a célula animal está repleta do mineral (Mao et al., 2007). Além do ZIP4, outras proteínas (ZIP11 e ZIP14) auxiliam o transporte do Zn, embora seus mecanismos de ação ainda não estejam bem elucidados e seu desempenho seja inferior ao ZIP4 (Cousins, 2010).

Para atravessar a membrana apical, o Zn pode usar o DMT1, que é considerada uma via secundária para o transporte de Zn, porém, isso pode gerar uma competição com ferro e manganês, que utilizam o mesmo carreador.

As proteínas transportadoras de Zn (ZnT) possuem a função de regular o movimento dentro da célula e manter o Zn^{2+} em um estado ligado, evitando que ele atue como um pró-oxidante (Goff, 2018).

Dessa forma, a proteína ZNT7, captura Zn^{2+} que ultrapassou a membrana apical e transporta para a membrana basolateral, levando o Zn^{2+} para o transportador intestinal (ZnT1), que transloca o Zn^{2+} para o fluido intersticial, o qual será ligado a albumina (Cousins, 2010).

O transportador de Zn (ZnT1) é o caminho primário de uso para mover o Zn das vesículas de transporte da membrana basolateral. Onde este transportador libera o Zn^{2+} na circulação portal para ser transportado no sangue o qual estará ligado a albumina e transferrina para a liberação no fígado e/ou em outros tecidos para sua utilização ou armazenamento (Evans & Winter, 1975). Este processo de absorção do zinco está elucidado na **Figura 1**.

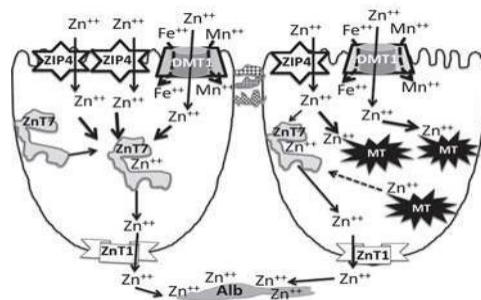


Figura 1. Absorção transcelular do zinco pelas células intestinais (Goff, 2018).

A síntese da proteína metalotioneína (MT) é dependente da quantidade de Zn na dieta, pois quando há um excesso de zinco no corpo animal, os enterócitos começam a sintetizar a proteína metalotioneína (MT), que possui grande afinidade com os átomos de zinco (Chesters, 1997). A metalotioneína funciona como um tampão prevenindo o aparecimento de íons livres de Zn^{2+} no citosol, sendo dessa forma considerada com uma proteína especial. Essa proteína libera o micromineral de forma gradativa para as demais proteínas (ZnT) para uso ou para exportação dos enterócitos, regulando assim sua concentração dentro da célula (Petering & Mahim, 2017). Entretanto, após a morte do enterócito qualquer mineral que esteja ligado a metalotioneína será excretado (Chesters, 1997).

3.2.2.ABSORÇÃO DO MANGANÊS (FONTE INORGÂNICA)

A absorção do Mn de forma majoritária ocorre pela via transcelular com o auxílio da proteína transportadora DMT1 presente na membrana apical, entretanto, existem outros transportadores comuns a outros elementos que estão envolvidos no processo de absorção do Mn. O ZNT10, ZIP8 e ZIP1 apresentam grande afinidade pelo Mn^{2+} e dessa forma se fazem presentes na captação do manganês luminal e basolateral, respectivamente (Paulus, 2015; Scheiber et al., 2019).

Os mecanismos de transporte desse micromineral da membrana apical até a basolateral no interior da célula ainda não foram bem elucidados, mas sabe-se que nesse processo existem chaperonas, moléculas que agem contra o envelopamento inadequado das proteínas, responsáveis por esse transporte (Figura 2). Quando houver excesso de Mn no lúmen intestinal a absorção desses íons ocorre através da difusão paracelular (Goff, 2018).

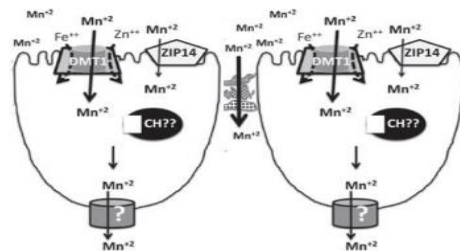


Figura 2. Absorção transcelular e paracelular de Manganês no enterócito (Goff, 2018)

O Mn que foi absorvido e liberado na corrente sanguínea pode permanecer em pequenas concentrações como íon livre, porém a maior parte encontra-se ligado à albumina e a alfa-2macroglobulina, que serão dirigidos aos tecidos, sendo no corpo animal os principais sítios de armazenamento do Mn o fígado e osso (Goff, 2018).

3.3. METABOLISMO E EXCREÇÃO DO ZINCO E MANGANÊS

O metabolismo é definido como o conjunto de reações bioquímicas nas quais ocorre a síntese (anabolismo) e a degradação (catabolismo) de substâncias no organismo (Torres et al., 2014). Dessa forma, após a absorção, os minerais serão metabolizados no fígado das aves e posteriormente conduzidos aos tecidos alvo de acordo com sua necessidade para desempenhar suas funções já citadas.

Entretanto, é válido ressaltar que alguns minerais escapam dos processos digestivos e são excretados. A excreção dos microminerais das fontes inorgânicas, ocorre quando os íons metálicos não são transportados para o interior da célula da mucosa por não encontrarem o agente ligante necessário (Herrick, 1993).

Abdallah et al. (1994) ao avaliarem o efeito da suplementação de manganês orgânico na dieta de frangos de corte, verificaram redução da excreção do mineral nas fezes em relação a fonte inorgânica. Burrell et al. (2004) ao avaliarem a excreção mineral em frangos de corte alimentados com níveis crescentes de zinco e diferentes fontes, observaram menor excreção de zinco quando adicionada a forma orgânica. De forma contrária, Mohanna e Nys (1999) não verificaram redução na excreção de zinco ao se utilizar a fonte zinco-metionina quando comparada com a fonte inorgânica (sulfato de zinco).

4. FONTES MINERAIS E SUA BIODISPONIBILIDADE

Habitualmente, no setor avícola a suplementação dos microminerais é feita através das fontes inorgânicas, por serem facilmente encontradas no mercado e possuírem baixo custo de aquisição, entretanto, os sais inorgânicos são originados da indústria siderúrgica e podem conter altas concentrações de chumbo (Pb), flúor (F) e cádmio (Cd), que por consequência irão compor as rações (Vieira, 2008). Frente a essa problemática a Comissão da Comunidade Europeia (CEC, 2000) por meio *White paper on Food Safety*, regulamentou as características dos produtos destinados a alimentação humana e animal.

Uma das principais características desejáveis das fontes minerais é a biodisponibilidade. O termo biodisponibilidade é definido como a fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos. Segundo Cozzolino (1997) a biodisponibilidade pode ser afetada pela quantidade ingerida, idade do indivíduo, especiação, tipo de ligação molecular, matriz alimentar e interações entre os minerais.

A suplementação dos minerais traço nas dietas das aves quando realizada com as fontes inorgânicas até o ano de 2000, adotava-se a máxima de “quanto mais, melhor”, no qual eram utilizados níveis muito acima do recomendado, o que se justificava pela garantia do atendimento nutricional dos animais e o preço relativamente baixo (inferior a 0,2% do custo total da ração) (Nys et al., 2019).

Mohanna e Nys (1999), ao fornecer dietas com níveis a cima do recomendo de Zn, Mn, Fe e Cu, verificaram que cerca de 90 a 99% foram excretados. Diante da prática de se utilizar concentrações elevadas de minerais nas rações, a União Europeia determinou que a concentração máxima de Zn nas rações deve ser 120 mg/kg e de Mn em 150 mg/kg.

O que se evidencia é a busca pelo equilíbrio entre a suplementação mineral com níveis ideais que favoreça o desempenho produtivo dos animais e a redução nos impactos ambientais. Dessa forma, o manuseio das fontes que possuem minerais ligados a moléculas orgânicas surgem como uma estratégia alimentar promissora dentro da nutrição animal.

Os estudos envolvendo as fontes de íons metálicos ligados a moléculas orgânicas se iniciaram no final de 1800, pelo químico alemão Alfred Werner, que propôs uma estrutura molecular para demonstrar essas moléculas que possuíam alta estabilidade. Alfred Werner, verificou que essas estruturas, denominadas por ele de “complexos” mantinham sua integridade após passar por uma série de reações químicas. Foi apenas em 1920 que o termo “complexo” antes utilizado foi renomeado de “quelato” pelos pesquisadores Morgan e Drew. A palavra quelato é originada do grego “chele” que quer dizer garra. Por nessas moléculas possuírem um ligante (garra) que segura o mineral e o mesmo fica indisponível para participar de outras reações foram denominados de quelato (Ashemead, 1993).

Foi então que no final dos anos 60 que essas novas moléculas, os “minerais orgânicos”, passaram a ser utilizado na nutrição animal. Entretanto, o termo é corriqueiramente utilizado pela indústria de forma errônea transmitindo a ideia de igualdade entre as diversas fontes minerais (Ashemead, 1993).

Dessa forma, a American Association of Feed Control Officials -AAFCO (2000), como o objetivo de esclarecer as diferenças existentes, classificou os “minerais orgânicos” em:

- a) **Complexo metal polissacarídeo:** molécula resultante da quelação de um sal solúvel com polissacarídeo. Ex: complexo zinco-polissacarídeo
- b) **Proteinatos:** produto obtido da complexação de uma proteína parcialmente hidrolisada com um sal solúvel, formando uma estrutura em forma de anel aberta. Ex: Proteinato de Maganês e proteinato de zinco.
- c) **Quelatos:** molécula obtida pela complexação de um mineral com duas ou três moléculas de aminoácidos. Essa molécula é formada por ligações covalentes coordenadas, na qual o mineral se centraliza na cadeia. O peso molecular dos quelatos não devem ultrapassar os 800 daltons, pois quando se aumenta o tamanho/peso dos ligantes se reduz a força das ligações e a absorção dos minerais. Ex.: Quelato de manganês.
- d) **Quelato metal-MHA:** originada pela ligação de um mineral com duas moléculas de hidroxí análogo de metionina.
- e) **Complexo metal aminoácido:** produto obtido da ligação de mineral com aminoácido, podendo este ser específico ou não.

5. TECIDO ÓSSEO DE POEDEIRAS

Nas galinhas poedeiras, os ossos servem como estrutura de suporte e impactam na formação da casca do ovo. Sendo compostos pelos tecidos medular, cortical e trabecular, que por sua vez, são formados por quatro tipos de células (osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e osteogênicas) que controlam a formação, desenvolvimento e mineralização óssea durante toda a vida do animal (Olgun; Aygun, 2016).

Para o setor avícola é fundamental que os ossos sejam adequadamente formados e que possuam reserva mineral, pois esse órgão sofre rápida remodelação diária sincronizada com o ciclo de postura, na qual o cálcio dos ossos é mobilizado para a formação da casca do ovo (Kim et al., 2012).

Dessa forma, a resistência óssea e a qualidade da casca do ovo tendem a piorar com o aumento da produtividade e idade das aves, já que os ossos atuam como reserva de cálcio (Ca) e Fósforo (P).

Além do Ca e P, a suplementação adequada de outros minerais, como por exemplo o Zn e Mn, resulta na melhoria da qualidade óssea, da resistência da casca do ovo e aumento da produção (Olgun; Yildiz, 2017, Min et al., 2018, Cufadar et al., 2020).

5.1.FORMAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ÓSSEO DE GALINHAS POEDEIRAS

O osso é um tipo de tecido conjuntivo especializado, constituído por água e cristais de hidroxiapatita mineralizando uma matriz orgânica (o colágeno tipo I). Os ossos sofrem frequentes modificações e adaptações durante o seu crescimento, devido à remodelação celular óssea em resposta a fatores como por exemplo, alterações no peso, demanda de cálcio e atividade física (Glimcher, 1998).

Os ossos possuem na sua constituição quatro tipos de células, as osteoprogenitoras, osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. As células osteoprogenitoras são derivadas do mesênquima, não são especializadas e são precursoras dos osteócitos e osteoblastos; já os osteoblastos são células que atuam na síntese e controle da mineralização da matriz orgânica dos ossos; os osteócitos nada mais são que a forma madura dos osteoblastos, representam o grupo celular mais abundante do tecido ósseo, são essenciais para remodelação dos ossos quando necessário; e por fim os osteoclastos, que são células que atuam na reabsorção do osso mineralizado (Pizauro Junior et al., 2017).

Os tecidos corticais ou ossos compactos se apresentam de forma tubular e compõem a parte externa dos ossos arredondados, dessa forma possuem funções mecânicas e estruturais. Os tecidos medulares atuam como reserva de cálcio para formação dos ovos de galinhas poedeiras, esse tecido é formado durante o período de maturidade sexual das aves através da ação do estrogênio e androgênio. E por fim, os ossos trabeculares ou ossos esponjosos se localizam na parte interna do osso cortical, apresentando uma superfície osteogênica mais eficiente e com remodelação intensa, e possuem finalidade estrutural e sustentação (Kim et al., 2012).

Os ossos longos de forma geral, são formados pelas epífises proximal e distal, composta basicamente por osso trabecular e osso compacto na parte externa. Internamente às epífises está a linha de crescimento, também conhecida como zona de crescimento, que é responsável pela formação e mineralização óssea, já na parte externa das epífises estão as articulações revestidas por cartilagem hialina. No corpo dos ossos está a diáfise, que é composta primordialmente por osso compacto, recoberto por uma camada de osso esponjoso. Entre a diáfise e a epífise, encontra-se a metáfise, local no qual se situa a cartilagem que assegura o crescimento ósseo (Kim et al., 2012).

Nos ossos longos, ainda encontramos o endóstio, o perióstio e a artéria nutrícia, estruturas que atuam na nutrição do tecido ósseo. O endóstio é uma estrutura formada por células osteoprogenitoras e recobrem toda a cavidade medular, enquanto o perióstio que é uma membrana formada por tecido conjuntivo fibroso envolve toda superfície externa do osso. Por fim, a artéria nutrícia assim como o canal nutrício, alimenta todo o processo metabólico de síntese óssea.

Já na formação endocondral, ocorre o desenvolvimento longitudinal do tecido ósseo, a qual se inicia com a diferenciação dos condrócitos que se encontram em repouso em condrócitos proliferativos, que se multiplicam e originam colunas de células achatadas ricas em colágeno tipo II, constituindo a zona de condrócitos proliferativos. Em seguida, os condrócitos tornam-se mais arredondados e maiores (estado hipertróficos) e secretam o colágeno tipo X (Whitehead, 2004).

Dessa forma, é na zona hipertrófica inferior que realmente ocorre a ossificação, pois os condroblastos atuam reabsorvendo a matriz enquanto condrócitos hipertróficos secretam a fosfatase alcalina, auxiliando a formação do mineral ósseo (hidroxiapatita). Posteriormente, os condrócitos que passaram pelo processo de apoptose são absorvidos e a medula produz novos osteoblastos (Long; Ornitz, 2013).

Além dos condrócitos, os osteoclastos também são células ativas na zona hipertrófica (Dibner et al., 2007). Os osteoclastos na superfície endosteal são responsáveis pelo processo de remodelação óssea, o qual se dá em quatro etapas: inicialmente os osteoblastos são mobilizados para a superfície do osso, em seguida os osteoclastos inicia o processo de reabsorção óssea, posteriormente ocorre reversão da absorção formando novos ossos e por fim os osteoblastos formam ossos (Florêncio-Silva et al., 2015).

Durante a fase de crescimento o processo de remodelação óssea é menos intenso, no entanto, são produzidos ósteons secundários, nos quais os osteoclastos rompem um túnel no osso e são seguidas por osteoblastos originando camadas concêntricas de osso lamelar. Em seguida os osteoblastos se diferem em osteócitos que atuaram na remodelação óssea em resposta a forças mecânicas (Florêncio-Silva et al., 2015).

Em galinhas poedeiras, durante as fases de cria e recria ocorre a formação, crescimento e desenvolvimento ósseo, por meio de diversos fatores associados aos mecanismos intramembranoso e endocondral. Na formação intramembranosa ocorre o aumento da circunferência óssea, decorrente do desenvolvimento dos osteoblastos no pericôndrio, originando espículas de osso que posteriormente se fundem gerando uma rede de ossos com cavidades. Os osteoblastos gradualmente preenchem toda a cavidade e sintetizam camadas de osso cortical lamelar, que atuam na proteção óssea (Whitehead, 2004).

Por volta da 16ª semana, quando as galinhas poedeiras atingem o início da maturidade sexual, algumas modificações são perceptíveis na dinâmica óssea, como por exemplo, os osteoblastos que antes produziam osso cortical medular passam a sintetizar osso medular. O osso medular serve como depósito de cálcio e fósforo que darão suporte para a formação da casca do ovo. No início da postura a quantidade de osso medular tende a aumentar e o acúmulo pode perdurar durante todo o período produtivo do animal, entretanto, a reabsorção osteoclástica do osso estrutural se intensifica levando a desaceleração da formação óssea e remodelagem. As perdas paulatinas do osso estrutural são as principais causas da osteoporose e aumento no número de fraturas (Dibner et al., 2007; Long; Ornitz, 2013).

5.2. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE MANGANÊS SOBRE O TECIDO ÓSSEO DE AVES

O manganês é um microelemento essencial para o tecido ósseo por ser constituinte da matriz óssea e indispensável para o adequado funcionamento do sistema RANKL/RANK/OPG o qual contribui para a compreensão do processo de modulação e remodelação, por meio dos osteoclastos (Boyce & Xing, 2008).

O gene RANKL é uma citosina secretada pelos osteoblastos e pelas células do estroma da medula óssea, sendo indispensável na diferenciação dos osteoblastos e inibição da apoptose. Além do RANKL, as células do estroma da medula óssea e os osteoblastos sintetizam a osteoprotegerina (OPG) uma proteína que atua na inibição da diferenciação dos osteoblastos e sua atividade (Kong et al., 1999)

Os osteoblastos por meio de modificações da razão RANKL/OPC regulam a osteoclastogênese. Pois os osteoblastos produzem a OPC, que é um receptor solúvel para RANKL que atua na inibição competitiva da ligação RANKL-RANK impedindo a ativação do RANK e dessa forma a ativação dos osteoclastos. Então a redução da proporção de OPC em relação ao RANKL, viabiliza a osteoclastogênese agilizando a reabsorção óssea e OPC atua sobre ativação dos osteoclastos (Spahni et al., 2009).

A regulação da expressão de RANK e OPC pode ser influenciada por diversos hormônios (paratormônio, calcitonina, serotonina e estrogênio), vitamina D, lecitina e alguns minerais, como por exemplo, o manganês (Maroutti et al., 2017).

