



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

JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS
COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NAS FASES
DE CRIA E RECRIA**

RECIFE-PE
2024

JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS
COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NAS FASES
DE CRIA E RECRIA**

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
Orientador(a): Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello
Coorientador(es): Profa. Dra. Lilian Francisco
Arantes de Souza

Profa. Dr. Júlio César dos Santos
Nascimento

Dr. Marcos José Batista dos
Santos

**RECIFE-PE
2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

W245e Wanderley, Jamille Sheila da Silva Wanderley
ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA
POEDEIRAS LEVES NAS FASES DE CRIA E RECREIA / Jamille Sheila da Silva Wanderley Wanderley. - 2024.
87 f. : il.

Orientador: Carlos Boa-Viagem Rabello.
Coorientador: Lilian Francisco Arantes de Souza; Marcos Jose Batista dos Santos; Julio Cezar dos Santos
Nascimento.
Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2024.

1. Desenvolvimento ósseo. 2. Estimativa de consumo. 3. Mineral complexado. 4. Parâmetros sanguíneos. 5. Retenção mineral. I. Rabello, Carlos Boa-Viagem, orient. II. Nascimento, Lilian Francisco Arantes de Souza; Marcos Jose Batista dos Santos; Julio Cezar dos Santos, coorient. III. Título

CDD



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

**ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS
COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NAS FASES
DE CRIA E RECRIA**

Tese elaborada por

JAMILLE SHEILA DA SILVA WANDERLEY

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello
Universidade Federal Rural de Pernambuco
(Presidente)

Profa. Dra. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Cláudia Da Costa Lopes
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Claudson Oliveira Brito
Universidade Federal de Sergipe

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar em algumas palavras o sentimento de gratidão a todos aqueles que me auxiliaram de alguma forma e permitiram a concretização desta pesquisa.

Primeiramente agradeço a Deus e a minha família, pois sempre me deram a força e o ânimo necessários, do início ao fim desta jornada. Em especial ao meu esposo Augusto, OBRIGADA POR TUDO, TE AMO.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, assim como todos os professores e funcionários do departamento pela colaboração na minha formação, local que foi minha casa por tantos anos, desde a graduação até o doutorado.

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

A Zinpro® Corporation pelo fornecimento dos minerais testados e apoio na realização da pesquisa como um todo.

Ao meu orientador, me faltam palavras para tal. Prof. Dr. Carlos Bôa-viagem Rabello OBRIGADO POR TANTO, em tantos anos juntos, por tanta paciência; muitos foram os ensinamentos e conselhos. “Como sempre digo, vai ser difícil sair debaixo da sua asa”. Espero conseguir ter 1/3 de sua competência profissional.

Também agradecer a minha co-orientadora Profa. Dra. Lilian Francisco de Arantes Souza, que esteve a disposição a todo o momento, ajudando no necessário e ouvindo o “chororô dos pós-graduandos”. Muito obrigada pela paciência e ensinamentos.

Também agradecer aos co-orientadores Prof. Dr. Júlio Nascimento e Dr. Marcos dos Santos por todo o auxílio no trabalho. Marcos, especialmente pela todas as colaborações, paciência e diversas reuniões até que toda estatística estivesse pronta.

As minhas amigas que jamais soltaram minha mão, a vocês Gabriela Duarte (Profa. Dra. viu, respeite!) e Katariny Lima (minha crossfiteira master) meu eterno agradecimento POR TUDO E POR TANTO. Só vocês sabem a loucura de tudo isso, sendo compartilhada por nós três, cada um com seu “surto” momentâneo, afinal somos organizadas, uma “surta” e as outras acalmam. Nosso grupo de whatsapp “Piu” é e sempre será um local de muito amor e acolhimento. AMO VOCÊS!

A Rafael Victor, que desde que começou seu PAVI no início do experimento, auxiliou muito, sempre disposto a apreender e contribuir como necessário. Talvez Rafa tenha se arrependido de encarar um experimento comigo e Gabi juntas? Sim! Mas nos tornamos amigos, e amigos tão aí para ajudar mesmo kkkkk. Obrigada, amigo!

A Andréa Marques e Matheus Rocha, que chegaram de fininho e foram conquistando um

cantinho no coração. Obrigada por toda ajuda dentro e fora da pesquisa, em especial Andréa (Carlota).

As demais pessoas que também auxiliaram na condução da pesquisa, bem como das análises laboratoriais, PAVI, PIBIC, técnicos dos laboratórios, muito obrigada.

Minha eterna gratidão a vocês!

Ama-se mais aquilo que se conquista com esforço!

RESUMO

Dois experimentos foram realizados para estimar a suplementação ideal de manganês complexado a aminoácidos (MnAA) em dietas para aves de postura nas fases de cria e recria através do desempenho produtivo, perfil sanguíneo, biometria de órgãos, avaliação óssea e retenção corporal de manganês (Mn). No primeiro experimento (Exp. I), foram utilizadas 648 pintainhas Dekalb White, com um dia de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 6 repetições de 18 aves cada. O experimento ocorreu até a quinta semana de vida das aves. As dietas experimentais foram isonutritivas e isoenergéticas, variando os níveis de inclusão de MnAA em: 25, 37, 49, 61, 73 e 85 mg kg⁻¹. Já no segundo experimento (Exp. II), utilizou-se 360 frangas Dekalb White, com seis semanas de idade, distribuídas em DIC com 6 tratamentos e 6 repetições de 10 aves cada. As dietas experimentais continham: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹ de MnAA. Este experimento ocorreu de seis a treze semanas de idade. Para ambas as pesquisas, a ingestão de Mn foi calculada pelos modelos $MnAA = R_{max} * x / (k_m + x)$ e $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - amp / y - R_{min}) / s)$, onde: R_{max} é a resposta máxima, K_m é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Mn; R_{min} é a resposta mínima e amp é a amplitude. A estimativa de Mn para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). No Exp. I foi possível estimar a suplementação de MnAA em mg ave⁻¹ dia⁻¹: 0,907 para hematócrito; 0,902 para volume corpuscular médio; 1,139 para aspartato aminotransferase; 0,908 para globulina; 0,911 para ácido úrico; 0,919 para densitometria óssea medial; 0,917 para índice de Seedor; 1,092 para resistência óssea e 1,747 para concentração mineral de manganês nas tíbias. Enquanto no Exp. II estimou a suplementação de MnAA mg ave⁻¹ dia⁻¹ baseada em: 1,263 para ganho de peso médio; 0,938 para conversão alimentar; 0,937 para timo; 0,933 para hemácias; 0,934 para volume corpuscular médio; 1,134 para fosfatase alcalina; 0,918 para índice de Seedor; 1,888 para densitometria óssea proximal e 2,088 para densitometria óssea distal. Diante dos resultados encontrados neste estudo, concluímos que a recomendação para suplementação de MnAA para pintainhas poedeiras de 1 a 5 semanas é de 0,919 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (39,22 mg kg⁻¹), enquanto para frangas poedeiras de 6 a 13 semanas é de 2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (41,97 mg kg⁻¹), considerando homeostase hematológica e bioquímica, bem como, melhor desenvolvimento corporal e ósseo.

Palavras-chave: Desenvolvimento ósseo, estimativa de consumo, mineral complexado, parâmetros sanguíneos,

ESTIMATION OF THE IDEAL SUPPLEMENTATION OF MANGANESE COMPLEXED WITH AMINO ACIDS FOR LIGHT-LAYERS IN THE BREEDING AND REARING PHASES

ABSTRACT

Two experiments were conducted to estimate the optimal supplementation of manganese complexed with amino acids (MnAA) in diets for laying hens during the rearing and growing phases through productive performance, blood profile, organ biometrics, bone evaluation, and manganese (Mn) body retention. In the first experiment (Exp. I), 648 one-day-old Dekalb White chicks were used, distributed in a completely randomized design (CRD) with 6 treatments and 6 replicates of 18 birds each. Experimental isonutritive and isoenergetic diets varied in MnAA inclusion levels: 25, 37, 49, 61, 73, and 85 mg kg⁻¹. In the second experiment (Exp. II), 360 six-week-old Dekalb White pullets were used, distributed in CRD with 6 treatments and 6 replicates of 10 birds each. The experimental diets were: 5, 15, 25, 35, 55, and 75 mg kg⁻¹. This experiment occurred from six to thirteen weeks of age. For both studies, Mn intake was calculated using the models $MnAA = R_{max} * x / (K_m + x)$ and $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - \text{amp} / y - R_{min}) / s)$, where: R_{max} is the maximum response, K_m is a parameter of the biological function, and x is the Mn intake; R_{min} is the minimum response, and amp is the amplitude. The Mn estimate for each variable was calculated by inverting the models. The data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). In Exp. I, MnAA supplementation was estimated at mg bird⁻¹ day⁻¹: 0.907 for hematocrit; 0.902 for mean corpuscular volume; 1.139 for aspartate aminotransferase; 0.908 for globulin; 0.911 for uric acid (AUR); 0.919 for medial bone densitometry; 0.917 for Seedor index; 1.092 for bone strength and 1.747 for manganese mineral concentration in tibias. While in Exp. II, MnAA supplementation mg bird⁻¹ day⁻¹ was estimated based on: 1.263 for average weight gain; 0.938 for feed conversion; 0.937 for thymus; 0.933 for red blood cells; 0.934 for mean corpuscular volume; 1.134 for alkaline phosphatase; 0.918 for Seedor index; 1.888 for proximal bone densitometry and 2.088 for distal bone densitometry. Based on the results of this study, we concluded that the recommended MnAA supplementation for laying hens from 1 to 5 weeks is 0.919 mg bird⁻¹ day⁻¹ (39.22 mg kg⁻¹), while for laying hens from 6 to 13 weeks it is 2.088 mg bird⁻¹ day⁻¹ (41.97 mg kg⁻¹), considering hematological and biochemical homeostasis, as well as better body and bone development.

Keywords: Bone development, estimated consumption, complexed mineral, blood parameters, mineral retention

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Células do tecido ósseo e matriz óssea, assim como suas localizações..... 20

Figura 2 Estrutura óssea e suas características.....21

CAPÍTULO I

Figura 1 Variações das temperaturas mínima, máxima e média (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período experimental..... 40

Figura 2 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis hematócrito, volume corpuscular médio, aspartato aminotransferase, globulina e ácido úrico baseada no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de um dia a cinco semanas..... 50

Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis índice de Seedor, densitometria óssea medial, resistência óssea e composição mineral de manganês baseada no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de um dia a cinco semanas..... 51

CAPÍTULO II

Figura 1 Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental..... 68

Figura 2 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis ganho de peso médio e conversão alimentar baseadas no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de seis a treze semanas..... 75

Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima da variável timo baseada no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de seis a treze semanas..... 76

Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis hemácias, volume corpuscular médio e fosfatase alcalina baseadas no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de seis a treze semanas..... 77

Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis índice de Seedor e densitometria óssea proximal e distal, baseadas no consumo de MnAA ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) para pintainhas poedeiras de seis a treze semanas..... 79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais nas dietas experimentais da fase de cria de acordo com os níveis de suplementação de manganês complexado a aminoácidos (MnAA).....	41
Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais.....	41
Tabela 3 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P nas dietas e água utilizadas no experimento.....	42
Tabela 4 Desempenho produtivo de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA.....	47
Tabela 5 Peso e tamanho de órgãos de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA.....	48
Tabela 6 Hemograma pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA.....	49
Tabela 7 Bioquímica sérica de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA.....	49
Tabela 8 Avaliação óssea das tíbias de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA.....	51
Tabela 9 Retenção corporal de Mn das pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA	52
Tabela 10 Estimativas determinadas para pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA e a diferença entre as recomendações de suplementação de NRC, Manual da linhagem Dekalb White e Rostagno <i>et al.</i>	53

CAPÍTULO II

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais nas dietas experimentais da fase de recria de acordo com os níveis de suplementação de manganês complexado a aminoácidos (MnAA).....	69
Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais.....	69
Tabela 3 Concentração de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P nas dietas e água utilizadas no experimento.....	70
Tabela 4 Desempenho produtivo de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com MnAA.....	74
Tabela 5 Peso de órgãos de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com MnAA.....	75
Tabela 6 Hemograma de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA.....	76
Tabela 7 Bioquímica sérica de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA.....	77
Tabela 8 Avaliação óssea das tíbias de frangas poedeiras suplementadas com MnAA.....	78
Tabela 9 Estimativas determinadas para frangas poedeiras com 13 semanas de idade suplementadas com MnAA e a diferença entre as recomendações de suplementação de NRC, Manual da linhagem Dekalb White e Rostagno <i>et al.</i>	79

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. IMPORTÂNCIA DO MANGANÊS PARA AS AVES.....	14
3. METABOLISMO E ABSORÇÃO DOS MINERAIS.....	15
3.1. CLASSIFICAÇÃO E ABSORÇÃO DO MANGANÊS COMPLEXADO A MOLÉCULA ORGÂNICA.....	18
4. DESENVOLVIMENTO ÓSSEO.....	20
4.1. EFEITOS DO MANGANÊS SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA DAS AVES.....	23
5. HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	24
6. REFERÊNCIAS.....	26

CAPÍTULO I

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE CRIA	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES.....	39
2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	40
2.3. DESEMPENHO PRODUTIVO	42
2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	42
2.5. AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE MN E AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS E OSSOS	42
2.5.1. RETENÇÃO CORPORAL	42
2.5.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS	43
2.5.3. COLETA DE TÍBIAS.....	43
2.6. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	43
2.6.1. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR	43
2.6.2. DENSITOMETRIA ÓSSEA	43
2.6.3. RESISTÊNCIA ÓSSEA	43
2.7. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL	44
2.7.1. LIMPEZA DE UTENSÍLIOS	44
2.7.2. COMPOSIÇÃO ÓSSEA	44
2.7.3. COMPOSIÇÃO CORPORAL	44
2.8. QUANTIFICAÇÃO MINERAL: RAÇÕES, COMPOSIÇÃO CORPORAL, TÍBIAS E ÁGUA.....	45
2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
3. RESULTADOS	46
3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO	46
3.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS	47
3.3. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO	48
3.4. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	50
3.5. RETENÇÃO CORPORAL DE MANGANÊS	52
3.6. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES.....	53
4. DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÃO	57

6. AGRADECIMENTOS	58
7. REFERÊNCIAS	58

CAPÍTULO II

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE RECRIA	63
RESUMO	64
ABSTRACT	65
1. INTRODUÇÃO	66
2. MATERIAL E MÉTODOS	67
2.1 LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES.....	67
2.2 DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	68
2.3 DESEMPENHO PRODUTIVO	70
2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO.....	70
2.5. AMOSTRAGEM PARA AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS E OSSOS.....	70
2.5.1. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS.....	71
2.5.2. COLETA DE TÍBIAS.....	71
2.6. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	71
2.6.1. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR.....	71
2.6.2. DENSITOMETRIA ÓSSEA.....	71
2.6.3. RESISTÊNCIA ÓSSEA.....	72
2.7. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL.....	72
2.7.1. LIMPEZA DE UTENSÍLIOS.....	72
2.7.2. COMPOSIÇÃO ÓSSEA.....	72
2.8. QUANTIFICAÇÃO MINERAL: RAÇÕES, TÍBIAS E ÁGUA.....	72
2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	73
3. RESULTADOS	74
3.1 DESEMPENHO PRODUTIVO	74
3.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS.....	75
3.3. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO.....	76
3.4. AVALIAÇÃO ÓSSEA.....	78
3.5. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES.....	79
4. DISCUSSÃO	80
5. CONCLUSÃO	84
6. AGRADECIMENTOS	84
7. REFERÊNCIAS	84

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de ovos, com um plantel acima de 130 milhões de cabeças de galinhas poedeiras e uma produção superior a 52 bilhões de ovos ao ano (ABPA, 2024), é imprescindível que as pintainhas sejam alojadas em bom estado sanitário, e recebam sobretudo um aporte nutricional adequado desde os primeiros dias de vida.

Em todas as fases de vida, as poedeiras necessitam de quantidades adequadas de diversos nutrientes, a fim de que haja um correto desenvolvimento do animal. Neste sentido, os minerais são parte relevante da dieta, atuam nas principais vias metabólicas e bioquímicas, com funções fisiológicas e estruturais, bem como são cofatores de diversas enzimas (Naz *et al.*, 2016; Zafar; Fatima, 2018).

Os minerais são usualmente classificados como macro e microminerais, conforme sua ocorrência nos tecidos. No geral, os macrominerais possuem funções fisiológicas e estruturais, enquanto os microminerais dispõem de funções metabólicas (Kiefer, 2005; Bertechini, 2012). A suplementação mineral é comumente realizada através de fontes inorgânicas, como sulfatos, óxidos, carbonatos ou cloretos. No entanto, diante de diversas pesquisas que estão sendo realizadas, a utilização de minerais complexados a uma molécula “orgânica” vem aumentando, uma vez que eles demonstram respostas superiores com menor excreção mineral para o ambiente (Richards; Dibner, 2005; Goff, 2018). Diante da crescente utilização dessas fontes “orgânica”, começou-se uma desordenada produção dessas fontes no mercado para atender os produtores, o que gerou confusão entre essas moléculas ditas orgânicas.

Diante disso, a Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO), elaborou uma diferenciação entre os minerais “orgânicos”. Essas moléculas produzidas, são íons metálicos quimicamente ligados com uma molécula orgânica, os quais geram conformações com elevada biodisponibilidade e estabilidade. Portanto, a nível de mercado, por existirem diversas formas químicas elas foram classificadas em: complexo metal aminoácido, complexo metal aminoácido específico, complexo metal polissacarídeo, quelato metal aminoácido e metal proteinato (AAFCO, 2001). Tais suplementos diferenciam-se quanto ao tipo de ligantes, a fonte e ao percentual do micromineral existente. Essas diferenças na estrutura química determinam a qualidade do produto (Vieira, 2008).

O manganês (Mn) é o quinto elemento mais abundante da Terra e está localizado no grupo sete da tabela periódica (Suttle, 2010). Ele é um micromineral que está associado ao desenvolvimento e desempenho do sistema reprodutivo animal (Underwood, 1981), com relevância em funções fisiológicas, cerebrais, digestão, reprodução e metabolismo (Zapata, 2016). É um ativador

enzimático, especialmente no metabolismo de ácidos graxos e aminoácidos, bem como, é responsável pela integridade da matriz orgânica óssea (Mcdowell, 1999), desempenhando função importante na qualidade da casca do ovo, e ainda, na prevenção da perose (Olgun, 2016). Também é essencial na prevenção de danos oxidativos, pois ele é cofator da superóxido dismutase (Madsen-Bouterse *et al.*, 2010), suas maiores concentrações são verificadas no fígado, rim e ossos (Suttle, 2010).

O déficit de Mn é capaz de provocar má formações ósseas como encurtamento ósseo, perose, ainda pode modificar o metabolismo de lipídios e carboidratos, reduzir a produtividade, aumentar a incidência de áreas translúcidas nas cascas dos ovos (Scott; Nesheim; Young, 1982; Rutz; Anciuti; Pan, 2005; Araújo; Albino, 2011), assim como, morte embrionária tardia (Leeson; Summers, 2009).

É possível encontrar no mercado duas fontes distintas de Mn, o inorgânico e o “orgânico”. As fontes inorgânicas carecem ser solubilizadas, ao alcançar o trato gastrointestinal, antes de absorvidas pois eles possuem a capacidade de interagir com os demais ingredientes da dieta, havendo competição pelos sítios absorptivos e carreadores, ocasionando a redução da biodisponibilidade mineral (Close, 2003). Enquanto as fontes “orgânicas” são absorvidas pela mucosa intestinal, pois utilizam vias alternativas de absorção, não havendo competição mineral por antagonistas, decorrendo em maior absorção e, portanto, maior biodisponibilidade, levando a uma redução na excreção de minerais para o meio ambiente (Richards; Dibner, 2005).

Durante muitos anos as fontes inorgânicas foram as principais utilizadas nas rações de aves, no entanto, esta realidade vem mudando ao longo dos anos com o auxílio de diversos estudos relacionando o emprego de minerais “orgânicos” com uma melhor absorção no trato gastrointestinal e consequente redução na excreção.

2. IMPORTÂNCIA DO MANGANÊS PARA AS AVES

Com o propósito de uma adequada nutrição para as galinhas poedeiras, o emprego do manganês (Mn) é de extrema importância para se obter um crescimento e desenvolvimento satisfatórios (Olgun, 2017). Igualmente relevante para manutenção do desempenho, melhoria da qualidade da casca do ovo e prevenção da perose (Gutowska, 1942; Sazzad; Bertechini; Nobre, 1994), uma vez que esse mineral participa do metabolismo de lipídios, carboidratos e proteínas (Mcdowell, 1999). Ademais, é um componente ativador de diversas enzimas e metaloenzimas como: oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases; arginase, glutamina sintetase, superóxido dismutase e piruvato carboxilase (Keen *et al.*, 1999; 2000; Suttle, 2010).

O Mn está presente no metabolismo de carboidratos e lipídios por meio da piruvato carboxilase, a qual dispõe de 4 mols de Mn^{2+} para cada mol de enzima. Uma vez suplementado inadequadamente, com concentração menor que a exigida pelo animal, poderá haver erros no

metabolismo lipídico e de carboidratos, com consequente acúmulo de gordura (Oberleas; Harland; Bobilya, 1999; Suttle, 2010).

Ele é um cofator da enzima manganês superóxido dismutase (MnSOD), a qual é fundamental para combater o estresse oxidativo relacionado com respostas inflamatórias de determinadas infecções. Em caso de suplementação carente em Mn poderá ocorrer redução da atividade da MnSOD no coração e consequentemente, causar um dano peroxidativo (Oberleas; Harland; Bobilya, 1999; Suttle, 2010).

Através da enzima glicosiltransferase o Mn participa da síntese dos mucopolissacarídeos. Em dietas deficientes de Mn há menor frequência de proteoglicanos na cartilagem da placa tibial, bem como, redução na produção de ovos e má formação na casca (Liu; Heinrichs; Leach Junior, 1994; Leach Junior; Harris, 1997; Suttle, 2010).

Pesquisas evidenciaram que o emprego da suplementação de manganês apesar de não afetar expressivamente a conversão alimentar e a produção de ovos, melhorou a qualidade da casca (Sazzad; Bertechini; Nobre, 1994), desenvolvimento embrionário (Lyons; Insko, 1937), formação, crescimento e manutenção óssea (Van Der Horn; Branion; Graham Jr, 1938; Olgun, 2017) e consequentemente, na prevenção da perose (Wilgus Jr; Norris; Heuser, 1936). Este mineral ainda, é cofator essencial da síntese de sulfato de condroitina, na qual está intimamente relacionado à formação óssea das aves notadamente a formação de ossos e cartilagens (Aschner; Aschner, 2005). Portanto, é essencial que o nível adequado de manganês seja garantido na dieta das galinhas poedeiras, a fim de se obter saúde de qualidade e boa produtividade.

O déficit de Mn na suplementação das aves pode ocasionar adversidades como: acúmulo de gordura, danos peroxidativos, problemas ósseos, entre outros (Liu; Heinrichs; Leach Jr, 1994; Oberleas; Harland; Bobilya, 1999; Suttle, 2010). Ademais, a escassez do mineral na dieta das galinhas também foi demonstrada, resultando na diminuição da fertilidade, alta mortalidade de embriões, baixa produção de ovos, má qualidade da casca dos ovos, além de problemas ósseos (Gallup; Norris, 1939; Lyons, 1939).

3. METABOLISMO E ABSORÇÃO DOS MINERAIS

O manganês (Mn), assim como os demais minerais são nutrientes químicos sólidos que não podem ser decompostos ou sintetizados por reações químicas normais. Assim, os organismos vivos não apresentam a capacidade de sintetizar minerais, devendo, portanto, serem fornecidos na dieta. Contudo, a forma como os minerais são suplementados interfere na sua absorção (Silva, 2023). Nas dietas das aves o Mn pode ser fornecido através de fontes inorgânicas ou complexadas.

As fontes de minerais em sua forma convencional são denominadas de minerais inorgânicos, os quais normalmente estão disponíveis na forma de óxido, sulfatos, fosfatos e carbonatos. Com o avançar das pesquisas, começou-se a observar que essas fontes convencionais, em consequência do pH ácido do estômago, eram dissociadas e seus íons metálicos tornam-se livres para serem absorvidas (Bao *et al.*, 2007; Favero *et al.*, 2013). Portanto, minerais inorgânicos quando presentes no intestino delgado estarão na sua forma livre, podendo sofrer interferências na captação e absorção, devido a fatores antagônicos e sinérgicos, quantidades ingeridas e fatores inerentes ao animal (Silva, 2023).

De maneira geral, a absorção de minerais ocorre através de transporte ativo no lúmen intestinal. Esse processo ocorre por meio de proteínas transportadoras que estão presentes nas células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal, sucedendo-se principalmente no intestino delgado, seguindo para o transporte através do sangue, sendo direcionados e utilizados pelos tecidos alvos (Macari; Maiorka, 2017). O intestino delgado é revestido por células epiteliais que constituem uma forte junção entre as células adjacentes. A superfície dessa membrana epitelial é compreendida pela membrana apical, a qual possui contato com o lúmen intestinal, sendo composta por microvilos, os quais constituem a borda em escova. Estes microvilos são revestidos pelo glicocálice, um muco de glicoproteínas. Os fluidos extracelulares interagem com a membrana basolateral das células epiteliais. Já na porção inferior do epitélio, constituída por capilares vasculares e linfáticos, encontra-se a lâmina própria, responsável pelo transporte dos minerais no sangue (Goff, 2018).

A ingestão dos minerais é passível de reação de hidroxí-polimerização ou eles são solúveis no pH gastrointestinal. Os minerais se tornarão solúveis no estômago, contudo, quando chegam no intestino delgado são alcalinizados, formam compostos hidroxí-metálicos, deixando o mineral indisponível para a absorção. Na digestão, os minerais encontrados no lúmen são carregados para as vilosidades do intestino delgado, porém, antes de adentrar na membrana do enterócito, local em que ocorre a captação, os íons metálicos (anteriormente dissociados), necessitam transpor duas camadas: de água e de muco (Rutz; Murphy, 2009). A camada de muco é constituída por mucinas, que possuem alta densidade de grupos sulfato e carboxilatos. Portanto, a habilidade dos íons metálicos transpor a camada mucosa para serem absorvidos, está sujeita a sua mobilidade através das camadas (Powell; Jugdaohsingh; Thompson, 1999). Assim sendo, para que os minerais sejam absorvidos, não podem se encontrar na forma de compostos hidroxí-metálicos, necessitando penetrar nas camadas para então chegar ao enterócito.