Liu et al., (2015), ao avaliar o efeito da deficiência de manganês sobre o OPG e RANKL em frangos de corte, com três níveis de suplementação desse mineral traço, sendo um controle (60 mg Mn/kg) e dois níveis com deficiência (8,7 e 40mg Mn/kg), verificaram redução na expressão RNAm do OPG e RANKL nos tratamentos que ofertavam rações deficientes em Mn, o que se justifica pela redução dos osteoblastos.

Além do sistema RANKL/RANK/OPG, as concentrações de fosfatase alcalina também podem ser utilizadas como marcador da maturidade óssea. A fosfatase alcalina é uma enzima ativada pelo manganês, pertencente ao grupo das metaloproteínas, que possui a função de remover os grupamentos de fosfatos de algumas moléculas. Embora também seja produzida no fígado e intestino, cerca de 50% da fosfatase alcalina circulante é originada no osso, dessa forma o aumento da concentração da mesma indica distúrbios ósseo, já que é produzida pelos osteoclastos (Maroutti et al., 2017).

O manganês com já dito anteriormente, é um mineral traço essencial para o desenvolvimento normal do osso e prevenção de osteomalácias. O manganês é constituinte de moléculas como os mucopolissacarídeos, dessa forma a deficiência desse mineral afeta de forma negativa a síntese da matriz orgânica cartilaginosa, resultando em anormalidades esqueléticas. De acordo com Wang et al. (2021) a deficiência de Mn leva à inibição da proliferação e ao aumento da apoptose dos condrócitos, o que resulta na redução do crescimento das tíbias.

5.3.INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO E NÍVEIS DE ZINCO SOBRE O TECIDO ÓSSEO DE AVES

A suplementação adequada de zinco para galinhas poedeiras é de extrema importância e deve ser realizada desde o início da vida do animal, já que o mesmo está envolvido em várias funções vitais para o organismo. Além disso, o zinco quando ofertado em concentrações adequadas promove aumento na resistência e melhoria química do tecido ósseo, proporcionando a formação e manutenção de reservas minerais, que posteriormente poderão ser utilizadas para produção de ovos.

As fases de cria e recria são determinantes na vida das poedeiras. Durante essas fases, ocorre a formação do osso estrutural e cortical, e o zinco é imprescindível para esse processo, pois está associado a atividade das enzimas superóxido dismutase, anidrase carbônica, fosfatase alcalina, colaginase e aminoacil tRNA sintetase que atuam na formação, desenvolvimento e metabolismo ósseo (Whitehead, 2004; Long; Ornitz, 2013; Florêncio-Silva et al., 2015), além de influenciar a ação da insulina, testosterona e osteocalcina, hormônios correlacionados ao crescimento ósseo (Muszynski et al., 2018).

Já na fase de produção, o zinco além favorecer o aumento da resistência óssea (Cufadar et al., 2020), melhorar a qualidade química das tíbias e aumento da expressão da metalotioneína no fígado (Min et al., 2018), promove aumento na produtividade, melhorias na qualidade química e física dos ovos (Esfahani et al., 2021) e aumento na espessura da casca do ovo (Zhang et al., 2017).

E embora os benefícios que a suplementação de Zn trazem para o tecido ósseo estejam bem elucidados é válido ressaltar que o tipo da fonte e concentração que será utilizada podem influenciar a qualidade óssea.

Dessa forma, Min et al. (2019) analisando os impactos da suplementação de níveis crescente de Zn-metionina em poedeiras com idade entre 59 a 72 semanas, constataram que 40mg/kg de Zn-metionina atende as necessidades das aves, sendo suficiente para garantir uma boa qualidade óssea.

Já Abenidi et al. (2017) avaliando o efeito de diferentes fontes de Zn (metionina, óxido e nanopartícula de óxido) em dieta de poedeiras comerciais com 52 semanas de idade, observaram que a utilização da fonte orgânica proporcionou aumento na concentração da matéria mineral nas tíbias das aves.

Corroborando com os resultados obtidos, Idowu et al. (2011) fazendo uso de diferentes fontes de Zn (cloreto, sulfato, óxido, carbonato e proteinato), constataram que a concentração de Zn nas tíbias e na casca do ovo foi maior nos animais suplementados com Zn-proteinato. Entretanto, é válido ressaltar que o resultado obtido pode ser justificado pelo alto nível de Zn-proteinato.

Olgun e Yldiz (2017) ao avaliar a influência de diferentes fontes de zinco (Zn-glicina, sulfatos, óxidos e nano óxido de zinco) sobre a qualidade das tíbias, verificaram que as aves que foram suplementadas com sulfato de Zn e Zn-glicina possuíam uma concentração maior de Zn e Ca depositados nas tíbias, entretanto, a maior resistência óssea foi obtida quando se utilizou 75 mg/kg das fontes inorgânicas (óxidos e sulfatos).

Esse resultado pode ser justificado pelo tipo de molécula, pois a glicina que é o aminoácido que compõem a “molécula orgânica” utilizada, apresenta baixa absorção. Pois esse aminoácido não possui cadeia lateral na sua configuração o que impossibilita ou reduz a sua absorção e captação do Zn, causando dessa forma a dissociação do mineral e fazendo com que o mesmo seja absorvido como as fontes inorgânicas, fazendo uso de proteínas transportadoras de Zn (Olgun & Yldiz, 2017). Além disso, o Zn propicia a absorção dos macrominerais cálcio e fósforo, no qual parte do Ca absorvido é depositado no osso medular, dessa forma a suplementação de Zn resulta na modulação favorável do osso (Muszynski et al., 2018).

6.REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A. G. et al. Effect of removing trace minerals from the diet of hens laying eggs with heavy or light shell weight. **Poultry Science**, v. 73, n.2, p. 295–301, 1994.
- ABEDINI, M. et al. Effects of a dietary supplementation with zinc oxide nanoparticles, compared to zinc oxide and zinc methionine, on performance, egg quality, and zinc status of laying hens. **Livestock Science**, v.203, n. 1, p.30–36, 2017.
- ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis, **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 4-5, p. 0–362, 2005.
- ASHMEAD, H. D. Comparative intestinal absorption and subsequent metabolism of metal amino acid chelates and inorganic metal salts. 1993.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de Monogástrico**, v. 1, p.302, Ed. UFLA, Lavras–MG, 2006, _____ **Nutrição de monogástrico**, v.2, p. 209 – 212, 239 – 254, 2012.
- BERTECHINI A.G, Exigências de minerais para aves. In: SAKOMURA, N.K. et al. **Nutrição de Não-ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p. 375-388, 2014.
- BOYCE, B.F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. **Archives Biochemistry Biophysics**, v.473, n.2, p.139-146, 2008.
- BURRELL, A. L. et al. Responses of broiler to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. *British Poultry Science*, v. 45, n. 2, p. 255 - 263, 2004.
- CARVALHO, L. S. S. et al. Qualidade de ovos e desempenho produtivo de poedeiras em segundo ciclo de postura alimentadas com microminerais quelatados a aminoácidos. **Ciência Animal Brasileira**, v.17, n. 4, p. 491- 500, 2016.
- CHESTERS, J. Zinc. In *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. B. L. O'Dell and R. Sunde, ed. Marcel Dekker, New York, NY. P 185-231. 1997.
- COUSINS, R. J. Gastrointestinal factors influencing zinc absorption and homeostasis. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**. v.80, n.8, p. 243–248, 2010.
- COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais, **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 10, n. 2, p. 87 – 98, 1997.
- CUFADAR, Y. et al. Effects of dietary different levels of nano, organic and inorganic zinc sources on performance, eggshell quality, bone mechanical parameters and mineral contents of the tibiae, liver, serum and excreta in laying hens. **Biological Trace Element**

- Research**, v. 193, n. 1, p. 241-251, 2020.
- DENBOW, M. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: Sturkies avian physiology. 5ª edição. Academic press, Londres. p 299-325, 2000.
- DIBNER, J. J. et al. Metabolic challenges and early bone development. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 1, p. 126-137, 2007.
- ESFAHANI, B. N. et al. Comparison the Zn-threonine, Zn-methionine, and Zn oxide on performance, egg quality, Zn bioavailability, and Zn content in egg and excreta of laying hens. **Biological Trace Element Research**, v. 199, n. 1, p. 292-304, 2021.
- EVANS, G. W., T. WINTER. Zinc transport by transferrin in rat portal blood plasma. **Biochem Biophys Res Commun**. n.4, v.66, p. 1218–1224, 1975.
- FARIA, C.R. Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal. In: Absorção e Metabolismo de Sais. Edunb. Brasília, DF. p. 13-14. 2000.
- FAVERO, A. et al. Reproductive performance of Cobb breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper from inorganic and amino acid-complexed sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 1, p. 80-91, 2013.
- FLORÊNCIO-SILVA, R. et al. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed Research International*, v. 20, n.1, p. 1-17, 2015.
- GLIMCHER, M. J. The nature of mineral phase in bone: Biological and clinical implications. Em: **Metabolic Bone Disease and clinically Related Disorders**. [s.l.] Elsevier, 1998, p. 23-52e.
- GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.
- GOPALSAMY, G. et al. The relevance of the colon to zinc nutrition. **Nutrients**, v. 7, n. 1, p. 572-583, 2015.
- HERRICK, J.B. Mineral in animal health. In: ASHMEAD, H.D. (Ed.). The roles of amino acid chelates in animal nutrition. New Jersey: Noyes, p.3-9. 1993.
- IDOWU, O. M. O. et al. Effects of Zinc supplementation on laying performance, serum chemistry and Zn residue in tibia bone, liver, excreta and egg shell of laying hens. **International Journal Poultry Science**, v. 10, n. 3, p. 255- 230, 2011.
- JINTASATAPORN, O. et al. The efficacy of mineral – amino acid complex (Zn, Mn, Cu, Fe and Se) on White shrimp, *litopenaeus vannamei*, diets. *Aquacultura Indonesia*, v.16, n.1, 2015.

- KIM, W. K.; BLOOMFIELD, S.A.; SUGIYAMA, T.; RICKES, S.C. Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 1, p.71-82, 2012.
- KONG, Y.Y. et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. **Nature**, v.397, p.315-323, 1999.
- LI, L. L. et al. Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v.98, n. 2, p. 802 923–931, 2019.
- LIU, R. et al. Effects of manganese deficiency on the microstructure of proximal tibia and OPG/RANKL gene expression in chicks. **Veterinary Research Communications**, v.39, n.1, p.31-37, 2015.
- LYONS, M. Some effects of manganese on egg shell quality. **Arkansas Agricultural Experiment Station Bulletin**, v. 374, p. 1-18, 1939.
- LONG, F.; ORNITZ, D. M. Development of the endochondral skeleton. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 5, n.1, p. 8334-8336, 2013.
- MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. V Simpósio Brasil Sul 514 de Avicultura. Anais... Chapecó, p. 26-41, 2004.
- MAO, X. et al. Histidine – rich cluster mediates the ubiquitination and degradation of human zinc transporter, hZIP4, and protects against zinc cytotoxicity *, **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 10, p. 6992-7000, 2007.
- MARUOTTI, N. et al. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. *Journal of Cellular Physiology*, v.232, n. 11, p.2957-2963, 2017.
- MEDEIROS-VENTURA, W.R.L. et al. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and characteristics of layer-type chickens under thermoneutral and cold stress conditions. *Poultry Science*, [s. l.], v. 99, n. 11, p. 5718–5727, 2020.
- MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. **Animal nutrition**. 7th., 2010, 692p
- MIN, Y. N. et al. Effects organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry Science**, v.98, n. 1, p. 366-372, 2019.
- Nys, Y. et al. Adapting trace mineral nutrition of birds for optimising the environment and poultry product quality. *Worlds. Poultry Science. Journal*. n. 2, v. 74, p.225–238, 2019.
- MOHANNA, C.; NYS, Y. Effect of dietary zinc content and sources on the growth, body zinc deposition and retention, zinc excretion and immune response in chickens. **British Poultry**

Science, v. 40, n. 1, p. 108-114, 1999.

MUSZYNSKI, S. et al. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. **PLOS ONE**, v.13, n.1, p e0191964, 2018.

OBERLEAS, D.; HARLAND, B.; BOBILYA, D. J. Manganese (Mn). In: OBERLEAS, D.; HARLAND, B.; BOBILYA, D. J. Minerals: nutrition and metabolism. Nova Iorque: Vantage Press, 1999.

OLGUN, O. Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 1, p. 45–56, 2016.

OLGUN, O.; AYGUN, A. Nutritional factors affecting the breaking strength of bone in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, v.72, n. 4, p. 821-832, 2016.

OLGUN, O.; YILDIZ, A. O. Effects of dietary supplementation of inorganic, organic or nano zinc forms on performance, eggshell quality, and bone characteristics in laying hens. **Annals of Animal Science**, v.17, n. 2, p. 463-476, 2017.

PAULUS, E. Effect of Manganese status on the expression of metal-ion transporters in mouse liver and intestine. 3. 2015.

PEREIRA, C. G. et al. Zinc, manganese and copper amino acid complexed in laying hens' diets affect performance, blood parameters and reproductive organs development. **Plos One**, v. 15, n. 845 11, p.1-16, 2020.

PETERING, D. H; A. MAHIM. Proteomic high affinity Zn^{+2} trafficking: Where does metallothionein fit in? **International Journal of molecular sciences**. v.18, n.6, p. 1286-1289, 2017.

PIZAURO JUNIOR, J. M. et al. **Fisiologia das aves comerciais: Regulação do metabolismo ósseo por hormônios e íons inorgânicos**. Jaboticabal: Funep, 2017.

POLLI, S.R. Minerais orgânicos na alimentação de cães e gatos. **Bol. Inf. Nutron Pet**, v.1, p.3. 2002.

ROSTAGNO, H.S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 5 ed. Viçosa: UFV, 2024.

SAUER, A. K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v. 30, n. 5, p. 643 – 661, 2017.

SAZZAD, H.; BERTECHINI, A.G.; NOBRE, P.T. Egg production, tissue deposition and mineral metabolism in two strains of commercial layers with various levels of manganese in diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 46, n. 3-4, p. 271-275, 1994.

- SCHEIBER I. F. et al. The intestinal metal transporter ZIP14 maintains systemic manganese homeostasis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 23, p.9147–9160, 2019.
- SCOTTÁ, B. A. et al. Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade de carcaça e da carne de frangos de corte. **Pubvet**, v. 8, n. 9, 2014.
- SON, E.W. et al. Effects of supplementation with higher levels of manganese and magnesium on immune function. **Archives of pharmacal research**, v. 30, n. 6, p. 743–749, 2007.
- SPAHNI, A.I. et al. Immunohistochemical localization of RANK, RANKL and OPG in healthy and arthritic canine elbow joints. **Veterinary Surgery**, n.38, v.6, p. 780-786, 2009.
- SUTTLE, N. F. Mineral nutrition of livestock. 4. ed. Midlothian: Cabi, 2010.
- THESIS, A. Effect of increasing levels of dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and copper (Cu) from organic and inorganic sources on egg quality na egg Zn, Mn and Cu content in laying hens. 2016.
- TORRES, C. et al. Metabolismo de proteínas. **Revista de Actualización Clínica Investiga**, v. 41, n.7, p. 2137-2141, 2014.
- VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.10, n.2, p.73–79, 2008.
- WANG, C. Y.; XIA, W. H.; WANG, L.; WANG, Z. Y. Manganese deficiency induces avian tibial dyschondroplasia by inhibiting chondrocyte proliferation and differentiation. **Research in Veterinary Science**, v. 140, p. 164–170, 2021.
- WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, v.83, n.1, p.193-199, 2004.
- XIAO, J. F. et al. Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. **Poultry Science**, v. 93, n. 2, p. 380-388, 2014.
- ZHANG, Y. N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2176-2183, 2017.

CAPÍTULO I

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA POSTURA

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo estimar a ingestão ótima de manganês complexado a aminoácido (MnAA), com base no desempenho produtivo, parâmetros sanguíneos e avaliação óssea. Um total de 216 aves com dezesseis semanas de idade da linhagem Dekalb White, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 6 aves cada. Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando apenas os níveis de inclusão de MnAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹. O estudo compreendendo da 16ª a 26ª semana de vida. As ingestões de Mn para as variáveis de desempenho foram calculadas pelo modelo $Y = Rmax*(1 - e^{-bx})$, onde $Rmax$ é a resposta máxima, e é o número de Euler, b é a taxa de crescimento e x é a ingestão de Mn. E a estimativa de Mn para essas variáveis foi calculada pela inversão do modelo. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Os parâmetros $Rmax$, foram: 91,78; 44,55; 54,87 e 36,6 para produção de ovos (PR) e massa de ovos (MO), peso do oviduto (POV) e peso do fígado (PF) respectivamente. Aplicando o modelo inverso para estimar o consumo de Mn, estimou-se: 3,45; 3,11; 3,22 e 3,05 mg ave⁻¹ dia⁻¹. A ingestão de Mn para os parâmetros sanguíneos e ósseos foram calculadas pelos modelos $MnAA = Rmax*x/(km+x)$ e $MnAA = -r + \ln((-y-Rmin-amp/y-Rmin)/s)$, onde: $Rmax$ é a resposta máxima, Km é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Mn. A estimativa de Mn para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Os parâmetros $Rmax$ e km : 9,72; 7305; 129, 40; 66,06; 1,76; 132, 10; 8,53; 735, 14 e 8,73 para hematócrito (HTC), hemoglobina (HGB), proteína plasmática total (PPT), volume corpuscular médio (VCM), ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), peso ósseo (PO), densitometria óssea medial (DOM) e resistência óssea (RO), respectivamente. Empregando o modelo inverso para estimar o consumo de MnAA, temos as seguintes estimativas: 3,09; 3,40; 3,16; 3,39; 3,20; 3,08; 3,32; 3,39; 3,19 e 2,85 mg ave⁻¹dia⁻¹ para HTC, HGB, PPT, VCM, AUR, ALB, AST, PO, DOM e RO, respectivamente. A recomendação para suplementação de MnAA para poedeiras de 16 a 26ª semanas é de 3,45 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (37,48 mg kg⁻¹), considerando melhor desempenho produtivo, metabolismo e qualidade óssea.

PALAVRAS-CHAVES: Consumo, Densitometria óssea, Fitase, Mineral orgânico, Poedeiras.