Através de transporte ativo ou difusão passiva os íons poderão transpor para o interior dos enterócitos do intestino delgado, carecendo de transportadores específicos. Neste sentido, a concentração mineral na luz intestinal definirá o processo de absorção. Quando em baixas concentrações, utiliza-se a absorção transcelular, já em altas concentrações, paracelular. Na absorção

transcelular há participação de proteínas transportadoras específicas e ocorre em três etapas. Nela, os íons metálicos atravessam a membrana apical (primeira etapa), percorrem pelo citosol da célula (segunda etapa), consequentemente movimentando os íons da membrana celular basolateral para o espaço intersticial e lâmina própria e por fim, os íons são conduzidos até a corrente sanguínea (terceira etapa). Já na absorção paracelular há uma geração de força difusional devido à alta quantidade de minerais ionizáveis, capaz de empurrar o mineral através da junção apertada para o espaço intersticial diretamente para o sangue. Também há absorção paracelular através de arrasto de solvente, em que quando a água atravessa os poros da junção firme, os íons livres, os quais estão em suspensão na água, também serão absorvidos (Goff, 2018).

O Mn é absorvido no decorrer do intestino delgado, iniciando sua captação no lúmen, seguindo para os demais tecidos (Oberleas; Harland; Bobilya, 1999). Também é possível que o Mn seja conduzido do lúmen para dentro dos enterócitos por meio da proteína transportadora de metal divalente-1 (DMT1), a qual é encarregada de levar o Mn^{2+} (Suttle, 2010). A expressão gênica da DMT1 é maior no duodeno se contrastado com o jejuno e o íleo, sugerindo seu envolvimento na absorção no intestino delgado proximal (Bai *et al.*, 2012; Liao *et al.* 2019), no entanto, sua capacidade é limitada (Goff, 2018). Apesar disto, algumas pesquisas relacionam a absorção do Mn no intestino delgado distal, em que maior parte do metal foi absorvido no íleo, através da absorção paracelular (Ji *et al.*, 2006; Bai *et al.*, 2008).

O Mn absorvido na forma de Mn^{2+} pode ser encontrado como íons livres no plasma (pequenas quantidades) ou ligado a α -2-macroglobulina e ao albumina (maior parte), o qual é oxidado a Mn^{3+} , que então se liga à transferrina e permanece na circulação (Bertinchamps *et al.*, 1966; Oberleas; Harland; Bobilya, 1999). Parte significativa do Mn é encontrado no fígado e no esqueleto (Legleiter; Spears; Lloyd, 2005).

A captação de Mn pode ser reduzida ou aumentada, uma vez que há interações antagônicas, quando um mineral inibe a absorção do outro, ou sinérgicas, quando a absorção de um mineral melhora devido à presença de outro. Alguns metais que possuem interações antagônicas: cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), zinco (Zn) e sódio (Na). Já os de interações sinérgicas: ferro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu) e molibdênio (Mo). Portanto, os antagônicos quando suplementados em excesso, podem deprimir a captação e consequentemente, a absorção do Mn (Lassiter *et al.*, 1972; Wedekind; Baker, 1990; Vieira, 2008). À vista disto, a DMT1 é regulada pela concentração do Fe; em caso de alta concentração de Fe no interior dos eritrócitos, a expressão da DMT1 é regulada negativamente. Todavia, se a suplementação de Mn for adequada, o transporte paracelular ocorrerá normalmente dentro do íleo (Goff, 2018). Contudo, altas concentrações de Mn impacta no aproveitamento do Fe (Chua; Morgan, 1997).

A regulação homeostática da excreção do Mn ocorre através da via biliar e pancreática, em que o fígado absorve o Mn existente na circulação portal e seu excesso é levado até a bile e eliminado nas excretas (Brandt; Schramm, 1986; Suttle, 2010). Portanto, haverá maior concentração do metal no fluido biliar, uma vez que a via biliar esteja indisponível, a excreção poderá ocorrer através dos fluidos pancreáticos (Oberleas; Harland; Bobilya, 1999). Reduzidas quantidades de Mn são geralmente excretadas via urina, onde a homeostase do Mn também pode ser influenciada por sua circulação entero-hepática (Goff, 2018).

3.1. CLASSIFICAÇÃO E ABSORÇÃO DO MANGANÊS COMPLEXADO A MOLÉCULA ORGÂNICA

A utilização de minerais orgânicos manifestou-se a partir da década de 80 (Kiefer, 2005), entretanto, apenas há alguns anos que seu emprego nas rações animais obteve maior notoriedade, devido a contribuição de diversas pesquisas. A Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (AAFCO) regulamentou a classificação dos minerais orgânicos em: Complexo metal-aminoácido, ligação de um sal metálico solúvel com um ou mais aminoácidos; Complexo metal-aminoácido específico, ligação de um metal solúvel com um aminoácido específico; Complexo metal-polissacarídeo, ligação de um metal solúvel com uma solução de polissacarídeos; Proteinato metálico, ligação de um metal com aminoácidos ou proteínas parcialmente hidrolisados; Quelato metal-aminoácido, ligação de um metal solúvel com aminoácidos na relação de um mol de metal para um, dois ou três moles de aminoácidos (AAFCO, 2001).

As pesquisas suplementando minerais complexados para aves, possuem resultados promissores, contudo, a forma como estes minerais são ofertados nas rações influenciam tais resultados. A utilização de Manganês complexado a aminoácidos (MnAA) na suplementação de rações para aves foi demonstrado por diversos autores através de sua comparação com minerais inorgânico ou ainda a utilização de níveis do metal complexado, em que pode-se verificar melhorias na conversão alimentar (Mwangi *et al.*, 2019) e na qualidade da casca do ovo (Li *et al.*, 2018), maior concentração mineral na gema (Wanderley, 2020), prevenção da oxidação lipídica na gema (Venglovská *et al.*, 2014) e ainda, menor concentração mineral nas excretas (Carvalho *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2011). Metais complexados a aminoácidos são absorvidos intactos, pois detém formulação molecular diferenciada com menor tamanho de molécula, é estável ao pH fisiológico do animal e solúvel em pH neutro e não competem com as proteínas transportadoras dos metais na sua forma convencional (Ashmead, 1993; Sauer *et al.*, 2017). A captação de MnAA pode suceder ligada à borda em escova, o qual o Mn é captado pela célula epitelial, ou também, através do ligando químico, em que o metal é carregado até o local de absorção de seu ligando (Kratzer; Vohra, 1996;

Kiefer, 2005).

No geral, o MnAA evidencia maior captação e absorção porque utiliza as vias de transporte e absorção das moléculas as quais estão ligadas: os carreadores de aminoácidos. Portanto, o Mn é captado pelos carreadores e ligam-se aos aminoácidos, sendo absorvidos no sangue, não havendo interações com demais minerais (Ashmead, 1993; Kratzer; Vohr, 1996; Sauer *et al.*, 2017). Há uma maior biodisponibilidade do MnAA devido a não dissociação da molécula em que está complexado, portanto, não é ionizado e consequentemente não permite fatores antinutricionais e antagônicos da dieta, assim como, fatores relacionados ao lúmen intestinal (Rutz; Murphy, 2009).

De acordo com Spears (1996) e Clydesdale (1998), o ligando químico gera um complexo estável no trato intestinal, uma vez que origina um composto solúvel com o Mn, de forma a facilitar a absorção. Sendo assim, concentrações minerais menores serão utilizadas na suplementação animal.

O método de captação e absorção do MnAA dar-se de forma similar ao dos aminoácidos, na qual o MnAA é incorporado intacto pela mucosa celular. Adiante, há uma quebra enzimática sucedendo em transporte ativo do complexo, saindo do lado luminal para o lado citoplasmático. Em virtude da modificação do pH, há uma ruptura na ligação da molécula transportadora com o complexo, ocorrendo, portanto, a liberação do metal-aminoácido. Em vista disto, o complexo é conduzido da membrana apical para a basolateral e a partir de então, para o plasma, sendo, portanto, uma molécula intacta e dispensando qualquer transportador intracelular (Ashmead, 1991; Rutz; Pan; Xavier, 2003).

Após absorvida de maneira intacta, a molécula será acumulada nos tecidos e utilizada para o metabolismo quando necessário. Na ocorrência da necessidade orgânica animal, haverá a quebra da ligação do metal com o aminoácido, sendo então, disponibilizados nas células, de forma progressiva (Ashmead, 1991; Oliveira, 2019), e desta forma, mantem-se armazenados por períodos mais longos, quando comparados aos provenientes de fontes inorgânicas (Rutz; Pan; Xavier, 2003). Contudo, vale destacar que a absorção do mineral complexado dependerá do tipo do aminoácido existente no complexo, uma vez que os aminoácidos são carreados por diversas proteínas transportadoras, as quais variam conforme sua quiralidade, carga iônica e cadeia lateral (Sauer *et al.*, 2017).

Gao *et al.* (2014) e Sauer *et al.* (2017) validaram que os minerais complexados a aminoácidos são absorvidos intactos, uma vez que conseguem manter a estrutura ao longo de sua passagem pelo trato gastrointestinal, passando pelo enterócito de modo mais rápido.

A excreção do MnAA sucede-se semelhante à dos minerais inorgânicos, visto que ao final da absorção, o Mn inicialmente complexado, também estará na circulação sanguínea e seu excesso será conduzido a bile, em virtude de ser o local de regulação do mineral, e posteriormente será liberado nas excretas (Suttle, 2010).

4. DESENVOLVIMENTO ÓSSEO

Os ossos são responsáveis por sustentar o corpo do animal e proteger os tecidos e órgãos moles, auxiliando na locomoção em conjunto com os músculos, assim como, possui implicação na formação da casca do ovo, de forma que a qualidade óssea está intimamente relacionada a qualidade da casca, uma vez que os ossos servem de reserva mineral (na forma de hidróxiapatita de cálcio) para produção de ovos (Kim *et al.*, 2005; Bacchi; Rodrigues, 2021).

O tecido conjuntivo ósseo é constituído por: 4 a 6% de osteoblastos, 90 a 95% de osteócitos, 1 a 4% de osteoclastos e uma matriz extracelular (Figura 1), possuem um metabolismo bastante desenvolvido e, consequentemente, alta capacidade regenerativa (Bacchi; Rodrigues, 2021).

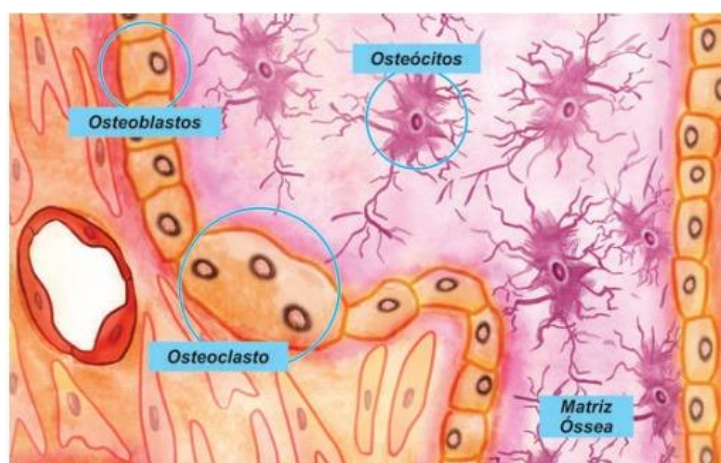


Figura 1 Células do tecido ósseo e matriz óssea, assim como suas localizações Fonte: BACCHI; RODRIGUES, 2021.

Os osteoblastos dispõem de formato cuboide quando em atividade intensa e formato pavimentoso em baixa atividade, situados por toda a extensão da superfície óssea, os quais contribuem para formação da parte orgânica da matriz óssea, sendo depositados na matriz orgânica e posteriormente, são mineralizados (Beu; Guedes; de Quadros, 2017; Bacchi; Rodrigues, 2021).

Osteócitos estão situados dentro de lacunas circundadas pela matriz óssea mineralizada, podem apresentar-se com uma morfologia dendrítica, arredondada ou alongada. São responsáveis pela nutrição do tecido ósseo, os quais são oriundos de células mesenquimais e por meio de uma diferenciação, uma subpopulação de osteoblastos é transformada em osteócitos, (Bacchi; Rodrigues, 2021). A manutenção da matriz é feita pelos osteócitos que sintetizam e a reabsorvem, atividades consideradas importantes por contribuírem para a homeostase do cálcio no sangue, quando há morte de osteócitos, ocorre reabsorção da matriz óssea no local (Beu; Guedes; de Quadros, 2017).

Osteoclastos são células grandes, multinucleadas e possuem ramificações irregulares, as quais realizam a reabsorção do tecido ósseo, estas células são constituídas por células mononucleares que ascendem de células-tronco hematopoiéticas. Eles se encontram na superfície dos ossos quando há remodelação óssea, e quando ativos colocam-se diretamente na área do osso a ser reabsorvida (Beu; Guedes; de Quadros, 2017; Bacchi; Rodrigues, 2021).

A matriz óssea é constituída por elementos orgânicos e inorgânicos, possuindo uma configuração complexa e organizada, desempenhando função fundamental no suporte mecânico, bem como na homeostase óssea. Na parte orgânica da matriz estão presentes as fibras colágenas, as quais são responsáveis pela capacidade plástica e resistência do tecido ósseo, enquanto na parte inorgânica encontra-se principalmente íons de cálcio e fosfato (Beu; Guedes; de Quadros, 2017; Bacchi; Rodrigues, 2021).

Tais células ósseas são responsáveis pela formação de tecidos ósseos denominados de osso cortical, osso esponjoso e osso medular (Van De Velde *et al.*, 1985; Kim *et al.*, 2007) (Figura 2). O osso cortical é um osso estrutural compacto, consistente, protegido e altamente organizado; o osso esponjoso ou osso trabecular, possui estrutura tridimensional com aparência de favo de mel, situada no final dos ossos; o osso medular tem sua formação baseada em fibras irregulares de colágeno, de fácil degradação e recomposição, sendo, portanto, mais frágil que o osso cortical (Odgaard, 1997; Fleming, 1998).

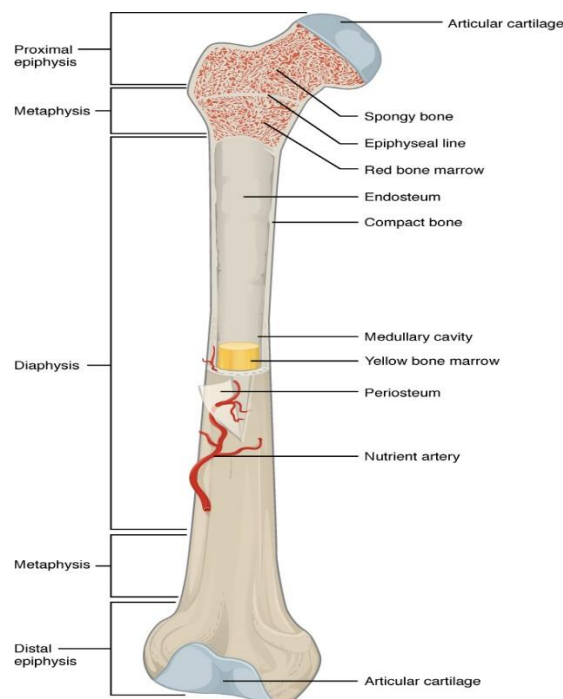


Figura 2 Estrutura óssea e suas características. Fonte: CLARK; DOUGLAS; CHOI, 2022.

A estrutura da tíbia, principal osso estudado nas aves, é constituída principalmente por epífises, metáfises e diáfises (Figura 2). As epífises são divididas em proximal e distal, compostas por osso trabecular e compacto, as quais possuem a zona de crescimento em sua parte interna, encarregada por formar e mineralizar. As metáfises diferem-se em proximal e distal. As diáfises dividem-se em proximal, medial e distal, compostas por ossos compactos e recobertos por ossos esponjosos (Kim *et al.*, 2007).

O desenvolvimento ósseo das galinhas poedeiras sucede-se através da evolução de dois processos, são eles: crescimento do diâmetro ósseo ou circunferencial, mediante da formação intramembranosa e crescimento longitudinal, por meio da ossificação endocondral; e seu progresso torna-se completo ao final da recria. Seus tecidos ósseos são divididos em cortical, medular e trabecular, dos quais formam-se por meio das células osteoblásticas, osteoclásticas, osteogênicas e osteócitas (Whitehead, 2004; Olgun; Aygun, 2016).

A ossificação intramembranosa se dá através do crescimento da circunferência óssea, desenvolvendo-se a partir de células mesenquimais, as quais multiplicam-se e se condensam em regiões com ampla vascularização. Tais células diferenciam-se em osteoblastos, os quais sintetizam uma matriz não mineralizada e unem-se, produzindo uma rede óssea com lacunas, das quais são preenchidas por osteoblastos, responsáveis pela mecânica e proteção dos ossos, concedendo-os uma estrutura esponjosa (Jiang *et al.*, 2002; Whitehead, 2004).

Contudo, a ossificação endocondral é encarregada pelo crescimento longitudinal dos ossos, em que os condrócitos presentes na placa epifisária de crescimento se proliferam, multiplicando-se e gerando dentro da matriz extracelular, células em forma de colunas, as quais contém significativa proporção de colágeno tipo II. Capilares sanguíneos epifisários fomentam os condrócitos, os quais tornam-se arredondados, amplos e secretores de colágeno tipo X. O desenvolvimento condrocitário é conduzido através dos fatores de crescimento e proteoglicanos, os quais também integram a matriz extracelular (Whitehead, 2004).

A efetiva ossificação decorre na zona hipertrófica inferior em que há reabsorção da matriz pelos condroclastos, enquanto os condrócitos auxiliam na formação dos cristais de hidroxiapatita de cálcio, por meio da secreção de fosfatase alcalina. Ocorre apoptose e reabsorção dos condrócitos e, constituição dos osteoblastos através de células precursoras da medula, os quais são responsáveis pela produção de colágeno tipo I e altas concentrações de fosfato de cálcio, provendo cristais de hidroxiapatita dentro e no entorno da matriz (Whitehead, 2004; Long; Ornitz, 2013).

Os osteoclastos, os quais são responsáveis pela reabsorção da matriz óssea, são ativos na zona hipertrófica, em que, determinadas ações (ativação e mobilização dos osteoclastos para superfície do osso; início da reabsorção óssea; regressão da reabsorção com a constituição de novos ossos; formação óssea através dos osteoblastos) sucedem no desenvolvimento do osso trabecular, contendo fibrilas de colágeno (Whitehead, 2004; Florêncio –Silva *et al.*, 2015).

A medida que a ave cresce há continuidade da multiplicação dos condrócitos, gerando alargamento e alongamento dos ossos, com consequente formação de ossos medulares, ocorrendo habitualmente no início de sua maturidade sexual (Whitehead, 2004). Os osteoclastos do osso medular aceleram e findam a reabsorção óssea, de forma alternada, no decorrer do ciclo de produção de ovos, concedendo o cálcio para a formação da casca do ovo (Miller, 1992; Dacke *et al.*, 1993, Dacke, 2000; Sugiyama; Kusuvara, 2001). No momento em que o ovo se encontra no infundíbulo, istmo ou magno, haverá interrupção da reabsorção óssea por meio dos osteoclastos. Tão logo inicia-se a calcificação da casca, os osteoclastos reabsorvem os minerais presentes no osso, para a sua completada formação.

Simultaneamente com a produção diária de ovos, as galinhas poedeiras possuem uma rápida remodelação óssea e, conseqüentemente, uma vasta mobilização de cálcio dos ossos com objetivo de formação da casca do ovo. A renovação óssea é um grande receio da indústria avícola, uma vez que mobilização do cálcio, pode gerar osteoporose e fraturas ósseas, causando prejuízos para saúde e bem-estar das galinhas poedeiras, bem como para produção (Wilson; Solomon; Thorp, 1998; Riczu *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2005; 2007).

Diante do exposto em face da importância do desenvolvimento ósseo, diversas pesquisas foram realizadas com as mais variadas espécies animais, em que foi possível atestar a fundamental importância do manganês no adequado desenvolvimento ósseo animal, sendo sua deficiência impactante, principalmente nos ossos longos, ocasionando sobretudo crescimento retardado, discondroplasias e perose (Rojas *et al.*, 1965; Eum *et al.*, 2014; Van Emon; Sanford; Mccoski, 2020; Wang *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2022).

4.1. EFEITOS DO MANGANÊS SOBRE A QUALIDADE ÓSSEA DAS AVES

Sabe-se que o desenvolvimento ósseo se prolonga até o final da recria das galinhas poedeiras, demandando, portanto, da suplementação de manganês (Mn) desde o início de sua vida até na fase de postura, objetivando reserva mineral suficiente para a fase produtiva do animal. A essencialidade de Mn para qualidade óssea foi demonstrada inicialmente por Wilgus Jr; Norris e Heuser (1937), em que

constaram sua influência no crescimento das aves, bem como na prevenção de deformidades ósseas.

O Mn possui significativa importância nas mais diversas funções fisiológicas e cerebrais, participando do metabolismo, digestão e reprodução animal. Sua demanda adjunta do normal crescimento esquelético está associada à biossíntese de proteoglicanos no desenvolvimento da matriz orgânica do osso (Sauveur, 1984).

O micromineral Mn é um cofator de múltiplas enzimas transferases, hidrolases e superóxido dismutase, das quais são de fundamental importância no desenvolvimento ósseo e indispensáveis para formação da matriz orgânica dos ossos (Palacios, 2006; Dermience *et al.*, 2015), possuindo capacidade de impedir a perda de massa óssea (Rico *et al.*, 2000).

Foi constatado que sua deficiência gera diversos prejuízos para produção, assim como, anomalias e doenças ósseas (Strause *et al.* 1986; Zhaojun *et al.* 2013). Pode haver um desequilíbrio da remodelação óssea em consequência de uma perda óssea, sobretudo trabecular, ou seja, a reabsorção óssea é mais eficiente que a formação óssea (Liu *et al.*, 2015), podendo ocasionar ossos de menor resistência e com baixa reserva mineral, sendo capaz de interferir na qualidade de vida do animal, bem como na produção de ovos.

A utilização de fontes inorgânicas e orgânicas de Mn é bem difundida nas pesquisas com galinhas poedeiras, em que ambas possuem papel fundamental no desenvolvimento ósseo das aves, com maior resistência à ruptura da tíbia, desde que seja respeitada a suplementação necessária do mineral conforme a fonte escolhida (Swiatkiewicz; Koreleski, 2008). Brooks *et al.* (2012) e Bassi *et al.* (2021) utilizaram em suas pesquisas, diferentes fontes de Mn e demonstraram eficiente absorção do mineral e consonância dos parâmetros ósseos avaliados (concentração de Mn nas tíbias e resistência óssea).

É usual nas rações de galinhas poedeiras a utilização de suplementação mineral acima do nível exigido pelas aves, quando se utiliza fontes de biodisponibilidade reduzida, o qual promove má formações ósseas, resultando em má formação de cascas, ocasionadas por uma desproporção nutricional no que se refere aos minerais. Em vista disso e almejando melhores qualidades nos ossos e nas cascas, diversos estudos utilizaram minerais advindos de fontes orgânicas complexadas a aminoácidos, demonstrando sua importância e superioridade quando comparados às fontes inorgânicas (Wanderley, 2020; Medeiros-Ventura *et al.*, 2023).

Estudos sobre os efeitos da suplementação com fontes orgânicas de Mn nas tíbias das aves apresentam melhorias no desenvolvimento, mineralização óssea, qualidade dos ovos e à quebra da casca, bem como, reduzindo o estresse oxidativo, especialmente quando comparadas as dietas que continham minerais inorgânicos (Swiatkiewicz; Koreleski, 2008; Yildiz; Cufadar; Olgun, 2011; Xia, 2022). Contudo, ainda há divergências quanto ao nível ideal da suplementação de Mn complexado para galinhas poedeiras.

5. HEMATOLOGIA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

A condição metabólica dos animais manifesta-se através da constituição do plasma sanguíneo, em que se torna viável avaliar o correto funcionamento ou ainda, alterações nos órgãos, bem como, adversidades metabólicas, fisiológicas e nutricionais (González; Scheffer, 2003). Entretanto, para uma correta interpretação faz-se necessário correlacionar os valores de referência com a nutrição e o habitat do animal.

A produção avícola enfrenta algumas adversidades relacionadas a disfunções metabólicas, as quais exigem um melhor entendimento das alterações fisiológicas a fim de prevenir ou reduzir seus efeitos. Nesse sentido, alguns marcadores hematológicos e bioquímicos podem ser utilizados buscando indicadores de boa saúde e nutrição. Os parâmetros sanguíneos podem ser alterados de acordo com estado diversos fatores, tais como: sexo, idade, manejo nutricional, época do ano, entre outros (Campbell, 2004).

Ao que se refere a hematologia, ela abrange a análise qualitativa e quantitativa dos elementos celulares e suas modificações, abrangendo as séries branca e vermelha (Fudge, 2000). O hemograma das aves, ou seja, a contagem de suas células sanguíneas compreende a concentração de hemoglobina (HGB), a determinação do hematócrito (HTC), assim como a contagem total de eritrócitos (Zinkl, 1986). A atenuação dos eritrócitos e da dosagem de HGB referem-se as principais alterações encontradas nas aves. Por meio dos parâmetros da massa eritrocitária é possível classificar anemias, através de esquemas que consideram alterações quantitativas e morfológicas da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e do volume corpuscular médio (VCM) (Fudge, 2000).

Enquanto a bioquímica sanguínea refere-se à avaliação da condição fisiológica das aves. Para uma adequada interpretação dos resultados, faz-se necessário fundamentos de anatomia e fisiologia das aves e com isso distinguir as avaliações mais pertinentes. Há uma variedade de testes bioquímicos, os quais são relacionados conforme o órgão ou função que se almeja avaliar. Portanto, nesta conjuntura podemos citar testes para enzimas específicas ou proteínas, ácido úrico, amônia, ácidos biliares, entre outros. Metabólitos, perfil enzimático das células e mecanismos de regulação são algumas das distinções pertencentes aos parâmetros dos mamíferos quando contrastados com os das aves (Harr, 2002).

O nível sérico das proteínas totais aferidas nas aves é quantificado por meio da razão albumina:globulina, podendo ser afetado de acordo com idade, nutrição e saúde (Lumeij, 1997). A albumina (ALB) desempenha função no transporte de proteínas assim como na osmorregulação da

pressão osmótica. A globulina (GB) possui proteínas que atuam nas mais diversas condições patofisiológicas e fisiológicas, na qual dispõe de três frações (alfa (α), beta (β) e gama (γ)) (Tully Jr; Dorrestein; Jones, 2010).