ABSTRACT

This research aimed to estimate the optimal intake of amino acid-complexed manganese (MnAA) based on productive performance, blood parameters, and bone assessment. A total of 216 sixteen-week-old Dekalb White hens were distributed in a completely randomized design with 6 treatments and 6 replications of 6 birds each. The treatments consisted of isonutritive and isoenergetic experimental diets, varying only in MnAA inclusion levels: 5, 15, 25, 35, 55, and 75 mg kg⁻¹. The study covered the period from the 16th to the 26th week of life. Zinc intakes for performance variables were calculated using the model $Y = R_{max} * (1 - e^{(-b x)})$, where R_{max} is the maximum response, e is Euler's number, b is the growth rate, and x is Mn intake. Mn estimates for these variables were calculated by inverting the model. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The R_{max} parameters were: 91.78; 44.55; 54.87; and 36.6 for egg production (PR) and egg mass (MO), oviduct weight (POV), and liver weight (PF), respectively. Applying the inverse model to estimate Mn intake, the estimates were: 3.45; 3.11; 3.22; and 3.05 mg bird⁻¹ day⁻¹. Mn intake for blood and bone parameters was calculated using the models $MnAA = R_{max} * x / (K_m + x)$ and $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - amp) / (y - R_{min}) / s)$, where R_{max} is the maximum response, K_m is a biological function parameter, and x is Mn intake. Mn estimates for each variable were calculated by inverting the models. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The R_{max} and K_m parameters were: 9.72; 7305; 129.40; 66.06; 1.76; 132.10; 8.53; 735.14; and 8.73 for hematocrit (HTC), hemoglobin (HGB), total plasma protein (PPT), mean corpuscular volume (MCV), uric acid (AUR), albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), bone weight (BW), medial bone densitometry (MBD), and bone resistance (BR), respectively. Using the inverse model to estimate MnAA intake, the following estimates were obtained: 3.09; 3.40; 3.16; 3.39; 4.01; 3.08; 3.32; 3.39; 3.19; and 2.85 mg bird⁻¹ day⁻¹ for HTC, HGB, PPT, MCV, AUR, ALB, AST, BW, MBD, and BR, respectively. The recommendation for MnAA supplementation for layers from 16 to 26 weeks is 3.45 mg bird⁻¹ day⁻¹ (37.48 mg kg⁻¹), considering optimal productive performance, metabolism, and bone quality.

KEYWORDS: Consumption, Bone densitometry, Phytase, Organic mineral, Laying hens.

1. INTRODUÇÃO

Na nutrição, o manganês se destaca por ser um componente essencial para o metabolismo de aminoácidos, lipídeos e carboidratos, além de atuar na função cerebral, digestiva, reprodutiva e formação da cartilagem óssea (Zapata, 2016). Além disso, a suplementação com Mn na dieta das aves proporciona aumento na espessura e resistência da casca dos ovos, já que o mesmo atua como ativador da enzima glicosiltransferase, que age na síntese de glicosaminoglicanos e glicoproteínas, que contribuem para o desenvolvimento da matriz orgânica da casca do ovo (Xiao et al., 2014).

Tradicionalmente, a suplementação de microminerais nas dietas das aves é feita através de sais inorgânicos, que apesar de possuírem um custo de aquisição relativamente mais barato, possuem baixa disponibilidade em relação as fontes orgânicas (Close, 2003; Goff, 2018; M'sadeq et al., 2018).

Dessa forma, o uso de minerais ligados a moléculas orgânicas surge como a solução a essa problemática, pois quando complexados, os minerais tornam-se estáveis e quimicamente inertes, o que os impossibilita de interagir com íons metálico livres, resultando em maior biodisponibilidade em relação aos seus análogos de sais inorgânicos.

Além disso, as fontes orgânicas podem ser absorvidas pelos sítios de absorção das moléculas as quais encontram-se ligadas (peptídeos/aminoácidos), promovendo dessa forma maior capacidade de aproveitamento dessa molécula, diferindo das fontes tradicionais que não precisam de carreadores específicos para serem absorvidas pelos enterócitos (Gao et al., 2014).

Entretanto, existe uma variedade de fontes orgânicas, como os glicinatos, proteínatos, quelatos de metal-aminoácido, minerais complexados a aminoácido, os quais possuem capacidades diferentes de absorção (Burrell et al., 2004)

Sun et al. 2012, ao trabalhar com metionina hidroxí-análogo de cobre, manganês e zinco, verificaram que as concentrações de 20 mg/kg apresentaram os melhores resultados sobre o peso dos ovos e espessura da casca. Já Stefanello et al. (2014), trabalhando com Mn, Zn e Cu proteínato para poedeiras com idade entre 42 e 67 semanas de idade observaram que os melhores resultados para o peso dos ovos e massa de ovo, foi obtida com 65-60-10 mg/kg de Mn, Zn e Cu, respectivamente.

Então fica evidenciado que além da forma química dos minerais, os níveis de suplementação nas dietas necessitam ser estudados. Dessa forma, objetivou-se estimar a

ingestão ótima de manganês complexado a aminoácido (MnAA), com base no desempenho produtivo, parâmetros sanguíneos e avaliação óssea para poedeiras comerciais no início da postura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as técnicas utilizadas nessa pesquisa foram aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o protocolo nº6000110221.

2.1.LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES

O experimento foi desenvolvido na Estação Experimental de Pequenos Animais de Carpina (EEPAC), localizada em Carpina-PE, correspondente às coordenadas geográficas: latitude 07°50'45" sul e longitude 35°15'18".

Nesta pesquisa foram utilizadas 216 aves da linhagem Dekalb White (16 a 26° semana), alojadas em 36 gaiolas experimentais, equipadas com bebedouros automáticos acoplados com copinhos e comedouros tipo calha. As gaiolas experimentais foram antecipadamente pintadas com tintas eletrostática e possuíam dimensões de 50x40x50 cm. Durante todo o período experimental o fornecimento de água foi *ad libitum*, enquanto o de ração foi ajustado semanalmente de acordo com a necessidade nutricional das aves.

O programa de luz adotado foi o recomendado pelo manual da linhagem, o qual orienta que quando for atingido 5% da produção de ovos no plantel, deve-se acrescentar 1 hora de luz artificial, a qual será aumentada gradativamente até atingir 16 horas de luz (12 h de luz natural e 4 h de luz artificial). A temperatura e umidade relativa do ar foram registradas diariamente através do Datalogger (HOBO U12-012), instalado no centro do galpão e dois termohigrômetros digitais (modelo 7663.02.0.00, IncotermR, Porto Alegre, RS, BR) fixados em pontos distintos do galpão (Figura 1).

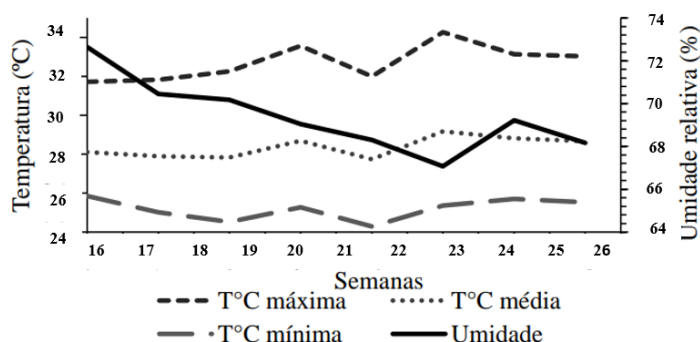


Figura 1. Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental

2.2.DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

Um total de 216 aves com 16 semanas de idade foram distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso com 6 tratamentos, 6 repetições e 6 aves cada. O peso médio das aves utilizadas no experimento foi de $1140 \pm 5,7\text{g}$.

As dietas experimentais eram isoenergéticas e isonutritivas, diferindo apenas pelo nível de inclusão do manganês complexado a aminoácido em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg/kg. A fonte de mineral orgânico utilizada, possuía na sua composição os aminoácidos essenciais lisina, metionina, treonina, valina, serina, prolina, tirosina, leucina, isoleucina, fenilamina, ácido glutâmico, glicina, alanina, arginina, ácido aspártico e histidina todos ligados ao íon de manganês na proporção de 1:1.

O premix dos minerais traços foi formulado de acordo as recomendações do manual da linhagem (Dekalb White – Nutrition Guide, 2009), exceto o manganês que foi formulado com níveis crescente de 5 a 75mg/kg (Tabela 1). O premix possuía na sua composição manganês, zinco, cobre e ferro complexados a aminoácidos, o iodo na forma de iodato de cálcio e o selênio na forma de Zinco-L-Selenometionina.

Tabela 1. Composição do premix mineral utilizados nas fases de pré-postura e postura

Tratamentos	Mn-AA					
	5	15	25	35	55	75
	mg kg ⁻¹					
Manganês ¹	5,00	15,00	25,00	35,00	55,00	75,00
Zinco ²	24,50	24,50	24,50	24,50	24,50	24,50
Cobre ³	2,450	2,450	2,450	2,450	2,450	2,450
Ferro ⁴	10,500	10,500	10,500	10,500	10,500	10,500
Selênio ⁵	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071
Iodo ⁶	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350
Inerte	157,129	147,129	137,129	127,129	107,129	87,129

¹Availa Mn: 80 g/kg de manganês, ² Availa Zn: 120 g/kg de zinco, ³Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, ⁴Availa Fe:100 g/kg de ferro, ⁵Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, ⁶ Iodato de cálcio: 628 g/k

As rações experimentais da fase da pré-postura (Tabela 2) e postura (Tabela 3) foram formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017).

Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de pré-postura (16 a 17^o semana)

Ingredientes	%	Composição Nutricional	
Milho	68,18	EMA ⁴ , kcal/kg	2774
Farelo de soja	24,64	Proteína Bruta, %	16,79
Óleo de soja	1,000	Proteína Bruta ⁵ , %	17,85
Calcário calcítico	4,468	Matéria seca ⁵ , %	91,02
Fosfato Bicálcico	0,812	Matéria mineral ⁵ , %	6,078
Bicarbonato de sódio	0,078	Fósforo disponível, %	0,440
Sal comum	0,181	Cálcio, %	2,200
DL-metionina 99	0,166	Sódio, %	0,160
L-lisina 78,8	0,114	Cloro, %	0,150
Premix mineral ¹	0,200	Potássio, %	1,111
Premix vitamínico ²	0,150	Lisina digestível, %	0,836
Fitase ³	0,006	Metionina digestível, %	0,398
Total	100,00	Metionina + Cistina digestível, %	0,686

¹Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100 g/kg de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio; ²Vitamina A (mín): 9.000.000,00 1720 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20.000,00 UI/kg, Vitamina K3 (mín): 2.50 g/kg, 1721 Vitamina B1 (mín): 2.0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6.0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3.0 g/kg, Vitamina B12 (mín): 15.000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ac. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ac. Pantatênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mínimo) 10.000 FTU/g;

⁴Energia metabolizável; ⁵Valores analisados (AOAC, 2001).

Tabela 3. Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de postura (18 a 26^o semana)

Ingredientes	%	Composição Nutricional	
Milho	57,92	EMA ⁴ , kcal/kg	2857
Farelo de soja	28,44	Proteína Bruta, %	17,64
Óleo de soja	2,100	Proteína Bruta ⁵ , %	18,51
Calcário calcítico	9,435	Matéria seca ⁵ , %	89,00
Fosfato Bicálcico	0,899	Matéria mineral ⁵ , %	8,65
Bicarbonato de sódio	0,150	Fósforo disponível, %	0,450
Sal comum	0,210	Cálcio, %	4,100
DL-metionina 99	0,290	Sódio, %	0,180
L-lisina 78,8	0,010	Cloro, %	0,217
Premix mineral ¹	0,200	Potássio, %	0,706
Premix vitamínico ²	0,150	Lisina digestível, %	0,840
Fitase ³	0,006	Metionina digestível, %	0,535
Total	100,00	Metionina + Cistina digestível, %	0,823

¹Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100 g/kg de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio; ²Vitamina A (mín): 9.000.000,00 1720 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20.000,00 UI/kg, Vitamina K3 (mín): 2.50 g/kg, 1721 Vitamina B1 (mín): 2.0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6.0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3.0 g/kg, Vitamina B12 (mín): 15.000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ac. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ac. Pantatênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mínimo) 10.000 FTU/g;

⁴Energia metabolizável; ⁵Valores analisados (AOAC, 2001).

Após a produção das rações uma amostra com aproximadamente 500g de cada ração foi congelada em um freezer a -20°C, para posterior análise de proteína pelo método de Micro-Kjeldahl (Nx6,25), matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) em mufla (550°C; 18h) (AOAC, 2000). A composição mineral das rações ofertadas nas fases de pré-postura e início da postura (Tabela 4) também foram analisadas.

Tabela 4 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P das dietas experimentais das fases de pré-postura e início da postura

Dietas*	Mn	Zn	Cu	Fe	Ca	P
Pré-postura						
	mg kg⁻¹			g kg⁻¹		
Mn-5	52,94	50,06	9,28	82,60	21,03	5,04
Mn-15	69,94	51,95	9,29	82,48	19,65	5,34
Mn-25	84,15	54,76	8,32	82,09	19,06	5,03
Mn-35	98,09	56,17	8,13	74,26	20,06	5,9
Mn-55	128,00	53,42	8,09	87,97	20,67	4,77
Mn-75	156,65	55,52	10,40	80,20	20,55	4,78
Postura						
Mn-5	53,72	51,28	7,39	85,83	41,11	5,06
Mn-15	74,39	52,76	7,87	89,17	40,64	5,03
Mn-25	95,34	57,59	7,33	86,00	39,91	4,86
Mn-35	121,99	55,14	9,15	86,49	40,53	5,16
Mn-55	136,53	57,72	7,51	88,57	40,4	5,11
Mn-75	172,86	60,35	8,58	86,95	40,72	4,21

*Valores obtidos por meio de ICP-OES

2.3.DESEMPENHO

O desempenho produtivo foi avaliado por meio do peso do ovo (g), produção de ovo, massa de ovos (g/ave dia), consumo de ração (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg de ração/ dúzia de ovos e kg de ração/ kg de ovos). A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia, na qual os ovos foram contabilizados, pesados individualmente e posteriormente foram classificados de acordo com o peso (Figura 2.)

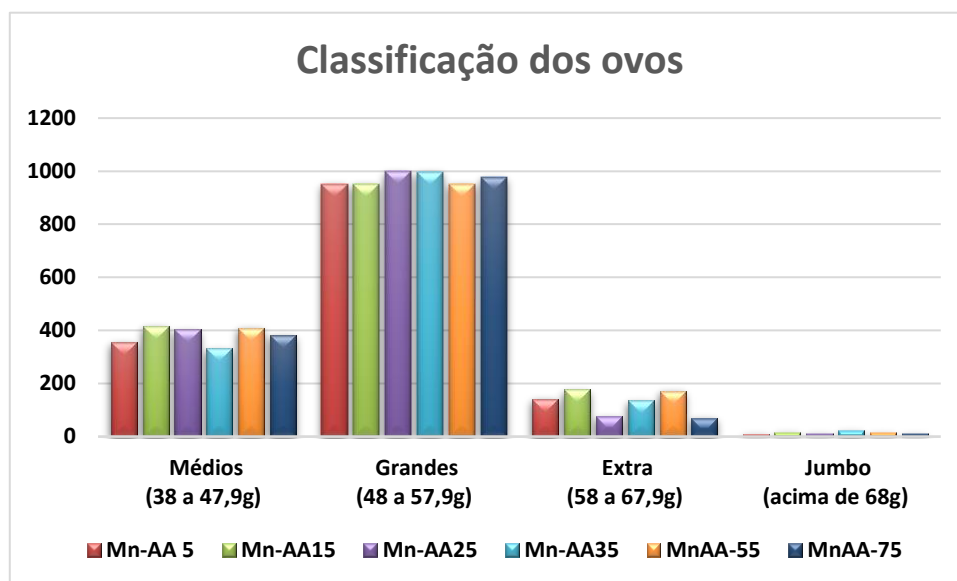


Figura 2. Classificação de ovos de acordo com o peso

2.3.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS

Às 26^o de idade, uma ave por parcela foi selecionada de acordo com o peso médio ($1436 \pm 5,9g$), a fim de serem submetidas à eutanásia para coleta dos órgãos. Após a eutanásia por deslocamento cervical, realizou-se a coleta e pesagem em balança semi-analítica ($\pm 0,01g$) dos seguintes órgãos: baço, fígado, pâncreas, intestino, ovário e oviduto.

2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DO SANGUE

Na 25^o semana coletou-se amostras de sangue de duas aves por parcela (5ml/cada), através da veia jugular, uma amostra foi destinada a análise do perfil hematológico e a outra do perfil bioquímico. Nas amostras direcionada a análise do perfil hematológico, quantificou-se as hemácias, plaquetas e leucócitos através da câmara de Neubauer, após diluição na solução de Natt-Herrick. O hematócrito foi quantificado pelo método microcapilar. As amostras utilizadas para analisar o perfil bioquímico foram devidamente identificadas e centrifugadas a 3500-4000 rpm por 15 minutos e em seguida com o auxílio de uma pipeta coletou-se 2ml de soro, o qual foi congelado em freezer até o momento da análise. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit comercial (BIOCLIN®), as quais posteriormente foram submetidas à leitura em espectrofotômetro (BIOCLIN, Biolisa Reader). Foram avaliados ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), proteínas totais (PT), glicose (Glc) e globulina (GB).

2.5.AVALIAÇÃO ÓSSEA

2.5.1.COLETA DE TÍBIAS

Às 26ª semana de idade, de acordo com o peso médio de cada parcela uma ave foi selecionada e eutanasiada. As tíbias direita e esquerda foram coletadas e acondicionadas em freezer a -20°C. Posteriormente as tíbias foram descongeladas em temperatura ambiente e descarnadas sem provocar injúrias na estrutura óssea. As tíbias esquerdas foram utilizadas para determinação do peso, comprimento e índice de *Seedor* e as tíbias direitas foram usadas na avaliação da resistência óssea e densitometria.

2.5.2.COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR

Para determinação do comprimento, peso e índice de *Seedor*, as tíbias foram mensuradas com auxílio de um paquímetro digital (Model Absolute Digital AOS Mitutoyo, SP, BR – precisão de 0,01mm) e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália). Posteriormente, calculou-se o índice de *Seedor*, dividindo-se o peso das cinzas (mg) pelo comprimento (mm) (SEEDOR et al., 1991).

2.5.3.DENSITOMETRIA ÓSSEA

A densitometria óssea foi obtida com o auxílio de tomografia computadorizada (scanner HiSpeed FXI CT 06824) e as imagens obtidas foram analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA). Para estimar os valores individuais, primeiramente foram realizados três níveis de cortes da diáfise (proximal, medial e distal) e cada corte foi dividido em quadrantes e uma região circular de interesse (ROI) selecionada para avaliação da densitometria do osso cortical (OLIVEIRA et al., 2012). Os dados obtidos foram obtidos em unidade Hounsfield (HU), os quais foram convertidos para mg/cm³ de hidroxiapatita de cálcio (BMD), por meio da equação descrita por Park et al. (2015):

$$BMD = \frac{200HU_t}{(HU_b - HU_w)}$$

Onde HU_t é a radiodensidade do osso mensurado; HU_b é a radiodensidade do espectro⁴⁵ de osso, que contém 200 mg de hidroxiapatita de cálcio/cm³; e HU_w é a radiodensidade do espectro da água, sem hidroxiapatita de cálcio.

2.5.4.RESISTÊNCIA ÓSSEA

A resistência óssea foi obtida através da aplicação da força por meio de um ensaio de flexão no texturômetro universal (Modelo TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey Reino Unido), no qual a força é posta em um ponto centralizado, previamente definido por meio do comprimento da tíbia, até que o osso atinja a deformação máxima. A força (Kgf) necessária para ocorrer a quebra total do osso era registrada com o auxílio do software Tesc EMIC. A distância entre os apoios foi de 40mm e a velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga de 50kg a uma velocidade de 10mm/min.

2.6.QUANTIFICAÇÃO MINERAL DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS

Inicialmente foram pesadas 0,5 g das amostras das rações experimentais e digeridas em 6 ml de HNO_3 (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology Inside, Cem Corporation*), o qual foram submetidas a um programa de aquecimento com três etapas: na 1º etapa: 1,300 potência (W), 10 minutos e temperatura de 120°C; 2º etapa: 1,500 potência (W), 15 minutos e temperatura de 179°C e por fim a 3º etapa: 1,500 potência (W), 35 minutos e temperatura de 170°C. Posteriormente, as soluções obtidas foram filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume de 25 ml. A quantificação dos minerais (zinco, manganês, cobre, cálcio, fósforo e ferro) foi realizada no Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE através do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (Optima 7000 DV ICP -OES, PerkinElmer).

2.7.ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos inicialmente foram submetidos a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e normalidade dos resíduos (Shapiro Wilk) para posteriormente serem submetidas à análise de variância. Em seguida, efetuou-se a análise de regressão não-linear pelo procedimento PROC NLIN no SAS (2004) com 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A relação entre as variáveis de desempenho avaliada e a ingestão de manganês complexado foi modelada pela função matemática de Mistscherlich e através da inversão desse modelo

matemático foi estimado a ingestão ótima de manganês orgânico para cada variável de desempenho. O modelo de Mitscherlich (1909) correlacionou as variáveis estudadas com a ingestão de Mn complexados por dois fatores: máxima resposta (Rmax) e a qualidade da variável resposta (b):

$$Mn-CAA = Rmax*(1-e^{(-b * x)})$$

Onde: Rmax é a resposta máxima, “e” é o número de Euler, B é a taxa de incremento e x é a ingestão de Mn. E derivando o modelo de Mitscherlich, encontramos a eficiência marginal com base na resposta da ingestão e/ou consumo máximo de Mn-CAA:

$$\frac{\Delta X}{\Delta Y} = Rmax*(1-e^{(-\beta * x)}) = Rmax* \beta * exp(-\beta * x)$$

Já as variáveis hematológicas, bioquímicas e ósseas foram correlacionadas com a ingestão de MnAA através das funções matemáticas de Michaelis-Mentem (Érdi; Lente, 2014) e Sigmoidal (Venegas; Haris; Simon, 1998) e com a inversão do modelo estimou-se a ingestão ótima de MnAA para cada variável através de dois fatores: resposta máxima (Rmax) e a qualidade da variável resposta (km)

$$Y = \frac{(Rmax * x)}{(km + x)}$$

Onde: Rmax é a resposta máxima, km é função biológica e x é a ingestão de manganês. Através da inversão desta equação, estima-se o consumo ideal de MnAA para máxima resposta da variável, sendo:

$$MnCAA = -\frac{(Y * km)}{(y - Rmax)}$$

3.RESULTADOS

3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO

Os resultados obtidos durante o período experimental demonstraram que o fornecimento de níveis crescentes de manganês complexado a aminoácidos não influenciou o consumo de ração, peso dos ovos, conversão alimentar por massa e por dúzia de ovos. Entretanto, observou-se efeito significativo sobre a produção e massa de ovos (Tabela 5). E a partir desses dados estimou-se a ingestão suplementar de MnAA em 3,45 e 3,11 mg ave⁻¹dia⁻¹ para produção de ovos e massa de ovos, respectivamente (Figura 3).

Tabela 5 Desempenho produtivo de poedeiras comerciais no início da produção (20 a 26° semana) alimentadas com níveis crescentes de manganês complexado a aminoácidos

MnAA ¹ mg kg ⁻¹	CR ² g ave ⁻¹ dia ⁻¹	PR ³ %	PO ⁴ g ⁻¹	MO ⁵ g ⁻¹	CM ⁶	CDZ ⁷ Kg dz ⁻¹	PF ⁸ g ⁻¹
5	92,59	88,5	49,46	43,77	2,114	1,582	1.353,00
15	92,6	92,86	49,42	45,89	2,065	1,504	1.372,64
25	91,77	89,97	49,07	44,14	2,106	1,557	1.358,11
35	91,95	89,73	49,19	44,13	2,085	1,565	1.378,89
55	91,92	91,39	48,88	44,67	2,073	1,542	1.389,42
75	92,17	89,73	49,33	44,26	2,166	1,573	1.387,10
Mean	92,06	89,8485	49,26	44,2	2,096	1,561	1.387,87
P-Value	0,987	<,0001	0.754	<,0001	0.948	0,672	0,793
SEM ⁹	0,36	1,53	0,22	0,75	0,04	0,03	15,13
R-max ¹⁰	-	91,78	-	44,55	-	-	-
b ¹⁰	-	0,587	-	1,584	-	-	-

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de ração; ³Produção de ovos; ⁴Peso dos ovos; ⁵Massa dos ovos; ⁶Conversão por massa de ovos; ⁷Conversão por dúzia de ovos; ⁸Peso final das aves; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático

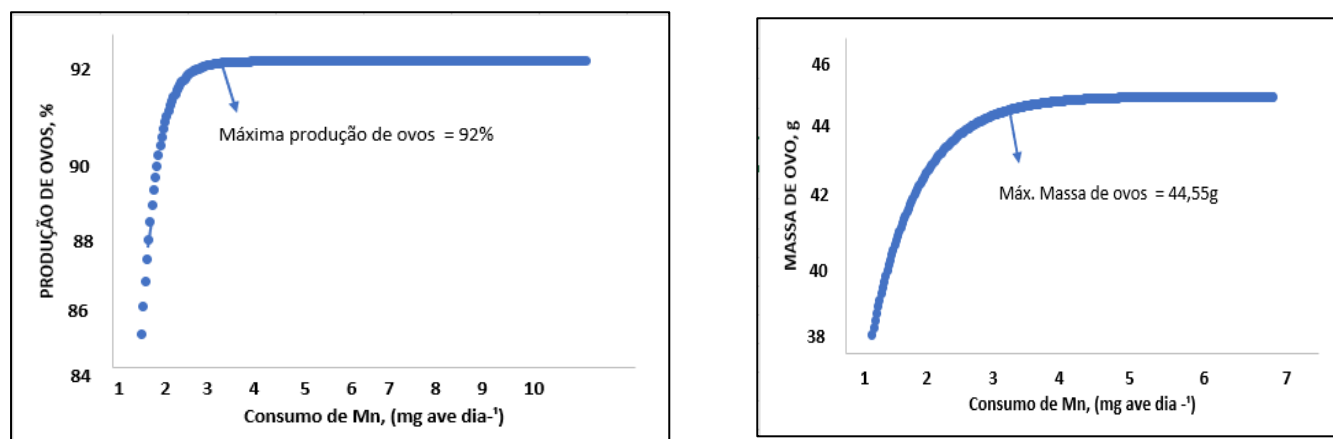


Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis: produção de ovos e massa de ovo baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comerciais

3.1.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS

Na Tabela 6 estão os pesos médios dos órgãos. Não foram observadas diferenças significativas para o peso do baço, ovário, pâncreas e intestino, entretanto, verificou-se efeito significativo ($p < 0,05$) sobre peso do oviduto e fígado. A partir dos dados obtidos, foi estimada a ingestão ótima suplementar de MnAA em 3,22 e 3,05 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para o peso do oviduto e fígado, respectivamente (Figura 4).

Tabela 6. Peso dos órgãos de poedeiras comerciais suplementadas com níveis crescentes de MnAA

MnAA ¹ mg kg ⁻¹	Peso ao abate	Baço	Ovário	Oviduto	Fígado	Pâncreas	Intestino
					g ⁻¹		
5	1.382,00	1,2	49,08	47,58	34,78	2,60	54,1
15	1.398,67	1,26	45,05	53,13	37,4	2,66	56,36
25	1.348,67	1,23	41,3	53,92	37,35	2,88	53,7
35	1.377,20	1,22	48,25	55,82	36,68	2,97	53,78
55	1.373,33	1,25	45,08	56,2	36,00	2,3	53,2
75	1.350,67	1,05	45,7	56,65	36,52	2,93	53,15
Mean	1.375,27	1,23	45,39	54,87	36,6	2,77	53,74
P-Value	0,873	0,1171	0,731	<.0001	<.0001	0,248	0,5437
SEM ²	19,18	0,08	2,76	3,38	0,97	0,26	1,19
R-max ³	-			56,55	36,67		
b ³	-	-	-	0,337	1,753		

¹Suplementação de MnAA; ² Erro padrão da média; ³Parâmetros do modelo matemático

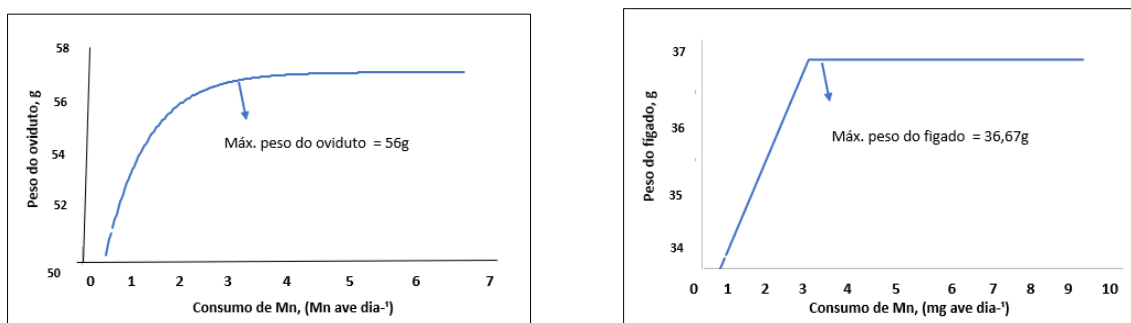


Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima do peso do oviduto e fígado baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comerciais

3.2.PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

De acordo com a Tabela 7, não foi observada diferença significativa da suplementação de MnAA sobre a hemoglobina corpuscular média (CHCM), entretanto, a concentrações das hemácias (HEM), hematócrito (HTC), leucócitos (LEU), aspartato aminotransferase (AST), hemoglobina (HGB), proteínas totais (PPT) e volume corpuscular médio (VCM) apresentaram diferenças significativas. Assim como, na Tabela 8, houve efeito significativo da suplementação de MnAA ($P < 0,05$) sobre os níveis de glicose (Glc), ácido úrico (AUR), aspartato aminotransferase (AST), albumina (ALB), proteínas totais (PT) e globulina (GB).

Foi possível estimar a ingestão ótima de MnAA a partir das variáveis HCT, HGB, PPT, VGM, AUR, ALB e AST. Não sendo possível estimar para as demais variáveis, já que não foi identificado o ponto da máxima resposta, pois o modelo matemático utilizado não se ajustou. A partir das respostas obtidas estimou-se a ingestão ideal de MnAA em 3,09; 3,40; 3,16 e 3,39 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para HTC, HGH, PPT, VGM (Figura 5) e 3,20; 3,08 e 3,32 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para AUR, ALB e AST, respectivamente (Figura 6).

Tabela 7 Hemograma de galinha poedeiras (25 semanas de idade) suplementadas com níveis crescentes de inclusão de Mn-AA

MnAA ¹ mg kg ⁻¹	HEM ² M/mm ³	HCT ³ %	LEU ⁴ mm ³	HGB ⁵	CHCM ⁶ g/dL	PPT ⁷	VCM ⁸ fL
5	2,40	27,50	58,75	9,17	33,33	6900	121,31
15	2,18	30,00	46,38	10,00	33,33	6800	129,86
25	2,35	30,00	49,75	10,00	33,33	8000	127,93
35	2,37	29,50	42,25	9,83	33,33	7100	123,83
55	2,26	29,00	48,13	9,67	33,33	7600	132,15
75	2,21	29,00	43,50	9,67	33,33	6800	131,42
Mean	2,30	29,25	47,25	9,75	33,33	7000	128,89
P-Value	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	>0,05	<.0001	<.0001
SEM ⁹	0,359	0,367	18,234	1,200	0,000	1,630	4,541
R-max ¹⁰	2,26	29,15	45,48	9,72	-	7305,00	129,40
Km ¹⁰	-0,020	0,014	-0,991	0,140	-	0,017	0,036

¹Suplementação de MnAA; ²Hemácia; ³Hematócrito; ⁴Leucócitos; ⁵Hemoglobina; ⁶Concentrações de hemoglobina corpuscular média; ⁷Proteínas plasmática totais; ⁸Volume corpuscular médio; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático.

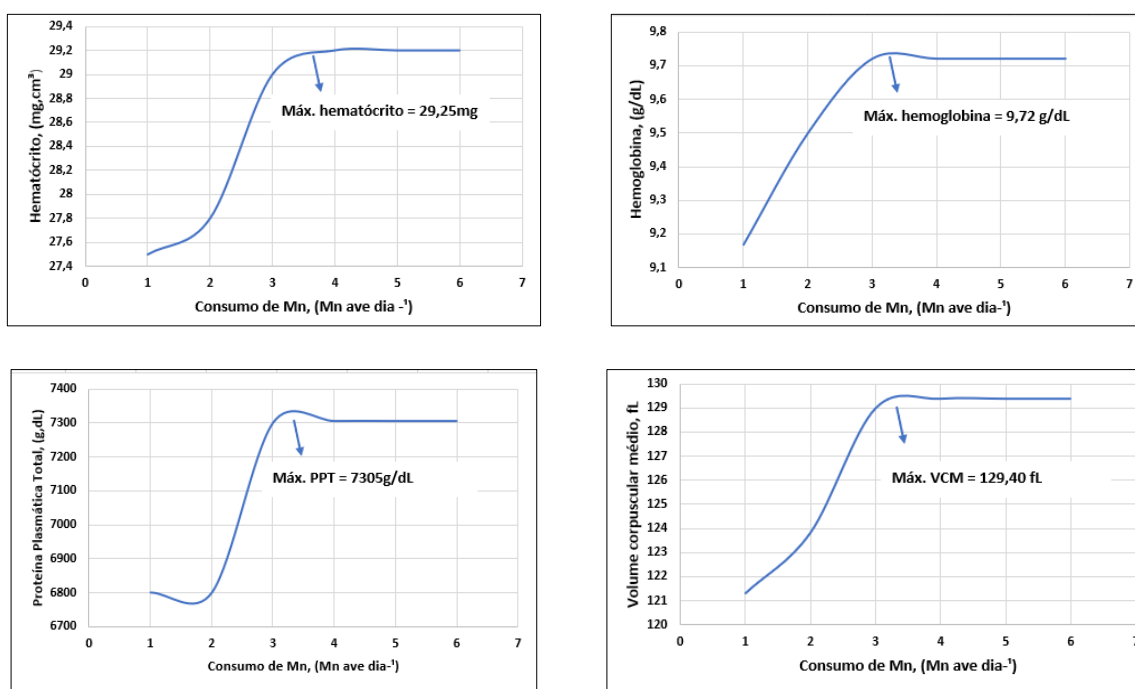


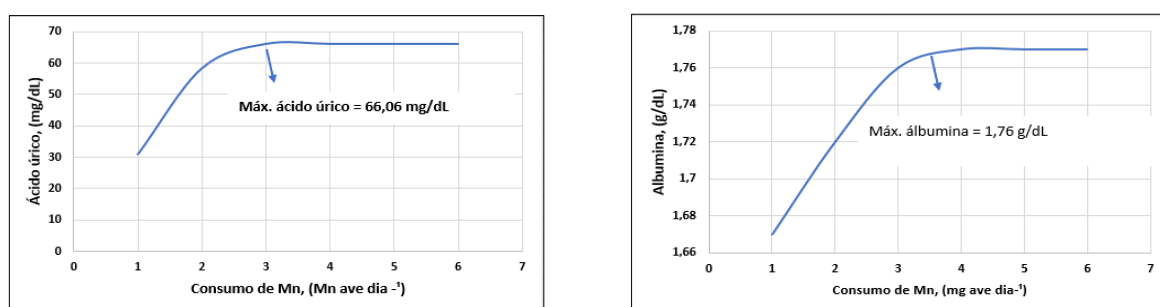
Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima do hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática total e volume corpuscular médio baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comerciais

Tabela 8 Bioquímica sérica de poedeiras comerciais com 25 semanas suplementadas com níveis crescentes de MnAA

MnAA ¹ mg kg ⁻¹	Glc ²	AUR ³ mg/dL	ALB ⁴ g/dL	PT ⁵	AST ⁶ U/L	GB ⁷
5	2920,50	52,77	1,72	3,84	133,10	2,12
15	2577,50	58,25	1,81	3,53	125,00	1,72
25	2572,50	62,98	1,82	3,97	139,60	2,15
35	2606,00	60,35	1,67	3,61	124,65	1,94
55	2489,00	63,68	1,77	3,19	150,45	1,43
75	2325,50	67,44	1,73	3,66	118,35	1,93
Mean	2575,00	61,66	1,75	3,63	129,05	1,93
P-Value	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
SEM ⁸	2,235	6,903	1,434	0,721	2,436	2,671
R-max ⁹	2446,90	66,06	1,76	3,57	132,10	2,13
Km ⁹	-0,074	0,126	0,007	-0,025	0,005	-0,543

¹Suplementação de MnAA; ²glicose; ³Ácido úrico; ⁴Albumina; ⁵Proteínas totais; ⁶Aspartato aminotransferase; ⁷Globulina;

⁸Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático.



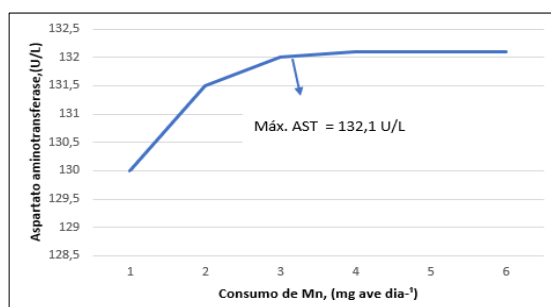


Figura 6 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis ácido úrico, albumina e aspartato aminotransferase baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comercial

3.3.AVALIAÇÃO ÓSSEA

Os níveis de suplementação crescente de MnAA não influenciaram ($P>0,05$) o comprimento das tíbias e o índice de Seedor (IS). Já nos parâmetros peso, densitometria óssea proximal (DOP), densitometria óssea medial (DOM), densitometria óssea distal (DOD) e a resistência óssea (RO) das tíbias foram encontradas diferenças significativas (Tabela 9). Entretanto, o modelo não se ajustou para as variáveis DOP e DOD.