Com a finalidade de compreensão da função renal, evidencia-se a anatomofisiologia das aves, uma vez que o rim contribui para osmorregulação do plasma, eliminando os produtos nitrogenados, como o ácido úrico (AUR), o qual é sintetizado no fígado e no rim diante do metabolismo das purinas (Sturkie, 1986). A ureia e a creatinina dispõem de baixas concentrações plasmáticas, no entanto, a variação de seus níveis não atestam disfunções renais, sendo, portanto, fundamental a avaliação do AUR. A idade, dieta, e ainda alterações metabólicas e fisiológicas são algumas das razões que podem influenciar os níveis séricos de AUR; aves mais jovens e dietas com altos teores de proteína podem ocasionar aumento nos níveis séricos (Hochleithner, 1994; Alonso-Alvarez, 2005; Capitelli; Crosta, 2013). Os valores séricos aumentados de AUR podem indicar comprometimento renal superior de 70 a 80% (Hochleithner, 1994), desidratação (Lumeij, 1997), ou ainda, uma restrição alimentar (Rajman *et al.*, 2006).

Conforme a verificação de níveis séricos elevados de enzimas plasmáticas, caracterizando dano hepatocelular, é possível identificar, portanto, a presença de lesões hepáticas, no entanto não é capaz de apontar a intensidade do comprometimento da função hepática, bem como, o motivo para tal. A fosfatase alcalina (FA) está associada com o crescimento das aves, em virtude de sua atuação no metabolismo do cálcio e do fósforo, cooperando atividades osteoblásticas e condrogênicas (Rajman *et al.*, 2006). É possível detectar presença de FA no músculo esquelético e cardíaco, pulmões, rins, testículos, músculos e fígado, neste último, não apresenta quantidades relevantes (Hochleithner, 1994).

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima relacionada com diversos tecidos, em que no fígado das aves essa relação é fortemente específica, todavia essa enzima possui uma baixa atividade no órgão em questão, portanto, não é um bom indicador para avaliação hepática (Grunkemeyer, 2010).

Assim como a GGT, a enzima aspartato aminotransferase (AST) também se manifesta em diversos tecidos, tornando-se mais evidente nos músculos cardíaco e esquelético, bem como no fígado (Grunkemeyer, 2010; Capitelli; Crosta, 2013). A AST é utilizada como uma enzima sensível, no entanto não é específica para danos hepatocelulares (Lewandowsk; Campbell; Harrison, 1986; Fudge, 2000).

Diante da variabilidade dos parâmetros sanguíneos, é de suma importância uma análise completa da saúde da ave, buscando elucidar as variações fisiológicas assegurando não só as variáveis sanguíneas, mas também sua correlação com a nutrição, manejo e ambiente.

6. REFERÊNCIAS

- ALONSO-ALVAREZ, C. Age-dependent changes in plasma biochemistry of yellow-legged gulls (*Larus cachinnans*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 140, n.4, p. 512–518, 2005.
- ARAÚJO, W. A. G.; ALBINO, L. F. T. **Comercial incubation [incubação comercial]**. Viçosa: Transworld Research Network, 2011.
- 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. **ACS Symposium Series**, v. 24, n. 1, p. 306–319, 1991.
- ASHMEAD, H. D.; ZUNINO, H. The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Noyes Publications: Westwood, 1993.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual 2024**. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf>. Acesso em: 31 mai. 2024.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official guidelines for contaminant levels permitted in mineral feed ingredients**. Official Publication. Indiana, 2001.
- BACCHI, R. R.; RODRIGUES, H. G. **Atlas de histologia essencial**: Bacchi & Rodrigues., Montes Claros: Editora Unimontes, 2021.
- BAI, S. P.; LU, L.; LUO, X. G.; LIU, B. Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. **Poultry Science**, v. 87, n. 12, p. 2596–2604, 2008.
- BAI, S. P.; LU, L.; WANG, R. L.; XI, L.; ZHANG, L. Y.; LUO, X. G. Manganese source affects manganese transport and gene expression of divalent metal transporter 1 in the small intestine of broilers. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 2, p. 267–276, 2012.
- BAO, Y. M.; CHOCT, M.; IJI, P. A.; BRUERTON, K. Effect of organically complexed copper, iron, manganese and zinc on broiler performance, mineral excretion and accumulation in tissues. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 3, p. 448–455, 2007.
- BASSI, G.; LARA, L. J.; ARAÚJO, I. C.; FERREIRA, V. P.; BARBOSA, H. J.; SOUSA, L. S.; COSTA, B. T. Levels and sources of manganese on bone performance and resistance in broilers. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e17310313182, 2021.
- BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012.
- BERTINCHAMPS, A. J.; MILLER, S. T.; COTZIAS, G. C. Interdependence of routes excreting manganese. **American Physiological Society Journal**, v. 211, n. 1, p. 217–224, 1966.

- BEU, C. C. L.; GUEDES, N. L. K. O; DE QUADROS, A. A. G. **Tecido conjuntivo**, 2017. Disponível em: <https://www.unioeste.br/portal/microscopio-virtual/tecido-conjuntivo/especializado/osseo/celulas-e-matriz-ossea-osso-descalcificado>. Acesso em: 22 de abr. 2024.
- BRANDT, M.; SCHRAMM, V. L. Mammalian manganese metabolism and manganese uptake and distribution in rat hepatocytes. In: **Manganese in metabolism and enzyme function**. Elsevier: Academic Press, 1986.
- BROOKS, M. A.; GRIMES, J.L.; LLOYD, K.E.; VALDEZ, F.; SPEARS, J.W. Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 1, p. 126–130, 2012.
- CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of birds. In: THRALL, M.A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004. p. 479-492.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 71–120, 2013.
- CARVALHO, L.; LIMÃO, V.; FAGUNDES, N. S.; FERNANDES, E. Excretion level of trace minerals in broilers fed organic mineral. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1–8, 2018.
- CHUA, A. C. G.; MORGAN, E. H. Manganese metabolism is impaired in the Belgrade laboratory rat. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 167, n. 5, p. 361–369, 1997.
- CLARK, M. A.; DOUGLAS, M. CHOI, J. **Anatomy and Physiology 2e**. OpenStax College: Open Stax College, 2022.
- 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.
- CLYDESDALE, F. M. Mineral interactions in foods. In: BODWELL; C.E; ERDMAN, Jr. J.W. **Nutrient interactions**. New York: Marcel Dekker, 1998.
- DACKE, C. G. The parathyroids, calcitonin, and vitamin D, in: WHITTOW, G.C. **Avian Physiology**, London: Academic Press, 2000. p. 473-488.
- DACKE, C. G.; ARKLE, S.; COOK, D. J.; WORMSTONE, I. M.; JONES, S.; ZAIDI, M.; BASCAL, Z. A. Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, v. 184, n. 1, p. 63-88, 1993.
- DERMIENCE, M.; LOGNAY, G.; MATHIEU, F.; GOYENS, P. Effects of thirty elements on bone metabolism. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 32, p. 86-106, 2015.
- EUM, J. H.; CHEONG, H. K.; HA, E. H.; HA, M.; KIM, Y.; HONG, Y. C.; PARK, H.; CHANG, N. Maternal blood manganese level and birth weight: a MOCEH birth cohort study. **Environmental health: a global access science source**, v. 13, n. 1, p. 31. 2014.

- FAVERO, A.; VIEIRA, S. L.; ANGEL, C. R.; BESS, F.; CEMIN, H. S.; WARD, T. L. Reproductive performance of Cobb 500 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.
- FLEMING, R. H.; McCORMACK, H. A.; McTEIR, L.; WHITEHEAD, C. C. Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. **Research in Veterinary Science**, v. 64, n. 1, p. 63-67, 1998.
- FLORÊNCIO-SILVA, R.; SASSO, G. R. D.; SASSO-CERRI, E.; SIMÕES M. J.; CERRI, P. S. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed Research International**, v. 2015, p.1–17, 2015.
- FUDGE, A. M. **Laboratory medicine: avian and exotic pets**. New York: Saunders, 2000.
- GALLUP, W. D.; NORRIS, L. C. The effect of a deficiency of manganese in the diet of the hen. **Poultry Science**, v. 18, n. 1, p. 82-88, 1939.
- GAO S.; YIN, T.; XU, B.; MA, Y.; HU, M. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life Sciences**. v. 109, n. 1, p. 50-6, 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.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R. Eds. **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 73-89.
- GRUNKEMEYER, V. L. Advanced diagnostic approaches and current management of avian hepatic disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 13, n. 3, p. 413–427, 2010.
- GUTOWSKA, M. S.; PARKHURST, R. T. Studies in Mineral Nutrition of Laying Hens.I The Manganese Requirement. **Poultry Science**, v. 21, n. 3, p. 277-287, 1942.
- HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 140-151, 2002.
- HOCHLEITHNER, M. Biochemistries. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L.R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 176-198.
- JI, F.; LUO, X. G.; LU, L.; LIU, B.; YU, S. X. Effect of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. **Poultry Science**, v. 85, n. 11, p. 1947–1952, 2006.
- JIANG, X.; ISEKI, S.; MAXSON, R. E.; SUCOV, H. M.; MORRIS-KAY, G. M. Tissue origins and interactions in the mammalian skull vault. **Journal of Developmental Biology**, v. 241, n. 1, p. 106-16, 2002.
- KEEN, C. L.; ENSUNSA, J. L.; WATSON, M. H.; BALY, D. L.; DONOVAN, S. M.; MONACO, M. H.; CLEGG, M. S. Nutritional aspects of manganese from experimental studies. **Neurotoxicology**, v. 20, n. 2-3, p. 213- 223, 1999.

- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 3, p. 206–220, 2005.
- KIM, W. K.; DONALSON, L. M.; HERRERA, P.; KUBENA, L. F.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. Comparisons of moulting diets on skeletal quality and eggshell parameters in hens at of the second egg-laying cycle. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 522-527, 2005.
- KIM, W. K.; DONALSON, L. M.; BLOOMFIELD, S. A.; HOGAN, H. A.; KUBENA, L. F.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. Molt performance and bone density of cortical, medullary, and cancellous bone in laying hens during feed restriction or alfalfa-based feed molt. **Poultry science**, v. 86, n. 9, p. 1821–1830, 2007.
- KRATZER, F. H.; VOHRA, P. Chelates and chelation. In: KRATZER, F. H., VOHRA, P. **Chelates in nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 1996.
- LASSITER, J. W.; MILLER, W. J.; PATE, F. M.; GENTRY, R. P. Effect of dietary calcium and phosphorus on ⁵⁴Mn metabolism following single tracer intraperitoneal and oral doses in rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 139, n. 1, p. 345–348, 1972.
- LEACH JUNIOR, R. M.; HARRIS, E. D. Manganese. In: O'DELL, B. L.; SUNDE, R. A. **Handbook of nutritionally essential mineral elements**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1997.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Commercial poultry nutrition**. 3. ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2009.
- LEGLEITER, L. R.; SPEARS, J. W.; LLOYD, K. E. Influence of dietary manganese on performance, lipid metabolism, and carcass composition of growing and finishing steers. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 10, p. 2434–2439, 2005.
- LEWANDOWSKI, A. H.; CAMPBELL, T. W.; HARRISON, G. J. Clinical Chemistries. In: HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Clinical avian medicine**, Philadelphia: W. B. Saunders, 1986, p. 192-200.
- LI, L. L.; ZHANG, N. N.; GONG, Y. J.; ZHOU, M. Y.; ZHAN, H. Q.; ZOU, X. T. Effects of dietary Mn-methionine supplementation on the egg quality of laying hens. **Poultry Science** v. 97, n. 1, p. 247–254, 2018.
- LIAO, X. D.; WANG, G.; LU, L.; ZHANG, L. Y.; LAN, Y. X.; LI, S. F.; LUO, X. G. Effect of manganese source on manganese absorption and expression of related transporters in the small intestine of broilers. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4994–5004, 2019.
- LIU, A. C.; HEINRICHS, B. S.; LEACH JUNIOR, R. M. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. **Poultry Science**, v. 73, n. 5, p. 663–669, 1994.
- LIU, R.; JIN, C.; WANG, Z.; WANG, Z.; WANG, J.; WANG, L. 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.
- LONG, F.; ORNITZ, D. M. Development of the Endochondral Skeleton. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 5, n. 1, p. a008334–a008334, 2013.
- LUMEIJ, J. T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.

Clinical biochemistry of domestic animals. 5 ed San Diego: Academic Press, 1997. p. 864-873.

LYONS, M. Some effects of manganese on egg shell quality. **Arkansas Agricultural Experiment Station Bulletin**, v. 374, p. 1-18, 1939.

MACARI, M; MAIORKA, A. L. **Fisiologia das aves comerciais**. Jaboticabal: Funep, 2017.

MADSEN-BOUSERSE, S. A.; ZHONG, Q.; MOHAMMAD, G.; HO, Y. S.; KOWLURU, R. A. Oxidative damage of mitochondrial DNA in diabetes and its protection by manganese superoxide dismutase. **Free Radical Research**, v. 44, n. 3, p. 313–321, 2010.

MCDOWELL L. R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**, 3.ed. Gainesville: University of Florida, 1999.

MEDEIROS-VENTURA W. R. L; RABELLO, C. B. V.; SANTOS, M. J. B.; BARROS, M. R.; SILVA JR, R. V.; OLIVEIRA, H. B.; COSTA, F.S.; FARIA, A. G.; FIREMAN, A.K. 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.