O consumo suplementar de MnAA estimado através dos dados encontrados foram 3,39; 3,19 e 2,85 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para o peso das tíbias, densitometria óssea medial e resistência óssea, respectivamente (Figura 9).

Tabela 10 Avaliação óssea de poedeiras comerciais (26 semanas) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	PO ²	CO ³	IS ⁴	DOP ⁵	DOM ⁶	DOD ⁷	RO ⁸
mg kg ⁻¹	g ⁻¹	Mm	mg mm ⁻¹		mg cm ³		Kgf
5	8,26	114,14	7,43	987,45	645,77	801,23	8,91
15	8,73	113,42	7,85	968,66	739,94	790,70	9,34
25	8,59	115,31	7,72	902,51	664,79	740,72	8,43
35	9,32	114,57	7,38	953,51	712,19	773,25	9,18
55	8,19	114,00	7,37	787,17	773,59	822,70	8,87
75	8,05	116,61	7,24	796,50	725,33	792,47	8,74
Mean	8,42	114,36	7,41	928,01	718,76	791,59	8,89
P-Value	<.0001	>0,05	>0,05	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
SEM ⁹	0,040	0,072	0,357	17,540	12,093	11,390	1,830
R-max ¹⁰	8,533	-	-	966,3	735,14	827,14	8,73
Km ¹⁰	0,006	-	-	-2,471	0,043	-4,874	0,006

¹Suplementação de MnAA; ²Peso ósseo; ³comprimento ósseo; ⁴índice de Seedor; ⁵Densitometria óssea proximal; ⁶Densitometria óssea medial; ⁷Densitometria óssea distal; ⁸Resistência óssea; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático.

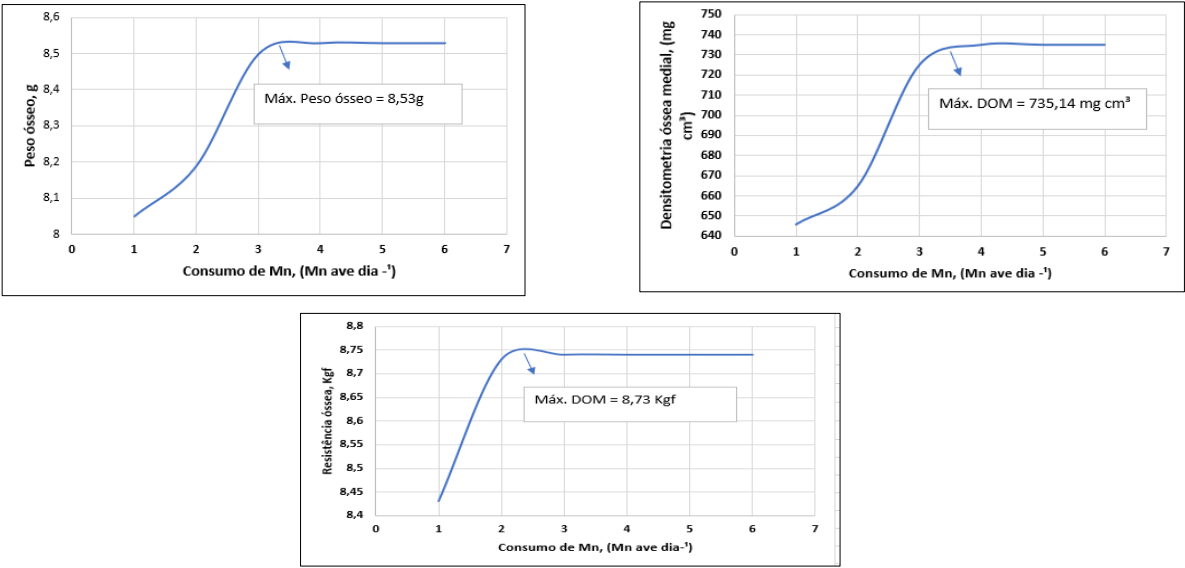


Figura 7 A linha azul representa a resposta máxima do peso ósseo, densitometria óssea medial e resistência óssea baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comercial

3.4. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES

O resumo das estimativas suplementares de MnAA obtidas nessa pesquisa, assim como as comparações destes valores com os que são sugeridos na literatura se encontram na Figura 8.

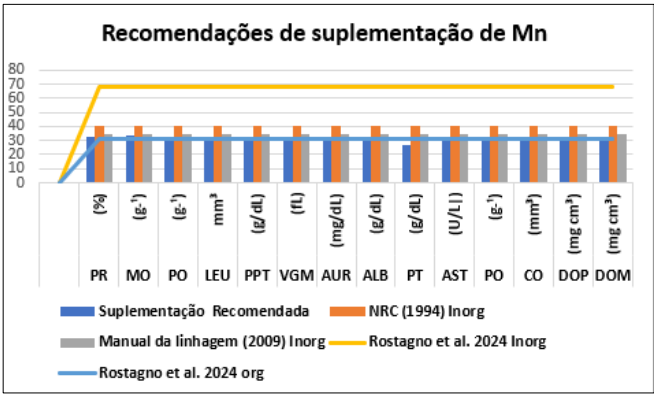


Figura 8. Comparação entre as distintas recomendações de suplementações de Mn

4.DISSCUSSÃO

A estimativa da exigência nutricional de manganês orgânico para poedeiras no início da postura ainda é um desafio para os nutricionistas, devido a reduzida quantidade de trabalhos existentes e os diferentes tipos de fontes orgânicas utilizadas. Nessa pesquisa foi possível observar que os níveis suplementares de MnAA influenciaram a produção de ovos, massa de ovos, hematócrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas totais, volume corpuscular médio, ácido úrico, albumina, aspartato aminotransferase, peso ósseo, densitometria óssea medial e resistência óssea. E através dessas variáveis foi estimada a ingestão ideal de Mn. Entretanto, é válido ressaltar que por se tratarem de variáveis diferentes, foram obtidas estimativas distintas para exigência de MnAA.

Dentre as diversas estimativas da ingestão suplementar ideal do MnAA, a que foi obtida através da densitometria óssea é a mais relevante, pois a qualidade do osso está correlacionada com a deposição de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatia, sendo dessa forma uma garantia para as produções futuras de ovos.

A máxima produção de ovos e massa de ovos, pode ser justificada pela suplementação adequada de Mn, já que esse mineral traço atua como cofator de hormônios esteroides (estrógenos e progesterona) que estimulam a liberação do LH, hormônio este que induz a ovulação e, portanto, influencia o desempenho produtivo das galinhas poedeiras (Pereira & Miguel, 2017). Estes hormônios ainda estão envolvidos na síntese da albumina pelas células epiteliais do magno e pelas glândulas tubulares (Yilmaz et al., 2015).

Além disso, a suplementação de Mn orgânico pode influenciar as variáveis morfométricas do trato reprodutor, principalmente a do magno, através da redução da oxidação e aumento da integridade celular, melhorando a morfologia do oviduto e aumentando na concentração das células secretoras de albúmen (Medeiros-Ventura et al., 2023).

A suplementação de MnAA de 3,22mg ave⁻¹dia⁻¹ proporcionou a melhor resposta para peso do oviduto. Este componente do sistema reprodutivo possui a função de secretar na gema os constituintes da camada externa, a membrana vitelina, o albúmen, as membranas da casca e da casca.

O maior peso do fígado foi alcançado com suplementação estimada de 3,05 mg ave⁻¹ dia⁻¹, já que esse órgão sintetiza os componentes da gema do ovo que são transportados por meio da corrente sanguínea e depositados no ovário (Yilmaz et al., 2015). Este órgão ainda desempenha um papel crucial na desintoxicação do organismo (Eidi et al., 2013).

O aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima intracelular localizada tanto no citosol quanto nas mitocôndrias, que sua dosagem no soro das aves é um bom indicador de alterações metabólicas no fígado. O manganês é um cofator de várias enzimas, incluindo a superóxido dismutase, enzima antioxidante importante que protege as células contra o dano oxidativo. O estresse oxidativo, em especial no fígado, pode resultar em lesão celular, o que por sua vez pode causar elevações nos níveis de enzimas como a AST (Yildiz et al., 2011). A suplementação inadequada de Mn pode prejudicar essa função antioxidante, tornando as células mais suscetíveis a danos e, conseqüentemente, aumentando os níveis de AST devido ao rompimento celular.

A faixa de referência do AST na literatura, geralmente associada a galináceos, varia entre 174,80 e 350 UI/L (Campbell, 2015). Nessa pesquisa a ingestão ótima de manganês (MnAA) para poedeiras no início da produção foi estabelecida em 3,32 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (equivalente a 36,06 mg/kg de dieta), mantendo os níveis de AST abaixo da faixa de referência (132,10 UI/L). Níveis abaixo da faixa de referência de aspartato aminotransferase (AST) em poedeiras no início da postura pode ser justificado por uma série de ajustes fisiológicos que o sistema metabólico passa para garantir a produção de ovos.

O manganês (Mn) desempenha papel crucial na formação óssea, sendo essencial para a síntese da matriz cartilaginosa (Xiao et al., 2014). A densitometria óssea pode ser considerada um ótimo indicador, pois permite a avaliação da remodelação que esse tecido sofre constantemente nesta fase, visto que a densidade é obtida pela razão entre massa de material e volume do osso (Rath et al., 2000). A suplementação dietética ideal de MnAA para a densitometria óssea medial obtida nesse estudo foi de 3,19 mg ave⁻¹dia⁻¹ (equivalente a 34,65 mg/kg de ração).

A remodelação óssea começa na zona hipertrófica inferior, onde os condroclastos reabsorvem a matriz cartilaginosa e os condrócitos hipertrofiados passam por apoptose, sendo posteriormente absorvidos pelos osteoblastos. Estes, por sua vez, secretam fosfatase alcalina, o que ajuda na formação dos cristais de hidroxiapatita e matriz óssea composta por fibrilas de colágeno tipo I. A densitometria óssea é influenciada pela concentração de cálcio no plasma, uma vez que a homeostase do cálcio é essencial para a deposição de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita durante a remodelação óssea (Florencio-Silva et al., 2015).

Como esse mineral traço é essencial para a formação e remodelação óssea, prevenção de deformidades, particularmente nas tíbias e sua deficiência pode levar a deformações na placa epifisária, encurtamento ou curvatura da tíbia, redução no comprimento das pernas, osteoporose e outros distúrbios ósseos, problemas no sistema reprodutivo e influenciar de forma negativa o

desempenho dos animais (Noetzold et al., 2020), o atendimento do requerimento pelas aves é indispensável.

Diante disso, a recomendação suplementar de Mn inorgânico para poedeiras encontras no NRC (1994) é de 60 mg kg⁻¹ e para o manual da linhagem é de 50 mg kg⁻¹, enquanto as recomendações de Mn orgânico obtidas em Rostagno et al., (2024) é de 32,9 mg kg⁻¹ a qual se aproxima da encontrada nessa pesquisa. Entretanto, essas recomendações são questionáveis, já que foram determinadas através do fator médio observado em estudos, os quais as maiores foram executados com frangos de corte. Em relação ao manual da linhagem foram utilizadas fontes distintas das utilizadas nessa pesquisa e no NRC estão desatualizadas pois foram publicadas a mais de três décadas e aves atuais são geneticamente diferentes.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, a estimativa de ingestão suplementar ideal de MnAA nas deitas de poedeiras comerciais leve no início da produção é 3,45 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (37,48 mg kg⁻¹) a qual assegura um desempenho produtivo com boa qualidade óssea e um estado de saúde satisfatório.

6. AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores agradecem ao Programa de Pós-Graduação Em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo; à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro; ao Laboratório de Caracterização de Propriedades Mecânicas do Departamento de Engenharia Mecânica, localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); ao Setor de Diagnóstico por Imagem do Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE; ao Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) do Instituto de Inovação, Pesquisa, Empreendedorismo, Internacionalização e Relações Institucionais (IPÊ) – UFRPE.

6. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official Methods of Analysis. 17. ed. Arlington: AOAC, 2000.

BURRELL, A.L. et al. Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v.45, n.2, p.225-263, 2004.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica das aves. In: THRALL, M. A.; WEIXER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. 2. ed. São Paulo: Roca, p. 1233-1257, 2015.

CLOSE, W. H. Trace mineral nutrition of pigs revisited meeting production and environmental objectives. Recent Advances in Animal Nutrition in Australia, v. 14, n. 1, p. 133-142, 2003.

EIDI, A. et al. Hepatoprotective effect of manganese chloride against CCl₄-induced liver injury in rats. **Biological Trace Element Research**, v. 155, n. 2, p. 267–275, 2013.

ÉRDI, P., LENTE, G. Stochastic Chemical Kinetics. 1. ed. Springer: Springer Series in Synergetics, 2014.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of bone tissue: Structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed research international**, [s. l.], v. 2015, p. 421746, 2015.

GAO, S.; JIN, T.; XU, B.; MA, Y.; HU, M. Amino acid facilitates absorption of Copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Science**, v.109, n.1, p.50-56, 2014.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. Journal of Dairy, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.

M'SADEQ, S. A. et al. Influence of trace mineral sources on broiler performance, lymphoid organ weights, apparent digestibility, and bone mineralization. Poultry science, v. 97, n. 9, p. 3176–3182, 2018.

MEDEIROS-VENTURA W. R. L. et al. The Impact of Phytase and Different Levels of Supplemental Amino Acid Complexed Minerals in Diets of Older Laying Hens. Animals, v. 13, n. 23, p. 3709, 2023.

MITSCHERLICH, E.A. Das gesetz des minimus und das gesetz des abnehmenden bodenertrages. Landwirtschaftliche Jahrbuecher, v.3, n4, p.537-552, 1909.

NOETZOLD, T. L. et al. Manganese requirements of broiler breeder hens. *Poultry Science*, v. 99, n. 11, p. 5814-5826, 2020.

OLIVEIRA, J. F. et al. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em 1518 tartarugas verdes hípidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1440–1445, 2012.

PARK, H. J. et al. Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction. *Internat. International Journal of Biological Macromolecules*, v. 78, n. 1, p. 215-223, 2015.

PEREIRA, E. L.; MIGUEL, A. L. R. Produção industrial de hormônios esteroides. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, n. 2, p. 411–435, 2017.

RATH, N. C. et al. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry science**, v. 79, n. 7, p. 1024–1032, 2000.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 5. ed. Viçosa: UFV, 2024.

ROSTAGNO, H.S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4^ª ed. Viçosa-Minas Gerais: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. 2017.

SEEDOR, J. G.; QUARTUCCIO, H. A.; THOMPSON, D. D. The bisphosphonate alendronate (MK217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, v. 6, n. 4, p. 339–346, 1991.

SILVA, G.C.; NASCIMENTO, M.R.B.M.; SILVA, N.P. Suplementação com zinco e selênio em frangos de corte submetidos a estresse cíclico por calor. **Revista Ceres**, v.62, n.4, p.372-378, 2015.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. SAS 3.1 User's guide, Version 3.1. Cary: SAS, Institute Inc, 2004.

STEFANELLO, C. et al. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v.93, n.1, p.104-113, 2014.

SUN, Q. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. **The Journal Poultry Science**, v.49, n.1, p.20-25, 2012.

VENEGAS, J. G.; HARRIS, R. S.; SIMON, B. A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure-volume curve. **Journal of Applied physiology**, v. 84, n. 1, p. 389-395, 1998.

XIAO, J. F. et al. Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. **Poultry Science**, v.93, n.2, p.380-38, 2014.

YILMAZ, O. et al. Estrogen-induced yolk precursors in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Status and perspectives on multiplicity and functioning of vitellogenins. **General and Comparative Endocrinology**, v. 221, n15, p. 16–22, 2015.

ZAPATA, N. K. R. Effect of incorrect of increasing le easing levels of dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) from organic and Inorganic and inorganic sources on egg quality and egg Zn, Mn, and Cu content in laying hens. Lu Digital Commons, 2016.

CAPÍTULO II

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE ZINCO COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NO INÍCIO DA POSTURA

RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo estimar a ingestão ótima de zinco complexado a aminoácido (ZnAA), com base no desempenho produtivo, parâmetros sanguíneos e avaliação óssea. Um total de 216 aves com dezesseis semanas de idade da linhagem Dekalb White, foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 6 aves cada. Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, variando apenas os níveis de inclusão de Zn-CAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹. O estudo compreendendo da 16ª a 26ª semana de vida. As ingestões de Zn para as variáveis de desempenho foram calculadas pelo modelo $Y = Rmax*(1 - e^{-bx})$, onde $Rmax$ é a resposta máxima, e é o número de Euler, b é a taxa de crescimento e x é a ingestão de Zn. E a estimativa de Zn para essas variáveis foi calculada pela inversão do modelo. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Os parâmetros $Rmax$, foram: 92,42; 48,75 e 45,1, para produção de ovos (PR), peso de ovos (PO) e massa de ovos (MO), respectivamente. Aplicando o modelo inverso para estimar o consumo de Zn, estimou-se: 3,01; 2,88 e 3,12 mg ave⁻¹ dia⁻¹. A ingestão de Zn para os parâmetros sanguíneos e ósseos foram calculadas pelos modelos $ZnAA = Rmax*x/(km+x)$ e $ZnAA = -r + \ln((-y-Rmin-amp/y-Rmin)/s)$, onde: $Rmax$ é a resposta máxima, Km é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Zn. A estimativa de Zn para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Os parâmetros $Rmax$ e km : 44,67; 6962; 122,90; 59,46; 1,81; 3,65; 143,80; 9,21; 120,7; 676,2; 878,2 e 8,41, para leucócitos (LEU), proteína plasmática total (PPT), volume corpuscular médio (VCM), ácido úrico (AUR), albumina (ALB), proteínas totais (PT), aspartato aminotransferase (AST), peso ósseo (PO), comprimento ósseo (CO), densitometria óssea proximal (DOP), densitometria óssea medial (DOM) e resistência óssea (RO), respectivamente. Empregando o modelo inverso para estimar o consumo de ZnAA, temos as seguintes estimativas: 3,04; 2,83; 2,81; 3,03; 2,99; 2,49; 2,85; 3,01; 2,98; 3,04; 3,10 e 3,17 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para LEU, PPT, VCM, AUR, ALB, PT, AST, PO, CO, DOP, DOM e RO, respectivamente. A recomendação para suplementação de ZnAA para poedeiras de 16 a 26ª semanas é de 3,12 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (33,8 mg kg⁻¹), considerando melhor desempenho produtivo, metabolismo e qualidade óssea.

PALAVRAS-CHAVES: Densitometria Óssea, Estimativa de consumo, Mineral Complexado, Mineral Orgânico, Poedeiras Comerciais.

ABSTRACT

This study aimed to estimate the optimal intake of amino acid-complexed zinc (ZnAA) based on productive performance, blood parameters, and bone assessment. A total of 216 sixteen-week-old Dekalb White hens were distributed in a completely randomized design with 6 treatments, each with 6 replicates of 6 birds. The treatments consisted of isonutritive and isoenergetic experimental diets, varying only in Zn-CAA inclusion levels: 5, 15, 25, 35, 55, and 75 mg kg⁻¹. The study spanned from the 16th to the 26th week of life. Zn intakes for performance variables were calculated using the model $Y = R_{max} \cdot (1 - e^{(-b \cdot x)})$, where R_{max} is the maximum response, e is Euler's number, b is the growth rate, and x is Zn intake. Zn estimates for these variables were calculated by inverting the model. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The R_{max} parameters were: 92.42, 48.75, and 45.1 for egg production (PR), egg weight (PO), and egg mass (MO), respectively. Using the inverse model to estimate Zn consumption, the estimates were: 3.01, 2.88, and 3.12 mg per bird per day. Zn intake for blood and bone parameters were calculated using the models $ZnAA = R_{max} \cdot x / (K_m + x)$ and $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - amp) / (y - R_{min}) / s)$, where R_{max} is the maximum response, K_m is a biological function parameter, and x is Zn intake. Zn estimates for each variable were calculated by inverting the models. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The R_{max} and K_m parameters were: 44.67, 6962, 122.90, 59.46, 1.81, 3.65, 143.80, 9.21, 120.7, 676.2, 878.2, and 8.41 for leukocytes (LEU), total plasma protein (PPT), mean corpuscular volume (MCV), uric acid (AUR), albumin (ALB), total proteins (TP), aspartate aminotransferase (AST), bone weight (BW), bone length (BL), proximal bone densitometry (PBD), medial bone densitometry (MBD), and bone resistance (BR), respectively. Using the inverse model to estimate ZnAA consumption, the following estimates were obtained: 3.04; 2.83; 2.81; 3.03; 2.99; 2.49; 2.85; 3.01; 2.98; 3.04; 3.10 and 3.17 mg per bird per day for LEU, PPT, MCV, AUR, ALB, TP, AST, BW, BL, PBD, MBD, and BR, respectively. The recommendation for ZnAA supplementation for laying hens from 16 to 26 weeks of age is 3.10 mg per bird per day (33.6 mg kg⁻¹), considering better productive performance, metabolism, and bone quality.

KEYWORDS: Bone Densitometry, Consumption Estimate, Complexed Mineral, Organic Mineral, Commercial Layers

1. INTRODUÇÃO

Um dos períodos mais críticos da vida de uma poedeira e que impacta de forma direta nos resultados produtivos de um lote, é o início da postura, já que nessa fase a ave necessita de um aporte nutricional adequado que a possibilite produzir os primeiros ovos e que essa produção aumente de forma exponencial em poucas semanas.

Devido a isso, os produtores cada vez mais vem investindo em novas tecnologias e na nutrição, pois para que aves consigam expressar o seu máximo potencial genético, todo o seu requerimento nutricional precisa ser atendido. Dentre os nutrientes podemos destacar o zinco, que é um micromineral de fundamental importância por se encontrar envolvido no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas, atua também na secreção de hormônios, produção de queratina, síntese de colágeno e ácidos nucleicos. Além disso, o zinco é co-fator da enzima anidrase carbônica que atua na calcificação dos ossos e essencial para a integridade do sistema imune (Zhang et al., 2017; Min et al., 2018; Li et al., 2019).

Habitualmente, a sua suplementação mineral é feita com as fontes inorgânicas (óxidos, carbonatos, cloretos e sulfatos), apresentando baixa biodisponibilidade (Silva et al., 2015). No trato gastrointestinal, os minerais inorgânicos necessitam ser solubilizados na forma iônica para serem absorvidos, todavia, tais formas podem se associar a componentes dietéticos, ficando indisponíveis para os animais. Devido a essa situação, são ofertadas concentrações elevadas nas dietas, o que pode ocasionar problemas renais, hepáticos e respiratórios nas aves e a fração excretada intensificar o impacto ambiental (Araujo et al., 2008).

Dessa forma, a suplementação mineral realizada através dos minerais ligados a moléculas orgânicas (MMO) vem em uma crescente. Já que a fonte orgânica apresenta alta estabilidade química ao alcançarem o trato gastrointestinal e uma reduzida capacidade de interação com outros componentes dietéticos, resultando em uma maior biodisponibilidade mineral quando comparados às fontes inorgânicas (Stefanello et al., 2014). Ao serem absorvidos ultrapassam as células da mucosa intestinal e chegam ao plasma com as suas ligações inalteradas (Jintasatapom et al., 2015). Dessa forma o transporte dos minerais passa a ser mediado pelos transportadores de aminoácidos sendo absorvido rapidamente e em maiores concentrações (Sauer et al., 2017).

Burrell et al. (2004) afirmam que existe uma variedade de MMOs, como os glicinatos, proteinatos, quelatos de metal-aminoácido, minerais complexados a aminoácidos e complexo aminoácido específico, os quais possuem capacidades.

Li et al., 2019, ao trabalhar com o sulfato de zinco e zinco-metionina verificaram, que os níveis de 60 e 80 mg/kg de zinco-metionina promoveu efeito positivo sobre o desempenho e na qualidade dos ovos. Enquanto Sun et al. 2012, observaram que o uso da metionina hidroxianálogo de cobre, manganês e zinco nas concentrações de 20 mg/kg apresentaram os melhores resultados sobre o peso dos ovos e espessura da casca.

Então fica evidenciado que, além da forma química dos minerais, os níveis de suplementação nas dietas necessitam ser estudados. Dessa forma, objetivou-se determinar o consumo ótimo de zinco complexado a aminoácido em poedeiras comerciais no início da postura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido sob a aprovação do Comitê de Ética no Uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o protocolo nº6000110221.

2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Pequenos Animais de Carpina (EEPAC), situada em Carpina-PE, com coordenadas geográficas de latitude 07°50'45" sul e longitude 35°15'18" oeste. Foram utilizadas 216 aves da linhagem Dekalb White, com idades entre 16 e 26 semanas, alojadas em 36 gaiolas experimentais. Essas gaiolas, pintadas com tinta eletrostática e medindo 50x40x50 cm, estavam equipadas com bebedouros automáticos e comedouros tipo calha. Durante o experimento, a água foi fornecida ad libitum e a ração foi ajustada semanalmente para atender às necessidades nutricionais das aves.

O programa de iluminação seguiu as orientações do manual da linhagem, que recomenda adicionar 1 hora de luz artificial quando 5% da produção de ovos for alcançado e ir aumentando gradativamente até totalizar 16 horas de luz por dia (12 horas de luz natural e 4 horas de luz artificial). A temperatura e a umidade relativa do ar foram monitoradas diariamente usando um Datalogger (HOBO U12-012), instalado no centro do galpão, e dois termômetros digitais

(modelo 7663.02.0.00, IncotermR, Porto Alegre, RS, BR), posicionados em locais distintos do galpão (ver Figura 1).

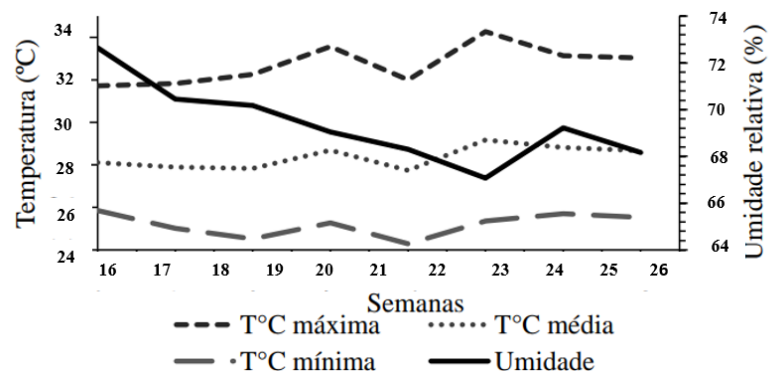


Figura 1 Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental

2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas 216 aves com 16 semanas de idade, de acordo com o peso médio ($1140 \pm 5,7g$) foram distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso composto por 6 tratamentos, cada um com 6 repetições contendo 6 aves. As dietas experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutritivas, variando exclusivamente no nível de zinco complexo com aminoácidos, com concentrações de 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg/kg. A fonte mineral fornecida continha na sua composição os aminoácidos essenciais: lisina, metionina, treonina, valina, serina, prolina, tirosina, leucina, isoleucina, fenilalanina, ácido glutâmico, glicina, alanina, arginina, ácido aspártico e histidina, todos ligados ao íon de zinco na proporção de 1:1.

O premix de minerais traços foi elaborado conforme as diretrizes do manual da linhagem (Dekalb White – Nutrition Guide, 2009), com exceção do zinco, que foi ajustado em níveis variando de 5 a 75 mg/kg (Tabela 1). Este premix continha manganês, zinco, cobre e ferro em formas complexadas com aminoácidos, iodo na forma de iodato de cálcio, e selênio na forma de Zinco-L-Selenometionina

Tabela 1. Composição do premix mineral utilizados nas fases de pré-postura e postura

Tratamentos	Zn-AA					
	5	15	25	35	55	75
	mg kg ⁻¹					
Zinco ¹	5,00	15,00	25,00	35,00	55,00	75,00
Manganês ²	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Cobre ³	2,45	2,45	2,45	2,45	2,45	2,45
Ferro ⁴	10,50	10,50	10,50	10,50	10,50	10,50
Selênio ⁵	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071	0,071
Iodo ⁶	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Inerte	146,63	136,63	126,63	116,63	96,63	76,63

¹ Availa Zn: 120 g/kg de zinco, ²Availa Mn: 80 g/kg de manganês, ³Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, ⁴Availa Fe:100 g/kg de ferro, ⁵Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, ⁶ Iodato de cálcio: 628 g/kg

As rações experimentais da fase da pré-postura (Tabela 2) e postura (Tabela 3) foram formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017).

Tabela 2. Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de pré-postura (16 a 17^o semana)

Ingredientes	%	Composição Nutricional	
Milho	68,18	EMA ⁴ , kcal/kg	2774
Farelo de soja	24,64	Proteína Bruta, %	16,79
Óleo de soja	1,000	Proteína Bruta ⁵ , %	17,85
Calcário calcítico	4,468	Matéria seca ⁵ , %	92,11
Fosfato Bicálcico	0,812	Matéria mineral ⁵ , %	6,100
Bicarbonato de sódio	0,078	Fósforo disponível, %	0,440
Sal comum	0,181	Cálcio, %	2,200
DL-metionina 99	0,166	Sódio, %	0,160
L-lisina 78,8	0,114	Cloro, %	0,150
Premix mineral ¹	0,200	Potássio, %	1,111
Premix vitamínico ²	0,150	Lisina digestível, %	0,836
Fitase ³	0,006	Metionina digestível, %	0,398
Total	100,00	Metionina + Cistina digestível, %	0,686

¹Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100 g/kg de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio; ²Vitamina A (mín): 9.000.000,00 1720 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20.000,00 UI/kg, Vitamina K3 (mín): 2.50 g/kg, 1721 Vitamina B1 (mín): 2.0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6.0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3.0 g/kg, Vitamina B12 (mín): 15.000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ac. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ac. Pantatênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mínimo) 10.000 FTU/g; ⁴Energia metabolizável; ⁵Valores analisados (AOAC, 2001).

Tabela 3 Composição calculada e analisada das dietas experimentais na fase de postura (18 a 26ª semana)

Ingredientes	%	Composição Nutricional	
Milho	57,92	EMA ⁴ , kcal/kg	2857
Farelo de soja	28,44	Proteína Bruta, %	17,64
Óleo de soja	2,100	Proteína Bruta ⁵ , %	18,51
Calcário calcítico	9,435	Matéria seca ⁵ , %	91,00
Fosfato Bicálcico	0,899	Matéria mineral ⁵ , %	8,72
Bicarbonato de sódio	0,150	Fósforo disponível, %	0,450
Sal comum	0,210	Cálcio, %	4,100
DL-metionina 99	0,290	Sódio, %	0,180
L-lisina 78,8	0,010	Cloro, %	0,217
Premix mineral ¹	0,200	Potássio, %	0,706
Premix vitamínico ²	0,150	Lisina digestível, %	0,840
Fitase ³	0,006	Metionina digestível, %	0,535
Total	100,00	Metionina + Cistina digestível, %	0,823

¹Availa Zn: 120 g/kg de zinco, Availa Mn: 80 g/kg de manganês, Availa Cu: 100 g/kg de Cobre, Availa Fe:100 g/kg de ferro, Availa Se: 1000 mg/kg de selênio, 628 g/kg de Iodato de cálcio; ²Vitamina A (mín): 9.000.000,00 1720 UI/kg, Vitamina D3 (mín): 2.500.000,00 UI/kg, Vitamina E (mín): 20.000,00 UI/kg, Vitamina K3 (mín): 2.50 g/kg, 1721 Vitamina B1 (mín): 2.0 g/kg, Vitamina B2 (mín): 6.0 g/kg, Vitamina B6 (mín): 3.0 g/kg, Vitamina B12 (mín): 15.000,00 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ac. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ac. Pantatênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mínimo) 10.000 FTU/g;

⁴Energia metabolizável; ⁵Valores analisados (AOAC, 2001).

Após a confecção das rações uma amostra com aproximadamente 500g de cada ração foi congelada em um freezer a -20°C, para posterior análise de proteína pelo método de Micro-Kjeldahl (Nx6,25), matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) em mufla (550°C; 18h) (AOAC, 2000). A composição mineral das rações ofertadas nas fases de pré-postura e início da postura (Tabela 4) também foram analisadas.

Tabela 4 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P das dietas experimentais das fases de pré-postura e início da postura.

Dietas*	Zn	Mn	Cu	Fe	Ca	P
Pré-postura						
	mg kg ⁻¹			g kg ⁻¹		
Zn-5	37,64	88,39	11,39	81,82	27,42	4,73
Zn-15	45,68	80,74	13,37	86,41	26,52	4,95
Zn-25	53,63	88,01	11,91	83,56	27,62	5,05
Zn-35	76,14	88,49	13,47	80,4	27,49	5,07
Zn-55	88,07	86,5	11,00	86,21	27,67	4,97
Zn-75	97,6	87,83	10,47	87,03	27,02	4,53
Postura						
Zn-5	37,8	77,16	11,71	77,58	47,50	4,72
Zn-15	43,3	79,34	13,41	74,12	47,29	4,94
Zn-25	53,39	78,27	10,02	75,19	47,00	5,08
Zn-35	77,61	87,17	13,2	71,8	470,98	5,07
Zn-55	85,35	76,99	10,6	76,11	47,18	4,92
Zn-75	97,61	76,71	10,51	72,77	47,69	4,52

*Valores obtidos por meio de ICP-OES

2.3. DESEMPENHO

No ensaio desempenho foi avaliado por meio do peso do ovo (g), produção de ovo, massa de ovos (g/ave dia), consumo de ração (g/ave/dia) e conversão alimentar (kg de ração/ dúzia de ovos e kg de ração/ kg de ovos). A coleta dos ovos foi realizada duas vezes ao dia, na qual os ovos foram contabilizados, pesados individualmente e posteriormente foram classificados de acordo com o peso (Figura 2).

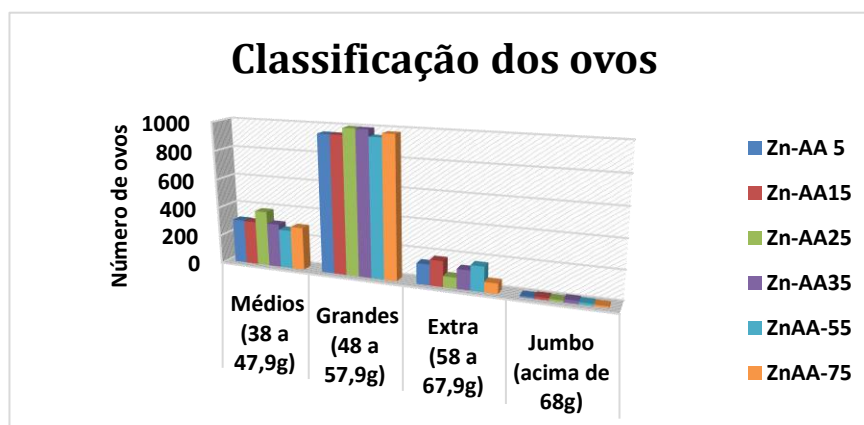


Figura 2. Classificação dos ovos de acordo com o peso

2.3.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS

Às 26^o semanas de idade, uma ave por unidade experimental foi selecionada de acordo com o peso médio de cada unidade experimental, a fim de serem submetidas à eutanásia para coleta dos órgãos. Após a eutanásia por deslocamento cervical, realizou-se a coleta e pesagem em balança semi-analítica ($\pm 0,01g$) dos seguintes órgãos: baço, fígado, pâncreas, intestino, ovário e oviduto.

2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

As 25^a semana, foram coletadas amostras de sangue de duas aves por parcela (5 ml cada), retiradas da veia jugular. Uma das amostras foi destinada à análise hematológica e a outra à bioquímica. Para a análise hematológica, as amostras foram diluídas em solução de Natt-Herrick e, em seguida, os parâmetros como hemácias, plaquetas e leucócitos foram quantificadas utilizando uma câmera de Neubauer. O hematócrito foi medido pelo método microcapilar.

As amostras para o perfil bioquímico foram identificadas, centrifugadas a 3500-4000 rpm por 15 minutos e, posteriormente, 2 ml de soro foram separados com a ajuda de uma pipeta e armazenados em um freezer até a análise. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit comercial (BIOCLIN®), as quais posteriormente foram submetidas à leitura em espectrofotômetro (BIOCLIN, Biolisa Reader). Os parâmetros avaliados incluíram ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), proteínas totais (PT), glicose (Glc) e globulina (GB).

2.5. AVALIAÇÃO OSSEA

2.5.1. COLETA DE TÍBIAS

Às 26ª semana, uma ave de cada parcela foi selecionada e eutanasiada com base no peso médio(mknjk) de cada grupo. As tíbias direita e esquerda foram então coletadas, devidamente identificadas e armazenadas em um freezer a -20°C. Após o período de congelamento, as tíbias foram descongeladas à temperatura ambiente e descarnada com cuidado para não danificar a estrutura óssea. As tíbias esquerdas foram utilizadas para medir peso, comprimento e o índice de Seedor, enquanto as tíbias direitas foram usadas para avaliar a resistência óssea e realizar a densitometria.