MILLER, S. C. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen, In: WHITEHEAD, C. C. **Bone biology and skeletal disorders in poultry**, Oxfordshire: Publishing Company, 1992. p. 103-116.

MWANGI, S.; TIMMONS, J.; AO, T.; PAUL, M.; MACALINTAL, L.; PESCATORE, A.; CANTOR, A.; DAWSON, K.A. Effect of manganese preconditioning and replacing inorganic manganese with organic manganese on performance of male broiler chicks. **Poultry Science**, v. 98, n. 5, p. 2105–2113, 2019.

NAZ, S.; IDRIS, M.; KHALIQUE, M. A.; ZIA-UR-RAHMAN; ALHIDARY, I. A.; ABDELRAHMAN, M. M.; KHAN, R. U.; CHAND, N.; FAROOQ U.; AHMAD, S. The activity and use of zinc in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 72, n. 1, p. 159–167, 2016.

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.

ODGAARD, A. Three dimensional methods for quantification of cancellous bone. **Bone**, v. 20, n. 1, p. 315-328, 1997.

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.

OLIVEIRA, H. B. **Utilização de minerais complexados a aminoácidos em dietas de galinhas poedeiras semipesadas na fase de produção**. 2019. Tese, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PALACIOS, C. The role of nutrients in bone health, from A to Z. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 8, p. 621-628, 2006.

- POWELL, J. J.; JUGDAOHSINGH, R.; THOMPSON, R. P. H. The regulation of mineral absorption in the gastrointestinal tract. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 1, p. 147-153, 1999.
- RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOSOVA, D.; MACAJOVA, M.; SEDLACKOVA, M.; KOSTAL, L.; JEZOVA, D.; VYBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, Molecular Integrative Physiology**, v.145, n.3, p. 363- 371, 2006.
- RICHARDS, J.; DIBNER, J. Organic trace minerals are not all equally effective. **World Poultry Science Journal**, v. 21, n. 9, p. 17-19, 2005.
- RICO, H.; GÓMEZ-RASO, N.; REVILLA, M.; HERNÁNDEZ, E. R.; SECO, C.; PÁEZ, E.; CRESPO, E. Effects on bone loss of manganese alone or with copper supplement in ovariectomized rats. A morphometric and densitometric study. **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, v. 90, n. 1, p. 97–101, 2000.
- RICZU, C. M.; SAUNDERS-BLADES, J. L.; YNGVESSON, A. K.; ROBINSON, F. E.; KORVER, D. R. End-of-cycle bone quality in white- and brown-egg laying hens. **Poultry science**, v. 83, n. 3, p. 375–383, 2004.
- ROJAS, M. A.; DYER, I. A.; CASSATT, W. A. Manganese deficiency in the bovine. **Journal of Animal Science**, v. 24, p. 664–667, 1965.
- RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo das aves. In: MACARI M.; MENDES, A. A. **Manejo de matrizes de corte**. Facta: Campinas, 2005.
- RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: Congresso Internacional sobre o uso da levedura na alimentação animal, Campinas, SP. **Anais**. Campinas: Universidade Federal de Pelotas, 2009.
- RUTZ, F.; PAN, E. A.; XAVIER, G. B. Efeito de minerais orgânicos sobre o metabolismo e desempenho de aves. **Ave World**, 2003.
- SAUER, A. K.; PFAENDER, S.; HAGMEYER, S.; TARANA, L.; MATTES, A. K.; BRIEL, F.; KÜRY, S.; BOECKERS, T. M.; GRABRUCKER, A. M. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **Biomaterials**, v. 30, n. 5, p. 643–661, 2017.
- SAUVEUR, B. Dietary factors as causes of leg abnormalities in poultry - A review. **World's Poultry Science Journal**, v. 40, n. 3, p. 195-206, 1984.
- 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.
- SCOTT, M. L.; NESHEIM, M. C.; YOUNG, R. J. Proteins and amino acids. In: **Nutrition of the chicken**. 3.ed. Ithaca: M. L. Scott & Associates, 1982.
- SILVA, G. D. **Zinco complexado a aminoácido para poedeiras leves na fase de cria e recria**. 2023. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

- SPEARS, J. W. Optimizing mineral levels and sources for farm animal. In: KORNEGAY, E. T. **Nutrient management of food animals to enhance and protect the environment**. New York: CRC Press, 1996.
- STRAUSE, L. B.; HEGENAUER, J.; SALTMAN, P. Effects of long-term dietary manganese and copper deficiency on rat skeleton. **The Journal of Nutrition**, v. 116, n. 1, p. 135–14, 1986.
- STURKIE, P. D. Kidneys, extrarenal salt excretion and urine. In: STURKIE, P. D. **Avian physiology**. New York: Springer-Verlag, 1986.
- SUGIYAMA, T.; KUSUHARA, S. Avian calcium metabolism and bone function. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 14, p. 82-90, 2001.
- SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed., Midlothian: UK, 2010.
- SWIATKIEWICZ, S.; KORELESKI, J. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. **Veterinarni Medicina**, v. 53, p. 555-563, 2008.
- TULLY JR, T. N.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A. K. Testes clínicos. In _____. **Clínica de Aves**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 181-202.
- UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. 2. ed. Slough: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981.
- VAN DE VELDE, J. P.; VERMEIDEN, J. P. W.; BLOOT, A. M. Medullary bone matrix formation, mineralization, and remodeling related to the daily egg-laying cycle of Japanese quail: A histological and radiological study. **Bone**, v. 6, n. 5, p. 321–327, 1985.
- VAN DER HORN, R.; BRANION, H. D.; GRAHAM JR., W. R., Studies in the nutrition of the chick. III. A maintenance factor present in wheat germ and the effect of addition of a small amount of manganese dioxide to the diet. **Poultry Science**, v. 17, n. 3, p. 185-193. 1938.
- VAN EMON, M.; SANFORD, C.; MCCOSKI, S. Impacts of bovine trace mineral supplementation on maternal and offspring production and health. **Animals**, v. 10, n. 12, p. 2404, 2020.
- VENGLOVSKA, K.; GRESAKOVA, L.; PLACHA, I.; RYZNER, M.; COBANOVÁ, K. Effects of feed supplementation with manganese from its different sources on performance and egg parameters of laying hens. **Czech Journal of Animal Science**, v. 59, n. 4, p. 147-155, 2014.
- VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 2, p. 73–79, 2008.
- WANDERLEY, J. S. S. Histologia intestinal, parâmetros ósseos e deposição mineral na gema dos ovos de galinhas alimentadas com minerais complexados a aminoácidos. 2020. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- 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.
- WEDEKIND, K. J.; BAKER, D. H. Manganese utilization in chicks as affected by excess calcium and phosphorus ingestion. **Poultry Science**, v. 69, n. 6, p. 977–984, 1990.

WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science** v. 83, n. 2, p. 193-199, 2004.

WILSON, S.; SOLOMON, S. E.; THORP, B. H. Bisphosphonates: a potential role in the prevention of osteoporosis in laying hens. **Research in veterinary science**, v. 64, n. 1, p. 37–40, 1998.

WILGUS JR, H. S.; NORRIS L. C.; HEUSER G. F. The role of certain inorganic elements in the cause and prevention of perosis. **Science**, v. 84, n. 2176, p. 252-253, 1936.

WILGUS JR, H. S.; NORRIS L. C.; HEUSER G. F. The role of manganese and certain other trace elements in the prevention of perosis. **The Journal of Nutrition**, v. 14, n. 2, p. 155–167, 1937.

XIA, W. H.; TANG, L.; WANG, Z. Y.; WANG, L. Effects of inorganic and organic manganese supplementation on growth performance, tibia development, and oxidative stress in broiler chickens. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 10, p. 4453–4464, 2022.

YILDIZ, A. O.; CUFADAR, Y.; OLGUN, O. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralisation in laying hens. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 162, n.10, p. 482-488, 2011.

YUAN, J.; ZHIHONG, X.; HUANG, C.; ZHOU, S.; GUO, Y. Effect of dietary Mintrex-Zn/Mn on performance, gene expression of Zn transfer proteins, activities of Zn/Mn related enzymes and fecal mineral excretion in broiler chickens. **Animal Feed Science Technology**, v. 168, n. 1–2, p. 72–79, 2011.

ZAFAR, M. H.; FATIMA, M. A. Efficiency comparison of organic minerals in poultry nutrition: A review. **Veterinary Research**, v. 3, n. 2, p. 53–59, 2018.

ZAPATA, N. K. R. Effect of increasing levels of dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) from organic and inorganic sources on egg quality and egg Zn, Mn, and Cu content in laying hens. 2016. **Dissertação**. (Interdepartmental Program in the School of Animal Science) – Louisiana State University, Luisiana.

ZHAOJUN, W.; LIN, W.; ZHENYONG, W.; JIAN, W.; RAN, L. Effects of manganese deficiency on serum hormones and biochemical markers of bone metabolism in chicks. **Journal of Bone And Mineral Metabolism**, v. 31, n. 3, p. 285–292, 2013.

ZINKL, J. G. Avian Hematology. In: JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4 ed, Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, p.256-273.

CAPÍTULO I

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE CRIA

RESUMO

A suplementação de manganês deve ser suficiente para garantir o adequado crescimento de poedeiras na fase de crescimento. O objetivo foi estimar o consumo ideal de manganês complexado a aminoácido (MnAA) para pintainhas de postura por meio do desempenho produtivo, perfil sanguíneo, comprimento e peso dos órgãos, avaliação óssea e retenção corporal de Mn. Utilizou-se 648 pintainhas Dekalb White, com um dia de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 6 repetições de 18 aves cada. Os tratamentos experimentais compreenderam dietas isonutritivas e isoenergéticas, variando os níveis de inclusão de MnAA em: 25, 37, 49, 61, 73 e 85 mg kg⁻¹. Aos 28 dias de idade, coletou-se sangue para análises de hematologia e bioquímica sérica, enquanto aos 35 dias, eutanasiou-se aves dentro do peso médio (348,31±10,12) para avaliação óssea e avaliação da retenção corporal. Seis aves foram selecionadas no início (1 dia de idade) e uma ave por repetição no final do experimento (35 dias de idade), a fim de integrar amostras de composição corporal. A ingestão de Mn foi calculada pelos modelos $MnAA = R_{max} * x / (k_m + x)$ e $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - \text{amp} / y - R_{min}) / s)$, onde: R_{max} é a resposta máxima, K_m é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Mn; R_{min} é a resposta mínima e amp é a amplitude. A estimativa de Mn para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Empregando o modelo inverso para estimar o consumo de MnAA, temos as seguintes estimativas em mg ave⁻¹ dia⁻¹: 0,907 para hematócrito; 0,902 para volume corpuscular médio; 1,139 para aspartato aminotransferase; 0,908 para globulina; 0,911 para ácido úrico; 0,919 para densitometria óssea medial; 0,917 para índice de Seedor; 1,092 para resistência óssea e 1,747 para concentração mineral de manganês nas tíbias. A recomendação para suplementação de MnAA para aves poedeiras de 1 a 5 semanas é de 0,919 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (39,22 mg kg⁻¹), considerando melhor desenvolvimento corporal e ósseo, com adequado estado de saúde.

Palavras-chave: Desenvolvimento ósseo, estimativa de consumo, mineral complexado, mineral orgânico, retenção mineral.

ABSTRACT

Manganese supplementation must be adequate to ensure sufficient growth of layers in the growing phase. The objective was to estimate the ideal consumption of manganese complexed with amino acids (MnAA) for laying chicks through production performance, blood profile, organ length and weight, bone assessment, and body Mn retention. 648 Dekalb White chicks, one day old, were used, and distributed in a completely randomized design with 6 treatments and 6 replications of 18 birds each. The experimental treatments comprised isonutritive and isoenergetic diets, varying the levels of MnAA inclusion at 25, 37, 49, 61, 73, and 85 mg kg⁻¹. At 28 days of age, blood was collected for hematology and serum biochemistry analyses, while at 35 days, birds within average weight (348.31±10.12) were euthanized for bone evaluation and assessment of body retention. At the beginning of the experimental period, six birds were selected, as well as one bird per experimental plot at the end of the experimental period (35 days) to integrate the body composition samples. Mn intake was calculated using the models $MnAA = R_{max} * x / (k_m + x)$ and $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - \text{amp} / (y - R_{min})) / s)$, where: R_{max} is the maximum response, k_m is a parameter of biological function and x is Mn intake; R_{min} is the minimum response and amp is the amplitude. The Mn estimate for each variable was calculated by inverting the models. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The parameters R_{max} and k_m , as well as R_{min} and amp were: 31.03 and 0.005; 131.5 and 0.063; 195.1 and 0.127; 1.211 and 0.035; 5.357 and 0.080; 7,391 and 1,741; 797.9 and 0.045; 7.094 and 0.131; 5.432 and 2.344; for hematocrit (HTC), mean corpuscular volume (MCV), aspartate aminotransferase (AST), globulin (GB), uric acid (URA), Seedor index (SI), medial bone densitometry (MBD), bone strength (BS) and manganese mineral concentration in the bone (CMMn), respectively. Using the inverse model to estimate MnAA consumption, we have the following estimates: 0.907; 0.902; 1,139; 0.908; 0.911; 0.919; 1.747 mg bird⁻¹ day⁻¹ for HTC, VCM, AST, GB, UA, SI, MBD, BS and CMMn, respectively. The recommendation for MnAA supplementation for laying birds aged 1 to 5 weeks is 0.919 mg bird⁻¹ day⁻¹, considering better body and bone development and body deposition of Mn.