2.5.2. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR

Para determinação do comprimento foi utilizada um um paquímetro digital (Model Absolute Digital AOS Mitutoyo, SP, BR – precisão de 0,01mm), o peso das tíbias foi obtido por uma balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália).E posteriormente, calculou-se o índice de *Seedor*, dividindo-se o peso das cinzas (mg) pelo comprimento (mm) (Seedor et al., 1991).

2.5.3. DENSINTOMETRIA ÓSSEA

A densitometria óssea foi obtida com o auxílio de tomografia computadorizada (scanner HiSpeed FXI CT 06824) e as imagens obtidas foram analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA). Para estimar os valores individuais, primeiramente foram realizados três níveis de cortes da diáfise (proximal, medial e distal) e cada corte foram divididos em quadrantes e uma região circular de interesse (ROI) selecionada para avaliação da densitometria do osso cortical (OLIVEIRA et al., 2012). Os dados obtidos foram obtidos em unidade Housfield (HU), os quais foram convertidos para mg/cm³ de hidroxiapatita de cálcio (BMD), por meio da equação descrita por Park et al. (2015):

$$BMD = \frac{200HU_t}{(HUb - HUw)}$$

Onde HU_t é a radiodensidade do osso mensurado; HU_b é a radiodensidade do espectro de osso, que contém 200 mg de hidroxiapatita de cálcio/cm³; e HU_w é a radiodensidade do espectro da água, sem hidroxiapatita de cálcio.

2.5.4. RESISTÊNCIA ÓSSEA

A resistência óssea foi obtida através da aplicação da força por meio de um ensaio de flexão no texturômetro universal (Modelo TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey Reino Unido), no qual a força é posta em um ponto centralizado, previamente definido por meio do comprimento da tíbia, até que o osso atinja a deformação máxima. A força (Kgf) necessária para ocorrer a quebra total do osso era registrada com o auxílio do software Tesc EMIC. A distância entre os apoios foi de 40mm e a velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga de 50kg a uma velocidade de 10mm/min.

2.6. QUANTIFICAÇÃO MINERAL DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS

Inicialmente foram pesadas 0,5 g das amostras das rações experimentais e digeridas em 6 ml de HNO_3 (65%) em forno micro-ondas (*Mars Xpress: Thechnology Inside, Cem Corporation*), o qual foram submetidas a um programa de aquecimento com três etapas: na 1ª etapa: 1,300 potência (W), 10 minutos e temperatura de 120°C; 2ª etapa: 1,500 potência (W), 15 minutos e temperatura de 179°C e por fim a 3ª etapa: 1,500 potência (W), 35 minutos e temperatura de 170°C. Posteriormente, as soluções obtidas foram filtradas em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume de 25 ml. A quantificação dos minerais (zinco, manganês, cobre, cálcio, fósforo e ferro) foi realizada no Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE através do espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (Optima 7000 DV ICP -OES, PerkinElmer).

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos inicialmente foram submetidos a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e normalidade dos resíduos (Shapiro Wilk) para posteriormente serem submetidas à análise de variância. Em seguida, efetuou-se a análise de regressão não-linear pelo procedimento PROC NLIN no SAS (2004) com 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A relação entre as variáveis de desempenho avaliada e a ingestão de manganês complexado foi modelada pela função matemática de Mistscherlich e através da inversão desse modelo matemático foi estimado a ingestão ótima de manganês orgânico para cada variável de desempenho. O modelo de Mistscherlich (1909) correlacionou as variáveis estudadas com a ingestão de Mn complexados por dois fatores: máxima resposta (Rmax) e a qualidade da variável resposta (b):

$$Mn-CAA = Rmax*(1-e^{(-b * x)})$$

Onde: Rmax é a resposta máxima, “e” é o número de Euler, B é a taxa de incremento e x é a ingestão de Mn. E derivando o modelo de Mitscherlich, encontramos a eficiência marginal com base na resposta da ingestão e/ou consumo máximo de Zn-CAA:

$$\frac{\Delta X}{\Delta Y} = Rmax*(1-e^{(-\beta * x)}) = Rmax*\beta*exp(-\beta*x)$$

Já as variáveis hematológicas, bioquímicas e ósseas foram correlacionadas com a ingestão de MnAA através das funções matemáticas de Michaelis-Mentem (Érdi; Lente, 2014) e Sigmoidal (Venegas; Haris; Simon, 1998) e com a inversão do modelo estimou-se a ingestão ótima de MnAA para cada variável através de dois fatores: resposta máxima (Rmax) e a qualidade da variável resposta (km)

$$Y = \frac{(Rmax * x)}{(km + x)}$$

3. RESULTADOS

3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO

A suplementação com níveis crescentes de ZnAA não afetou de forma significativa o consumo de ração, conversão alimentar por massa e por dúzia de ovos, no entanto, observou-se efeito significativo sobre a produção, peso e massa de ovos (Tabela 5).

E a partir desses estimou-se a ingestão suplementar de ZnAA em 3,01; 2,88 e 3,12 mg ave⁻¹dia⁻¹ para produção, peso e massa de ovos, respectivamente (Figura 3).

Tabela 5. Desempenho produtivo de poedeiras comerciais no início da produção (20 a 26ª semana)^{7,8} alimentadas com níveis crescentes de manganês complexado a aminoácidos.

ZnAA ¹	CR ²	PR ³	PO ⁴	MO ⁵	CM ⁶	CDZ ⁷	PF ⁸
mg kg ⁻¹	g ave ⁻¹ dia ⁻¹	%	g ⁻¹			Kg dz ⁻¹	g ⁻¹
5	92,83	88,84	48,51	43,98	2,045	1,593	1.436,43
15	92,47	93,62	48,75	45,63	2,032	1,565	1.456,21
25	92,41	91,83	48,87	45,12	2,094	1,52	1465.72
35	92,13	91,95	48,89	45,17	2,097	1,552	1.432,32
55	92,07	91,95	48,46	45,05	2,028	1,563	1.433,69
75	92,06	93,47	48,8	45,19	2,091	1,489	1.456,32
Mean	92,31	91,84	48,71	45,02	2,068	1,558	1.446,78
P-Value	0,6154	<,0001	<,0001	<,0001	0,7038	0,0624	0,865
SEM ⁹	0,3	1,72	0,18	1,58	0,03	0,04	15,24
R-max ¹⁰	-	92,42	48,75	45,1	-	-	-
b ¹⁰	-	7,04	11,2	6,72	-	-	-

¹Suplementação de ZnAA; ²Consumo de ração; ³Produção de ovos; ⁴Peso dos ovos; ⁵Massa dos ovos; ⁶Conversão por massa de ovos; ⁷Conversão por dúzia de ovos; ⁸ Peso final das aves; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático

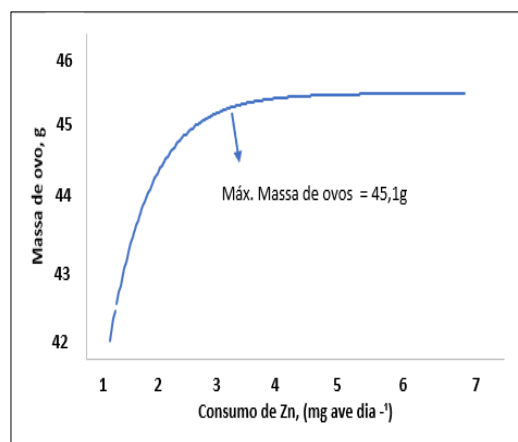
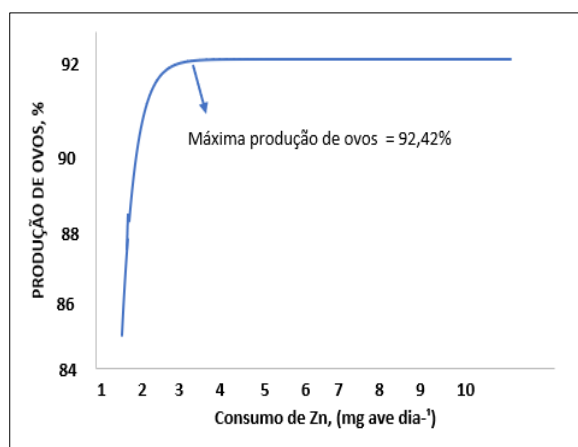


Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima da produção de ovos, peso de ovo e massa do ovo baseada no consumo de ZnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comercial

3.1.1. BIOMETRIA DOS ÓRGÃOS

Na Tabela 6 estão os pesos médios dos órgãos. Não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) para o peso do baço, ovário, oviduto, pâncreas e intestino.

Tabela 6. Peso dos órgãos de poedeiras comerciais suplementadas com níveis crescentes de ZnAA

ZnAA ¹	Peso ao abate	Baço	Ovário	Oviduto	Fígado	Pâncreas	Intestino
mg kg ⁻¹					g ⁻¹		
5	1.429,66	1,36	36,66	53,72	28,42	2,88	54,9
15	1.428,40	1,26	36,76	50,13	28,48	2,74	54,46
25	1.408,60	1,34	38,34	53,45	28,5	2,84	55,36
35	1.414,33	1,31	43,87	55,13	29,35	2,83	55,56
55	1.416,00	1,25	44,18	54,56	29,18	2,72	55,7
75	1.458,00	1,34	44,42	55,65	29,66	2,7	55,16
Mean	1.425,17	1,31	40,7	54,14	28,93	2,78	55,19
P-Value ²	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
SEM ³	17,79	0,05	3,83	3,12	0,53	0,07	0,46

¹Suplementação de ZnAA; ²Erro padrão da média; ³Parâmetros do modelo matemático.

3.2. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

Foram observadas diferenças significativas ($P<0,05$) hematócrito (HCT), leucócitos (LEU), aspartato aminotransferase (AST), hemoglobina (HGB), proteínas totais (PPT) e volume corpuscular médio (VCM). E apesar da diferença, não houve ponto de máximo para o HCT, AST e HGB, impossibilitando a estimativa do consumo ideal de ZnAA pelas aves. Já para os leucócitos, proteínas totais e o volume corpuscular médio foi-se estimado a ingestão ótima de ZnAA em 3,04; 2,84 e 2,81 mg ave⁻¹dia⁻¹, respectivamente (Figura 4). E por fim, não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) da suplementação de ZnAA sobre a hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Tabela 7).

Tabela 7. Hemograma de galinha poedeiras (25 semanas de idade) suplementadas com níveis crescentes de inclusão de ZnAA

ZnAA ¹	HEM ²	HCT ³	LEU ⁴	HGB ⁵	CHCM ⁶	PPT ⁷	VCM ⁸
mg kg ⁻¹	M/mm ³	%	mm ³		g/dL		fL
5	2,54	29,50	34,03	9,83	33,33	7300	118,65
15	2,57	30,00	43,35	10,00	33,33	6400	121,56
25	2,53	31,00	42,00	10,33	33,33	7600	130,43
35	2,28	28,50	49,88	9,50	33,33	6900	125,14
55	2,44	28,50	45,50	9,50	33,33	7400	117,78
75	2,17	28,00	38,00	9,33	33,33	6600	129,03
Mean	2,49	29,00	42,68	9,67	33,33	7100	123,35
P-Value	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	>0,05	<.0001	<.0001
SEM ⁹	0,231	0,432	15,124	1,100	0,000	1,310	3,871
R-max ¹⁰	2,39	28,95	44,67	9,64	-	6962,00	122,90
Km ¹⁰	-0,068	-0,020	0,580	-0,020	-	0,033	0,053

¹Suplementação de ZnAA; ²Hemácia; ³Hematócrito; ⁴Leucócitos; ⁵Hemoglobina; ⁶Concentrações de hemoglobina corpuscular média; ⁷Proteínas plasmáticas totais; ⁸Volume corpuscular médio; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático.

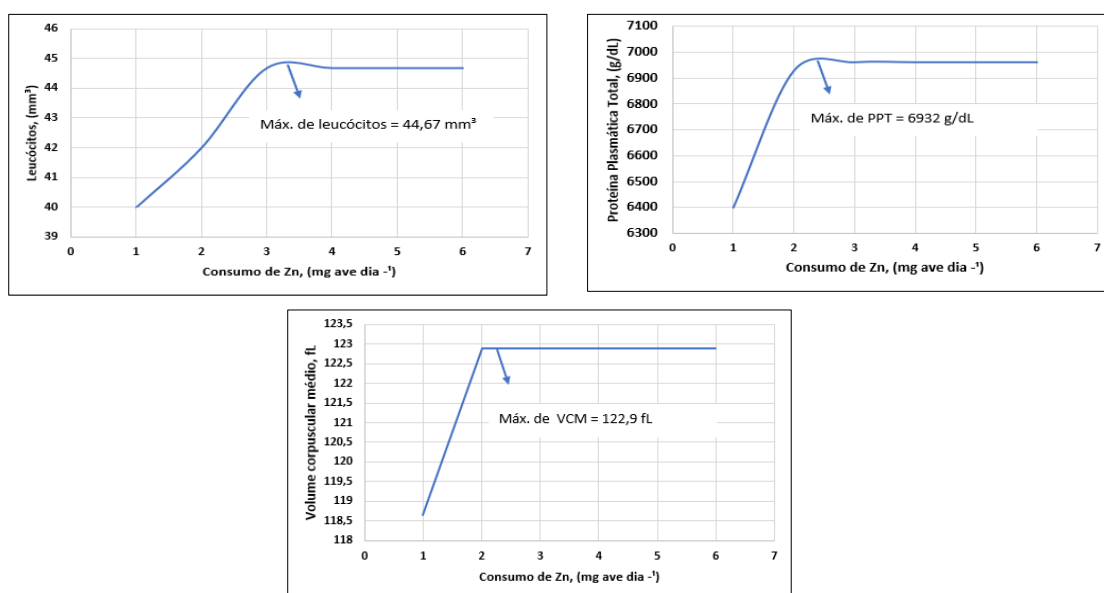


Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima de leucócitos, proteína plasmática total e volume corpuscular médio baseada no consumo de ZnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comercial

De acordo com a Tabela 8, não foram observadas diferenças significativas ($P>0,05$) para glicose (Glc) e globulina (GB), porém a suplementação de ZnAA influenciou ($P<0,05$) a atividade do aspartato aminotransferase (AST), ácido úrico (AUR), ácido albumina (ALB) e proteínas totais (PT). Sendo assim foram estimadas a suplementação ótima de ZnAA em 3,03; 2,99; 2,49 e 2,86 mg ave⁻¹dia para AUR, ALB, PT e AST, respectivamente (Figura 5).

Tabela 8. Bioquímica sérica de poedeiras comerciais com 26 semanas suplementadas com níveis crescentes de ZnAA.

ZnAA ¹	Glc ²	AUR ³	ALB ⁴	PT ⁵	AST ⁶	GB ⁷
mg kg ⁻¹	mg/dL		g/dL		U/L	
5	2339,00	54,15	1,56	3,24	119,00	1,67
15	2330,00	59,05	1,82	3,29	130,20	1,48
25	2281,00	57,40	1,93	4,55	184,37	2,62
35	2419,00	55,00	1,71	2,78	144,35	1,08
55	3127,50	58,21	1,73	3,46	125,85	1,73
75	2283,00	60,95	1,85	3,33	144,90	1,48
Mean	2334,50	57,81	1,77	3,31	137,28	1,58
P-Value	>0,05	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	>0,05
SEM ⁸	1,435	3,781	0,876	0,721	2,123	1,879
R-max ⁹	-	59,46	1,81	3,65	143,80	-
Km ⁹	-	0,026	0,072	0,060	0,130	-

¹Suplementação de ZnAA; ²glicose; ³Ácido úrico; ⁴Albumina; ⁵Proteínas totais; ⁶Aspartato aminotransferase; ⁷Globulina; ⁸Erro padrão da média; ⁹Parâmetros do modelo matemático

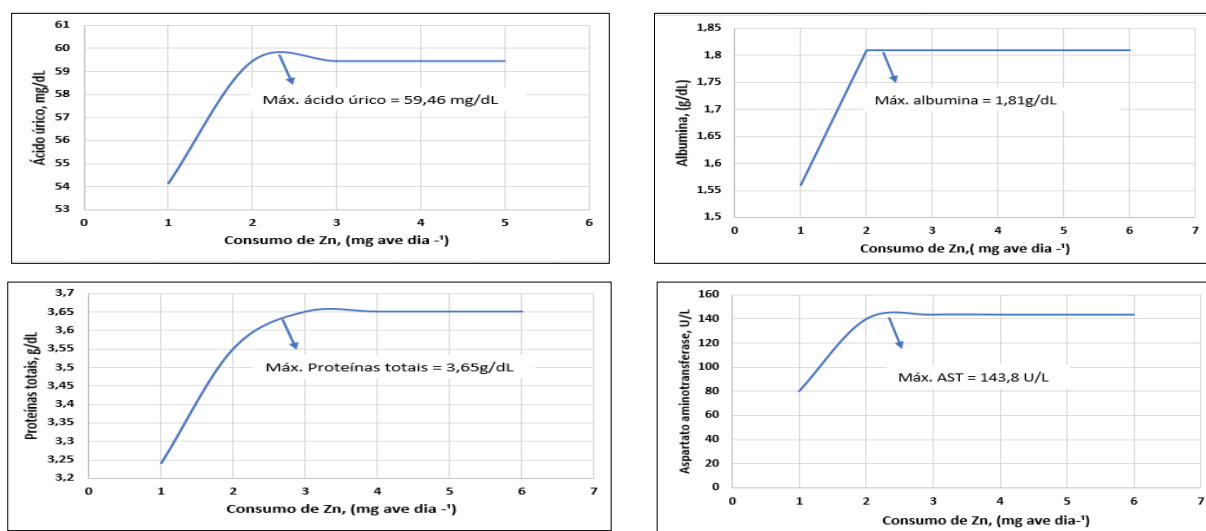


Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima de ácido úrico, albumina, proteína total e aspartato aminotransferase corpuscular médio baseada no consumo de ZnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comercia

3.3. AVALIAÇÃO ÓSSEA

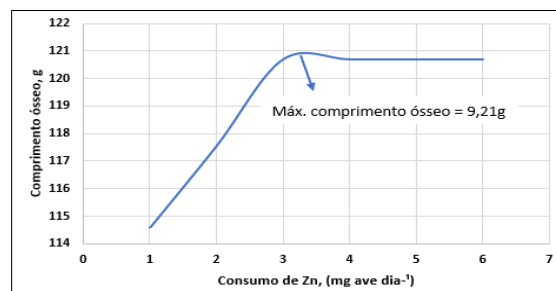
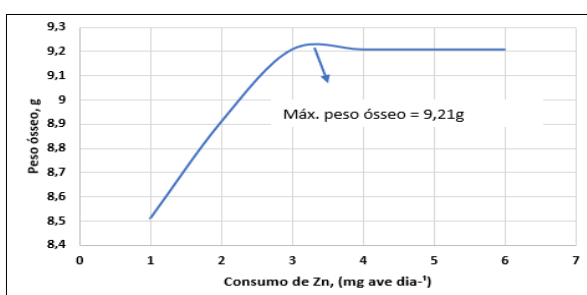
Os níveis de suplementação crescente de ZnAA não influenciaram ($P>0,05$) o índice de Seedor (IS). Já nos parâmetros peso, comprimento, densitometria óssea proximal (DOP), densitometria óssea medial (DOM), densitometria óssea distal (DOD) e a resistência óssea (RO) das tíbias foram encontradas diferenças significativas (Tabela 9). Entretanto, o modelo não se ajustou para a variável DOD.