Keywords: Bone development, consumption estimate, complexed mineral, organic mineral, mineral retention.

1. INTRODUÇÃO

A dieta ideal é aquela em que são fornecidas quantidades adequadas de nutrientes em cada fase de criação, incluindo os microminerais, importantes para diversos processos bioquímicos no corpo do animal (Richards *et al.*, 2010; Goff, 2018). Diante disso, a suplementação micromineral comumente se dá através de fontes inorgânicas como carbonatos, cloretos, sulfatos e óxidos. No entanto, tais fontes são dissociadas no pH ácido do proventrículo e possui solubilidade reduzida no pH neutro, possibilitando assim, a interação e o antagonismo do metal Manganês (Mn) com os demais ingredientes da dieta e outros minerais, havendo competição pelos sítios absorptivos e carreadores de membrana, ocasionando a redução da biodisponibilidade mineral (Close, 2003; Goff, 2018; M'sadeq *et al.*, 2018) e consequentemente maior excreção para o ambiente (Yenice *et al.*, 2015).

Contudo, pesquisas comprovam que minerais orgânicos dispõem de maior absorção pois são captados por carreadores de aminoácidos (Gao *et al.*, 2014) e com isso, possibilitam melhorias de variáveis ósseas, produtivas e sanguíneas, além de, reduzir a excreção mineral (Bao *et al.*, 2007; Yenice *et al.* 2015; Cufadar *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2024).

Ainda que haja diversos estudos ligados a utilização de minerais orgânicos, nas mais diversas formas as quais são comercializadas (proteínatos, quelatos, complexos), nenhum deles relaciona a necessidade ideal do Mn complexado a aminoácidos nas fases iniciais de pintainhas de postura juntamente com os demais microminerais (Zn, Cu, Fe e Se) também complexados.

É possível encontrar recomendação para suplementação do Mn orgânico para pintainhas de postura ($35,28 \text{ mg kg}^{-1}$) segundo Rostagno *et al.* (2024), sendo este valor uma redução de 45% daquele sugerido para fontes inorgânicas ($78,39 \text{ mg kg}^{-1}$), no entanto, tais valores provem de uma estimativa média baseada em manuais de diferentes genéticas e artigos, em sua maioria, realizados com frangos de corte, bem como utilizando diversos tipos de fontes orgânicas do metal Mn.

Ainda se tratando da mesma referência (Rostagno *et al.*, 2024), verifica-se recomendações similares para pintainhas de postura e frangos de corte, os quais possuem necessidades nutricionais distintas, por conseguinte, tais valores necessitam de pesquisas mais adequadas, voltadas para cada tipo de criação.

É de fundamental importância que a suplementação de Mn ocorra de forma satisfatória, uma vez que ele possui papel primordial para o crescimento, a reprodução e a produção, bem como nas funções fisiológicas e cerebrais, digestão, metabolismo, além de constituir as proteínas essenciais para formação e crescimento da cartilagem e placa óssea (Offiong; Abed, 1980; Greger, 1999; Zamani *et al.*, 2005; Yildiz *et al.*, 2011). Também é relevante na prevenção de danos oxidativos, pois ele é cofator da superóxido dismutase (Madsen-Bouterse *et al.*, 2010).

Por conseguinte, ainda não há determinação da ingestão ideal de Mn complexado a

aminoácidos para pintainhas poedeiras leves ingerindo dietas com Zn, Cu, Fe e Se complexados a aminaácidos, proporcionando máximos desempenho, saúde e propriedades físico-químicas ósseas.

Portanto, o objetivo da pesquisa é estimar o consumo ideal de manganês complexado a aminoácidos (MnAA) para pintainhas leves de postura, de acordo com o desempenho produtivo, hematologia, bioquímica sérica, retenção mineral no corpo das aves e avaliações ósseas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as técnicas utilizadas nesta pesquisa foram aprovadas pelo Comitê de Ética no uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob o protocolo (n°6000110221).

2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES

O experimento ocorreu no Laboratório de Pesquisa com Aves (LAPAVE) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Latitude: 8°01'11,3"S e Longitude: 34°57'14,6"W).

Foram utilizadas 648 pintainhas de postura da linhagem Dekalb White com um dia de idade, distribuídas em 36 gaiolas experimentais, previamente pintadas com pintura eletrostática, de dimensões 50Lx80Ax50C cm, com densidade de 222cm²/ave, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro automático com copinho acoplado. Durante o experimento o fornecimento de ração foi ajustado semanalmente conforme a necessidade nutricional, enquanto o fornecimento de água foi *ad libitum*.

As aves foram vacinadas para as principais doenças que acometem a região, tais como: bronquite infecciosa das galinhas, doença de Newcastle (cinco dias de vida), pneumovirus (14 dias de vida), bouda aviária, encefalomielite e coriza infecciosa das galinhas (35 dias de vida). Adotou-se o programa de luz recomendado pelo manual da linhagem, o qual ocorreu de forma decrescente, iniciando (primeira semana de vida) com 24 horas de luz e reduzindo uma hora por dia até tornar-se dispensável a luz artificial no decorrer das fases. A temperatura e umidade relativa do ar foram registradas diariamente através de Datalogger (HOBO U12-012), instalado nas extremidades do galpão e termo-higrômetro digital (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) fixado no centro do galpão (Figura 1).

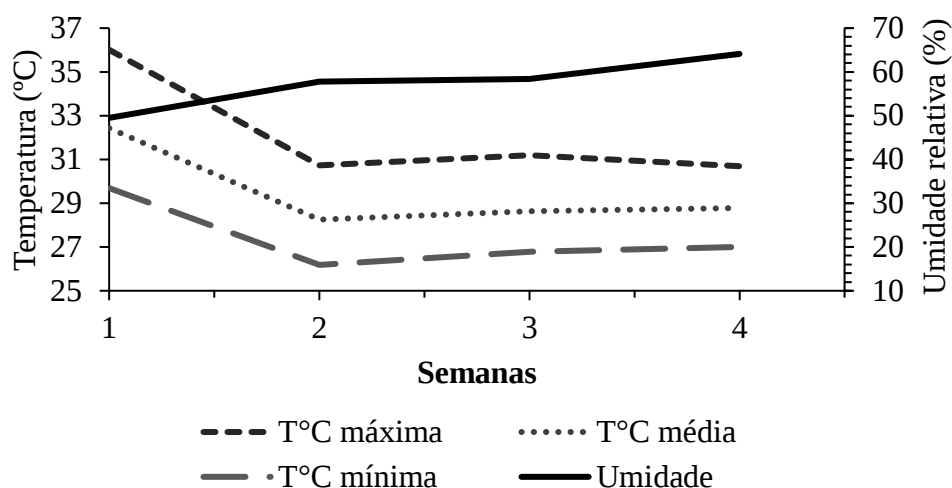


Figura 1 Variações das temperaturas mínima, máxima e média (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período experimental

2.2.DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

As pintainhas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 18 aves por unidade experimental, de acordo com peso médio ($34,59 \pm 0,08$ g). O período experimental sucedeu-se durante as primeiras 5 semanas de vida.

Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, alterando apenas os níveis de inclusão de MnAA em: 25, 37, 49, 61, 73, 85 mg kg⁻¹. O micromineral utilizado é um complexo de 1:1 com aminoácidos (um íon metálico ligado a um aminoácido), dos quais estão em sua composição: ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, arginina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina e valina (Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN, Estados Unidos).

O premix foi formulado de acordo com as exigências da linhagem (Planalto, 2009), com exceção do manganês, no qual foi elaborado de acordo com os tratamentos (Tabela 1). O premix mineral utilizado compreende zinco, manganês, cobre e ferro complexados a aminoácidos, selênio na forma de zinco-L-selenometionina e o iodo em iodato de cálcio.

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais nas dietas experimentais da fase de cria de acordo com os níveis de suplementação de manganês complexado a aminoácidos (MnAA)

Tratamentos	MnAA					
	25	37	49	61	73	85
	mg kg ⁻¹					
Manganês ¹	25,00	37,00	49,00	61,00	73,00	85,00
Zinco ²	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00
Cobre ³	5,600	5,600	5,600	5,600	5,600	5,600
Ferro ⁴	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00
Selênio ⁵	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175
Iodo ⁶	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700

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, ⁶Iodato de cálcio: 628 g/kg.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com as tabelas de Rostagno *et al.* (2017) e o manual da linhagem Dekalb White (Planalto, 2009), a fim de atender às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (Tabela 2).

Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais

Ingredientes	%	Composição Nutricional	
Milho	61,63	EMA ⁴ , kcal/kg	2950
Farelo de Soja	34,88	Proteína Bruta, %	21,03
Calcário Calcítico	1,468	Proteína Bruta ⁵ , %	22,08
Fosfato Bicálcico	0,820	Matéria Seca ⁵ , %	87,21
Bicarbonato de Sódio	0,200	Matéria Mineral ⁵ , %	5,878
Sal Comum	0,171	Fósforo Disponível, %	0,450
DL-metionina 99	0,241	Cálcio, %	1,100
L-lisina 78,8	0,204	Sódio, %	0,180
L-treonina 99	0,024	Cloro, %	0,075
Premix Mineral ¹	0,200	Potássio, %	0,835
Premix Vitamínico ²	0,150	Lisina Digestível, %	1,161
Fitase ³	0,006	Metionina Digestível, %	0,529
Total	100	Metionina + Cistina Digestível, %	0,859
		Balanço Eletrolítico, mEq/kg	242,7

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 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, 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 mg/kg, Niacina (mín): 35.00 g/kg, Ácido Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ácido Pantotênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mín) 10.000 FTU/g; ⁴Energia metabolizável aparente; ⁵Valores analisados (AOAC, 2001).

Logo após a fabricação das rações experimentais, uma amostra de 500g de cada ração foi coletada, e armazenada em freezer a -20 °C, para posterior análise de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) por micro - Kjeldahl (N × 6,25) (nº 954,01) e matéria mineral (MM) em mufla (550 °C; 18h) (nº 942,05) (AOAC, 2000). Bem como, também foram acondicionadas em freezer a -20 °C, alíquotas da água ingerida pelas aves, durante o período experimental. A composição mineral das

dietas e da água estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3 Concentração analisada de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P nas dietas e água utilizadas no experimento

Dietas*	Zn	Mn	Cu	Fe	Ca	P
	mg kg ⁻¹			g kg ⁻¹		
MnAA – 25	91,76	62,63	14,56	314,6	7,089	6,314
MnAA – 37	91,83	73,72	15,03	290,6	7,067	6,562
MnAA – 49	90,50	83,06	14,95	293,9	6,507	6,003
MnAA – 61	89,42	92,76	14,65	264,7	6,844	6,419
MnAA – 73	91,62	104,43	14,95	241,3	7,005	6,307
MnAA - 85	90,22	114,88	14,65	272,9	6,721	6,355
Água*	0,020	0,001	0,000	0,004	1,820	0,000

*Valores obtidos por meio de ICP-OES

2.3.DESEMPENHO PRODUTIVO

Semanalmente aferiu-se o peso vivo das aves (g) e o seu consumo de ração (g), a partir dos quais calculou-se: ganho de peso médio (g), conversão alimentar (g/g) e uniformidade (%).

2.4.PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

Aos 28 dias de idade (quatro semanas) coletou-se amostras de sangue de duas aves por parcela (5 ml/cada), através da veia jugular, em que uma se destinou para análise do perfil hematológico e outra ao perfil bioquímico. A contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas foi realizada em câmara de Neubauer, após diluição com reagente Natt-Herrickem que suas leituras ocorrem por meio de microscopia eletrônica. O hematócrito foi obtido através do método de microcapilar e a mensuração da proteína plasmática total por refratometria. As amostras do perfil bioquímico foram identificadas e centrifugadas a 3500 - 4000 rpm durante 15 minutos; a fim de coletar-se o soro, do qual colheu-se 2ml com o auxílio de uma pipeta, sendo refrigerados em freezer até o momento das análises. 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 analisados: ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), globulina (GB), gama glutamil transpeptidase (GGT) e proteínas totais (PT).

2.5.AMOSTRAGEM PARA RETENÇÃO CORPORAL DE MN E AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS E OSSOS

2.5.1. RETENÇÃO CORPORAL

A fim de se avaliar a retenção corporal do mineral foram eutanasiadas seis aves com um dia de

idade, para se obter uma amostra representativa da composição inicial e uma ave por repetição aos 35 dias de idade (5 semanas de idade), totalizando 36 aves, para amostra da população final.

2.5.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS

Com o propósito de avaliar os órgãos, aos 35 dias eutanasiou-se uma ave de cada unidade experimental. Os tecidos coletados foram: timo, bursa de Fabrício, baço, fígado, pâncreas e intestinos (delgado e grosso). Os órgãos foram pesados em balança semi-analítica de precisão de 0,01g 433 (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália) e os intestinos foram medidos com auxílio de fita métrica.

2.5.3. COLETA DE TÍBIAS

Aos 35 dias, uma ave foi selecionada e eutanasiada de acordo com o peso médio de cada unidade experimental ($348,31 \pm 10,12$). Suas tíbias direita e esquerda foram coletadas e acondicionadas em freezer a -20°C . As tíbias foram previamente descongeladas em temperatura ambiente e descarnadas sem provocar danos na estrutura óssea. As tíbias esquerdas foram utilizadas para avaliação do comprimento, peso, índice de *Seedor* e composição mineral, enquanto as direitas, para a avaliação da densitometria e resistência óssea.