O consumo suplementar de ZnAA estimado através dos dados encontrados foram 3,01; 2,98; 3,04; 3,10 e 3,09 mg ave-1dia-1 para o peso das tíbias, comprimento ósseo, densitometria óssea proximal e medial, respectivamente (Figura 6).

Tabela 9. Avaliação óssea de poedeiras comerciais (26 semanas) suplementadas com ZnAA

ZnAA ¹	PO ²	CO ³	IS ⁴	DOP ⁵	DOM ⁶	DOD ⁷	RO ⁸
mg kg ⁻¹	g ⁻¹	Mm	mg mm ⁻¹		mg cm ³		Kgf
5	8,51	117,55	7,71	641,80	728,88	895,00	7,68
15	9,02	119,22	7,57	825,37	1014,79	779,71	8,33
25	8,99	120,31	7,26	544,18	703,39	807,47	8,24
35	9,20	125,85	7,41	793,03	940,12	864,09	9,45
55	9,38	123,53	7,91	570,48	795,71	826,92	8,43
75	8,91	114,58	7,78	649,64	730,30	722,04	7,32
Mean	9,01	119,77	7,64	645,72	763,00	817,20	8,28
P-Value	<.0001	<.0001	>0,05	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
SEM ⁹	0,020	0,051	0,114	12,051	13,320	11,410	1,727
R-max ¹⁰	9,212	120,7	-	676,2	878,2	824	8,4119
Km ¹⁰	0,032	0,012	-	0,023	0,054	-0,985	0,068

¹Suplementação de ZnAA; ²Peso ósseo; ³comprimento ósseo; ⁴índice de Seedor; ⁵Densitometria óssea proximal; ⁶Densitometria óssea medial; ⁷Densitometria óssea distal; ⁸Ressistência óssea; ⁹Erro padrão da média; ¹⁰Parâmetros do modelo matemático.



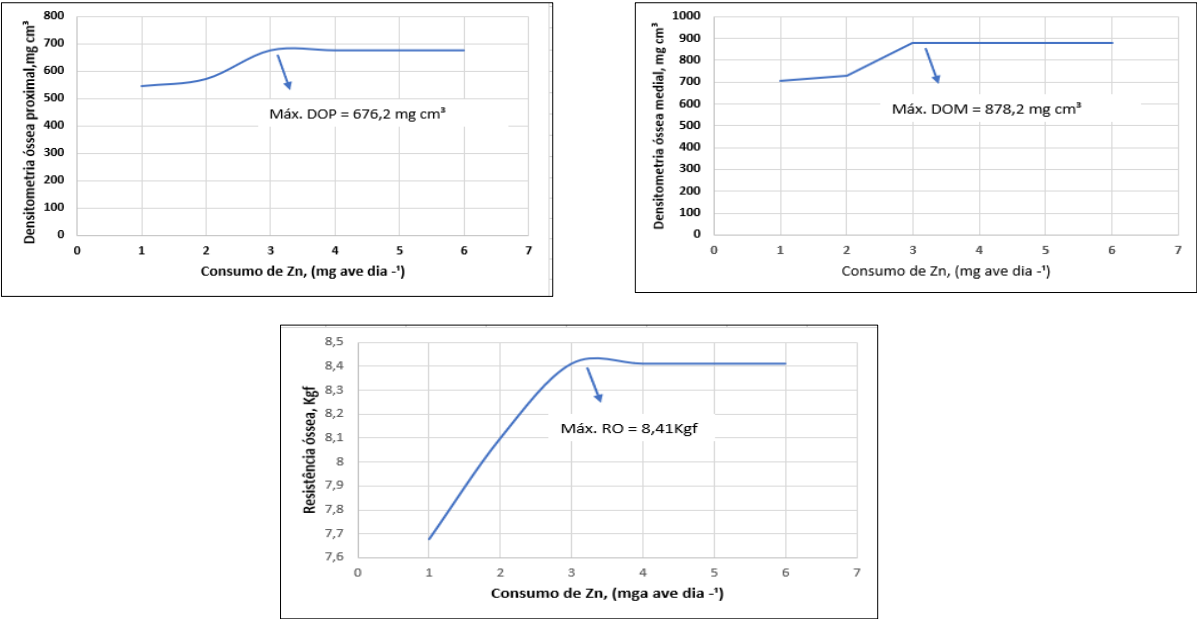


Figura 6 A linha azul representa a resposta máxima do peso ósseo, comprimento ósseo, densitometria óssea proximal, densitometria óssea medial e resistência óssea baseada no consumo de ZnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para poedeiras comerci

3.4. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES

O resumo das estimativas (mg ave⁻¹ dia⁻¹) e as recomendações das suplementações de ZnAA (mg kg⁻¹) oriundas dessa pesquisa, assim como as comparações destes valores com os que são sugeridos na literatura estão demonstrados na Figura 7.

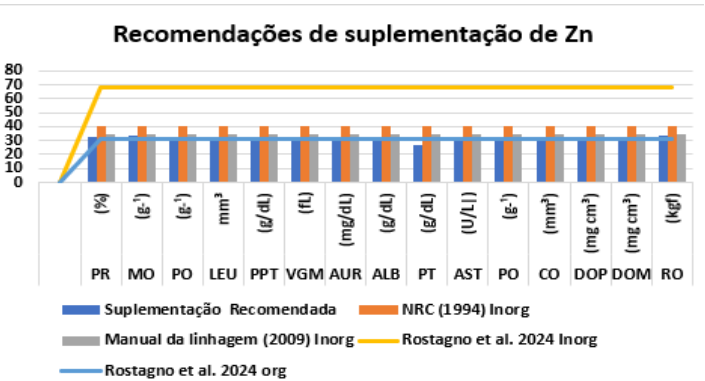


Figura 7 Comparação entre as distintas recomendações de suplementações de Zn

4. DISCUSSÃO

As diferenças entre as estimativas obtidas nesse trabalho podem ser justificadas pela aplicação dos modelos matemáticos utilizado nesta pesquisa. Os modelos matemáticos são fundamentais para prever com precisão o efeito do fenômeno estudado, desempenhando um papel crucial na estimativa das necessidades ou do consumo ideal de zinco. Por serem modelos matemáticos não lineares, eles são mais sensíveis às respostas fisiológicas e metabólicas dos animais, considerando que o metabolismo é um processo complexo com inúmeras reações bioquímicas, que podem se comportar de maneira antagônica e sinérgica. Assim, a funcionalidade da equação desses modelos matemáticos não é linear em relação aos parâmetros desconhecidos (Ratkowski, 1983).

Com base nessa teoria, os modelos utilizados nessa pesquisa, estimou que poedeiras no início da postura necessitam consumir entre 2,49 e 3,12 mg $\text{ave}^{-1}\text{dia}^{-1}$ de ZnAA que é correspondente a 27 e 33,8 mg kg^{-1} referente a parâmetros sanguíneos e ósseo.

Em nosso estudo, a produtividade alcançou a máxima resposta (92,42%) com a ingestão ótima de zinco complexado a aminoácido de 32,7 mg/kg ou 3,01 mg $\text{ave}^{-1}\text{dia}^{-1}$. Já Li et al. (2019) ao avaliar o efeito da suplementação dietética de Zn-metionina sobre o desempenho de poedeiras comerciais com 49 semanas de idade, observaram que a produção de ovos foi mais expressiva com um nível maior a suplementação de 80 mg/kg de Zn-metionina, cerca de 40,87% maior que o nível recomendado nessa pesquisa. A divergência dos níveis observadas entre os estudos deve-se a idade das aves e o tipo de fonte utilizada.

O zinco, ainda é um importante constituinte da anidrase carbônica, enzima que promove a hidratação do dióxido de carbono no tecido uterino que é transformado em ácido carbônico (Berg et al., 2004), sendo essa a maior fonte de íons carbonato para a formação da casca. A redução dessa enzima gera problemas com a casca dos ovos (Nys et al., 2007), ocasionando redução no peso dos ovos e queda na produção (Leeson; Summers, 2001).

Em aves a aspartato aminotransferase é tida como dentro da normalidade quando sua concentração sanguínea está abaixo de 275 UI/L. Em nosso estudo níveis inferiores foram obtidos (137,28 UI/L) que pode ter sido originado por uma adaptação fisiológica das aves que se encontravam no início do período produtivo, no qual o sistema metabólico da poedeira passa por uma série de ajustes fisiológicos para sustentar a produção de ovos. Isso pode envolver alterações nas enzimas do fígado e outros órgãos, o que pode levar a uma diminuição temporária nas concentrações de AST, sem que haja necessariamente uma patologia associada.

O aumento nos níveis de AST no sangue das aves pode ser indicativo de lesões hepáticas e/ou musculares, sendo comuns em aves submetidas a estresse por alta densidade, estresse térmico ou outras condições associadas a doenças hepáticas ou pancreáticas. Além disso, a deficiência de vitamina E, selênio, metionina e intoxicações originadas podem elevar os níveis de AST (COHEN et al., 2010).

Segundo Lumeij (2008), os níveis normais de albumina no soro de poedeiras variam entre 16 e 20 g/L. Na nossa pesquisa, as aves apresentaram níveis séricos de ALB de 1,81g/L quando suplementadas com 2,99mg de ZnAA por ave/dia. É válido ressaltar que embora a albumina seja uma transportadora importante de diversos nutrientes no sangue, dentre eles o zinco, quando esse mineral se encontra ligado a algum aminoácido o mesmo não utiliza a albumina como molécula de transporte (Ashmead & Zunino, 1993).

O zinco é um mineral traço essencial que compõem mais de 200 enzimas, e está envolvido no metabolismo intermediário, atua na produção de queratina, síntese de colágeno e ácidos nucleicos na pele. Este micromineral ainda é co-fator da enzima anidrase carbônica que atua na calcificação dos ossos e é essencial para a integridade do sistema imune (Scottá et al, 2014), além disso, o zinco está envolvido na síntese de hormônios, que afetam a formação, crescimento e mineralização óssea (Muszynski et al., 2018).

Dentre as avaliações ósseas realizadas, densitometria óssea pode ser considerada uma das medidas mais acuradas para avaliar a densidade mineral das tíbias, visto que é obtida pela razão entre a massa do material e volume do osso, compreendendo a parte orgânica (colágeno e proteínas) e inorgânica (minerais).

A formação e remodelação óssea inicia-se na região inferior da zona hipertrófica, onde os condroclastos reabsorvem a matriz cartilaginosa e os condrócitos hipertrofiados passam por apoptose, sendo posteriormente removidos pelos osteoblastos. Estes osteoblastos secretam fosfatase alcalina, o que facilita a formação da matriz óssea composta por fibrilas de colágeno tipo I e cristais de hidroxiapatita. A densitometria óssea está ligada à concentração de cálcio no plasma, uma vez que a manutenção adequada dos níveis de cálcio é essencial para a deposição de cálcio e fósforo como hidroxiapatita durante a mineralização óssea (Florencio-Silva et al., 2015).

Nossa pesquisa demonstrou que a ingestão de 3,04 e 3,10 mg ave-1dia-1 pela poedeiras proporcionaram melhor massa óssea proximal e medial, respectivamente. Entretanto, correlacionar os dados obtidos, com os de outra pesquisa, requer bastante cautela, devido as diferenças experimentais existentes (fontes utilizadas, idade dos animais e níveis estudados).

Acredita-se que a utilização da fonte orgânica como fonte única de suplementação promove a potencialização da captação destes minerais pelos enterócitos, justificado pela melhora no desenvolvimento do tecido intestinal e redução do antagonismo entre os minerais ionizados.

Em estudo Júnior (2021) ao avaliar o efeito de junção de fontes orgânicas e inorgânicas em diferentes níveis sobre o desempenho produtivo, variáveis sanguíneas e ósseas em poedeiras comerciais da 30 a 93ª semana, verificaram maior deposição mineral nas tíbias das aves quando a fonte de zinco foi substituída em 30% pela fonte orgânica. A junção das duas fontes (70 mg kg⁻¹) ultrapassaram o recomendado pelo manual da linhagem que é 35 mg kg e corresponde a mais 2 vezes que o estimado nessa pesquisa. Provavelmente o autor trabalhou com níveis mais altos de suplementação objetivando a geração de resposta já que não existiam estudos anteriores.

As divergências entre as recomendações de Zn obtidas nesse trabalho e as encontradas na literatura pode ser justificada pelo fato de ser justificada pelo tipo de fonte e idade do animal. Além disso, as recomendações sugeridas por Rostagno et al. (2024) são questionáveis, já que foram determinadas através do fator médio observado em estudos, os quais as maiores foram executados com frangos de corte. Em relação ao manual da linhagem foram utilizadas fontes distintas das utilizadas nessa pesquisa e no NRC estão desatualizadas pois foram publicadas a mais de três décadas e aves atuais são geneticamente diferentes das atuais.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, a estimativa da ingestão suplementar do ZnAA de 3,12 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (correspondente a 33,8 mg kg⁻¹) garantirá desempenho produtivo com adequado desenvolvimento da estrutura óssea com garantia de um estado de saúde satisfatório para as poedeiras comerciais no início da postura.

6. AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores agradecem ao Programa de Pós-Graduação Em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo; à Zinpro Corporation pelo apoio financeiro; ao Laboratório de Caracterização de Propriedades Mecânicas do Departamento de Engenharia Mecânica, localizado na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); ao Setor de Diagnóstico por Imagem do Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE; ao Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) do Instituto de Inovação, Pesquisa, Empreendedorismo, Internacionalização e Relações Institucionais (IPÊ) – UFRPE.

7. REFERÊNCIAS

ASHMEAD, H.D.; ZUNINO, H. Factors which affect the intestinal absorption of minerals. In: Ashmead HD, editor. The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Westwood: Noyes Publications, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official Methods of Analysis. 17. ed. Arlington: AOAC, 2000.

ARAÚJO, J.A. et al. Fontes minerais para poedeiras. **Acta veterinária Brasília**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BERG, C. et al. Embryonic exposure to oestrogen cause eggshell and altered shell gland carbonic anhydrase expression in the domestic hen. **Reproduction**, v.128, n. 4, p. 455-461, 2004.

BURRELL, A. L. et al. Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science**, v. 45, n.2, p. 225-263. 2004.

ÉRDI, P.; LENTE, G. **Stochastic Chemical Kinetics**. 1. ed. Springer: Springer Series in Synergetics, 2014.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of bone tissue: Structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international*, [s. l.], v. 2015, p. 421746, 2015.

JINTASATAPORN, O. et al. The Efficacy of Mineral-Amino Acid Complex (Zn, Mn, Cu, Fe and Se) on White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Diets. *Aquac. Indones*. 16. 2015.

JÚNIOR, R.V.S. Minerais complexados a aminoácidos em dietas de poedeiras da fase de cria ao período final de produção. Tese (Doutorado em Zootecnia) -Universidade Federal Rural de Pernambuco, outubro, 2021.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. Nutrition of the chicken. 4° ed. Guelph, Ontario: University Books, p.591, 2001.

LI, L. L. et al. Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. **Poultry Science**, v.98, n.2, p.923-931, 2019.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L., Eds., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, v. 872 p. 839– 2149, 2008.

MIN, Y. N. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated zinc on laying performance, eggshell quality, eggshell mineral deposition, and activities of Zn-containing enzymes in aged laying hens. **Poultry Science**, v.97, n. 10, p. 3587–3593, 2018.

MITSCHERLICH, E.A. Das gesetz des minimus und das gesetz des abnehmenden bodenertrages. *Landwirtschaftliche Jahrbuecher*, v.3, p.537-552, 1909.

MUSZYŃSKI, S. et al. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low - zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. *PLOS ONE*, v. 13, n. 1, p. 825 e0191964, 2018.

NYS, Y.; GAUTRON, J. Structure and formation of the eggshell. In: HUOPALAHTI, R., R. López-Fadino, M. Anton, R. Schade. *Bioactive egg compounds*. Berlin: Springer-Verlag, cap 15, p.99-102, 2007.

OLIVEIRA, J. F. et al. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em 1518 tartarugas verdes hípidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1440–1445, 2012.

PARK, H. J. et al. Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction. *Internat. International Journal of Biological Macromolecules*, v. 78, n. 1, p. 215-223, 2015.

PLANALTO. Manual de Manejo das Poedeiras: Dekalb White. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/zootecnia/NILVAKAZUESAKOMURA/manual_dekalb_white.pdf> Acesso em: 24 ago. 2024.

RATKOWSKI, D. A. *Nonlinear regression modeling: a unified practical approach*. 1. ed. New York: Marcel Dekker, 1983.

ROSTAGNO, H. S. et al. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 5. ed. Viçosa: UFV, 2024.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017.

SAUER, A.K. et al. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **BioMetals**, v.30, n.1, p. 643-661, 2017.

SCOTTÁ, B.A. et al. 2014. Utilização de fitase na alimentação de aves e suínos. **PUBVET**, v.8, n. 2, p. 0084-0229, 2014.

SEEDOR, J. G.; QUARTUCCIO, H. A.; THOMPSON, D. D. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of bone and**

mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research, v. 6, n. 4, p. 339–346, 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. SAS 3.1 User's guide, Version 3.1. Cary: SAS, Institute Inc, 2004.

STEFANELLO, C. et al. Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. **Poultry Science**, v.93, n.1, p.104-113, 2014.

SUN, Q. et al. Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens. *The Journal Poultry Science*, v.49, n.1, p.20-25, 2012.

VENEGAS, J. G.; HARRIS, R. S.; SIMON, B. A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure-volume curve. **Journal of Applied physiology**, v. 84, n. 1, p. 389-395, 1998.

ZHANG, Y. N. et al. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. *Poultry Science*, v.96, n. 1551 7, p. 2176–2183, 2017.