2.6. AVALIAÇÃO ÓSSEA

2.6.1. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR

Para determinar comprimento, peso e índice de *Seedor*, as tíbias foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital (Model Absolute Digital AOS Mitutoyo, SP, BR – precisão de 0,01 mm) e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália). Em seguida, foram calcinadas em mufla para obtenção da matéria mineral (550°C ; 4h; n° 942.05) (AOAC, 2000). Posteriormente, calcula-se o Índice de *Seedor*, dividindo o peso das cinzas (mg) pelo comprimento das tíbias (mm) (*Seedor et al.*, 1991).

2.6.2. DENSITOMETRIA ÓSSEA

A densitometria óssea foi realizada com o auxílio de tomografia computadorizada (scanner HiSpeed FXI CT 06824). Para identificação da densidade óssea utilizou-se o espectro de hidroxiapatita de cálcio. As tíbias foram dispostas lado a lado na mesa do tomógrafo para aquisição das imagens. Posteriormente, as imagens foram analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA) para estimar os valores individuais da radiodensidade óssea em três níveis de corte diferentes da diáfise (proximal, medial e distal), sendo cada região dos cortes divididas em quadrantes e uma região circular de interesse (ROI) selecionada para avaliação

densitométrica do osso cortical (Oliveira *et al.*, 2012). Os resultados são apresentados em unidade de Hounsfield (HU), posteriormente corrigidos e convertidos em mg/cm^3 de hidroxiapatita de cálcio, utilizando a equação descrita por Park *et al.* (2015):

$$\text{BMD} = \frac{200 \text{ HU}_t}{(\text{HU}_b - \text{HU}_w)}$$

Sendo HU_t a radiodensidade do osso mensurado; HU_b a radiodensidade do espectro de osso, que contém 200 mg de hidroxiapatita de cálcio/ cm^3 ; e HU_w a radiodensidade do espectro da água, sem hidroxiapatita de cálcio.

2.6.3. RESISTÊNCIA ÓSSEA

A resistência foi definida através da utilização da força por meio de um ensaio de flexão, em que a força é aplicada em um ponto central, previamente definido através da média do comprimento da tíbia. A força é empregada até a deformação máxima do osso, sendo realizada em máquina de ensaios universais com capacidade de 100kN (EMIC, modelo DL-10000), com o auxílio do software Tesc EMIC. Deformação é uma medida de flexão que ocorre conforme o osso é testado. Ao passo que o ensaio é realizado, o software gera uma curva de deformação, em que se tem: deformação elástica, a qual ocorre na fase inicial da curva, na qual se removida a força aplicada, o osso voltará à sua forma original, pois não há danos permanentes; e deformação máxima, a qual ocorre no ponto de inflexão da curva, em que a aplicação da força é suficiente para haver danos irreversíveis ao osso, sendo este o ponto de falha. A distância entre apoios foi de 40 mm e a velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga foi de 2 mm/min (Adaptado CRENSHAW *et al.*, 1981).

2.7. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL

2.7.1. LIMPEZA DE UTENSÍLIOS

As vidrarias, cadinhos de porcelana e demais utensílios passaram por processos de higienização: lavagem com detergente neutro, imersão em solução de ácido nítrico a 10% por 24h, enxague em água deionizada e secagem em estufa a 55 °C, a fim de se evitar qualquer contaminação com resíduos de outros minerais.

2.7.2. COMPOSIÇÃO ÓSSEA

As tíbias foram secas em estufa a 105 °C por 24h e, em seguida, calcinadas em mufla por 4 horas a 600 °C (Yan *et al.*, 2005).

2.7.3. COMPOSIÇÃO CORPORAL

As carcaças das aves foram armazenadas em sacos plásticos especiais, selados a vácuo e

autoclavadas em autoclave vertical (Phoenix Inc., São 530 Paulo, Brasil) a 127 °C, a 1 atm por 1h30; posteriormente houve a homogeneização em liquidificador industrial de inox (Skymesen Inc, Santa Catarina, Brasil), a fim de se obter de uma fração amostral representativa. As amostras de composição corporal inicial (CCI) e composição corporal final (CCF) das aves passaram por secagem em liofilizador (nº 925,09) (AOAC, 2000) e foram armazenadas para posterior análise mineral.

2.8. QUANTIFICAÇÃO MINERAL: RAÇÕES, COMPOSIÇÃO CORPORAL, TÍBIAS E ÁGUA

Pesou-se 0,5 g das amostras de rações, bem como, da composição corporal, as quais foram previamente liofilizadas, posteriormente foram digeridas em 6 ml de HNO₃ (65%) em digestão úmida assistida por radiação de micro-ondas (Mars Xpress: Thechnology Inside, Cem Corporation) e submetidas a um programa de aquecimento em três etapas: 1º etapa: 1.300W de potência por 10 minutos e 120 °C; 2º etapa: 1.500W de potência por 15 minutos e 170 °C e 3º etapa: 1.500W de potência por 35 minutos e 170 °C. A solução resultante da amostra digerida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluída com água deionizada até atingir o volume final de 25ml.

Para as tíbias, foram pesados 0,5 g das cinzas em balança semi-analítica de precisão de 0,01 g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália) e digeridas em 6 ml de HNO₃ (65% PA) em sistema aberto durante 10 minutos. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume final de 25 ml.

As amostras de água foram diretamente analisadas, sem necessidade prévia de preparo.

Foram quantificados nas rações e na água: zinco, manganês, cobre, ferro, cálcio e fósforo. Nas amostras de composição corporal quantificou-se apenas o mineral estudado, o manganês. Já nas tíbias foram quantificados: manganês, cálcio e fósforo.

A determinação mineral de todas as amostras foi obtida através de espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (Optima 7000 DV ICP – OES, PerkinElmer), realizada pelo Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE.

Com os valores da composição mineral no corpo das aves previamente analisados, calculou-se a retenção corporal de Mn (RTCMn), a partir da seguinte fórmula:

$$RTCMn = \frac{(\text{peso final da carcaça} \times \% \text{ conteúdo corporal final de Mn na matéria natural}) - (\text{peso inicial da carcaça} \times \% \text{ conteúdo corporal inicial de Mn na matéria natural})}{\text{peso final da carcaça} - \text{peso inicial da carcaça}}$$

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e normalidade dos resíduos (Shapiro Wilk) e, em seguida à análise de variância. Posteriormente, efetuou-se a análise de regressão linear e não-linear pelo procedimento PROC NLIN no SAS (2004) com 5% de

probabilidade ($P < 0,05$).

A relação entre cada variável estudada e a ingestão do MnAA foi modelada pelas funções matemáticas de Michaelis-Menten (Érdi; Lente, 2014) e Sigmoidal (Venegas; Harris; Simon, 1998) e, a partir da inversão dos modelos foi estimado a ingestão suplementar de MnAA para cada variável com o auxílio de dois fatores: resposta máxima (R_{max}) e qualidade da variável resposta (K_m):

$$Y = \frac{(R_{max} \times x)}{(K_m + x)}$$

Onde: R_{max} é a resposta máxima, K_m é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Mn.

Invertendo esta equação, obtém-se a estimativa do consumo ideal de MnAA para máxima resposta da variável resposta, tendo:

$$MnCAA = -\frac{(Y \times K_m)}{(Y - R_{max})}$$

Ou ainda, resposta mínima (R_{min}) e amplitude (amp):

$$Y = R_{min} + \frac{(amp)}{1 + e^{(r + s \times x)}}$$

Invertendo a equação, adquire-se a estimativa do consumo ideal de MnAA para mínima resposta da variável resposta, tendo:

$$MnCAA = -r + \ln \frac{(-y - R_{min} - amp \div y - R_{min})}{s}$$

3. RESULTADOS

3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO

Os níveis de suplementação de MnAA promoveram efeitos significativos ($P < 0,05$) sobre o ganho de peso médio (GPM) e consumo de ração (CR) das aves (Tabela 4). No entanto, apesar dessa significância, não foi possível usar tais dados para criar um modelo matemático que explique perfeitamente a relação entre a ingestão de MnAA e os resultados observados. Isto ocorre porque não foi identificado um ponto de máxima resposta, que seria o nível ideal de consumo do mineral onde os resultados (GPM e CR) seriam otimizados. Sem esse ponto de máxima, não se pode determinar qual seria a quantidade ideal de MnAA a ser suplementada para obter os melhores resultados.

Tabela 4 Desempenho produtivo de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	GPM ³	CR ⁴	CA ⁵
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	g ave ⁻¹ dia ⁻¹		g.g ⁻¹
25	0,588	9,153	24,10	2,633
37	0,870	8,840	23,03	2,606
49	1,152	8,910	23,17	2,601
61	1,434	9,096	23,11	2,541
73	1,716	9,021	23,59	2,615
85	2,000	8,993	23,48	2,611
Média		9,005	23,43	2,601
P-Valor		<,0001	<,0001	> 0,05
SEM ⁶		0,041	0,119	0,031
Rmax ⁷		8,951	23,09	-
km ⁷		-0,006	-0,016	-

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Ganho de peso médio; ⁴Consumo de ração; ⁵Conversão alimentar;

⁶Erro padrão da média; ⁷Parâmetros do modelo matemático.

3.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS

Os níveis de suplementação de MnAA afetaram significativamente ($P < 0,05$) os pesos da bursa, intestino e pâncreas (Tabela 5) das aves. Apesar da diferença, não houve ponto de máxima nos resultados, impossibilitando a estimativa do consumo ideal de MnAA pelas aves. No que se refere aos pesos do timo, baço e fígado, bem como, o comprimento do intestino e do ceco, não foram constatados efeitos significativos ($P > 0,05$).

Tabela 5 Peso e tamanho de órgãos de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	Timo	Baço	Bursa	Intestino	Pâncreas	Fígado	Intestino	Ceco
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹				g ⁻¹			cm ⁻¹	
25	0,588	2,617	0,880	2,583	18,25	1,483	10,65	92,17	8.500
37	0,870	2,917	0,733	2,200	16,45	1,320	10,15	93,00	8.667
49	1,152	1,867	0,820	2,400	15,70	1,300	9,450	88,67	8.000
61	1,434	2,420	0,750	1,967	16,22	1,417	10,74	90,33	8.833
73	1,716	2,267	0,720	2,083	16,17	1,350	10,32	87,00	8.500
85	2,000	2,567	0,917	2,367	16,30	1,350	10,70	91,67	9.167
	Média	2,443	0,803	2,263	16,55	1,371	10,32	90,47	8,611
	P-valor	> 0,05	> 0,05	<,0001	<,0001	<,0001	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	SEM ³	0,100	0,030	0,077	0,362	0,032	0,212	1,107	0,134
	Rmax ⁴	-	-	1,998	15,03	1,296	-	-	-
	km ⁴	-	-	-0,125	-0,095	-0,060	-	-	-

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Erro padrão da média; ⁴Parâmetros do modelo matemático.

3.3. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

De acordo com a Tabelas 6, a suplementação de MnAA influenciou na concentração das hemácias (HEM), hematócrito (HTC), leucócitos (LEU), hemoglobina (HGB) e volume corpuscular médio (VCM). Assim como, na Tabela 7, em que houve efeito significativo da suplementação de MnAA ($P < 0,05$) sobre as atividades de aspartato aminotransferase (AST), globulina (GB) e ácido úrico (AUR). Não foram constatadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nas concentrações de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e proteína plasmática total (PPT), tal como, nas atividades de fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transpeptidase (GGT), proteínas totais (PT) e albumina (ALB). Foi possível estimar a ingestão ideal de MnAA através dos parâmetros HTC, VCM, AST, GB e AUR. Não sendo possível estimar para os demais parâmetros, uma vez que não foi identificado o ponto de máxima resposta, não se ajustando ao modelo matemático utilizado.

A partir desses resultados estimou-se a ingestão suplementar de MnAA em 0,907; 0,902; 1,139; 0,908 e 0,911 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para a HTC, VCM, AST, GB e AUR, respectivamente. Constatando-se estabilização das variáveis resposta com o aumento da ingestão de MnAA (Figura 2).

Tabela 6 Hemograma pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	HEM ³	HTC ⁴	LEU ⁵	HGB ⁶	CHCM ⁷	PPT ⁸	VCM ⁹
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	M mm ⁻³	%	mm ³		g/dL		fL
25	0,588	2,520	30,20	19,71	10,33	33,33	3000	125.3
37	0,870	2,260	31,83	18,83	10,61	33,33	3000	106.1
49	1,152	2,250	31,00	15,45	10,33	33,33	2833	133.0
61	1,434	2,434	30,33	18,53	10,11	33,33	4000	114.0
73	1,716	2,627	31,33	16,71	10,44	33,33	3333	124.2
85	2,000	2,238	30,50	17,58	10,17	33,33	2200	143.0
Média		2,392	30,89	17,78	10,33	33,33	3085	124,2
P-Valor		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	> 0,05	> 0,05	<,0001
SEM ¹⁰		0,094	0,265	0,728	0,094	0,000	229,6	4,453
Rmax ¹¹		2,335	31,03	15,87	10,21	-	-	131,5
km ¹¹		-0,026	0,005	-0,117	-0,013	-	-	0,063

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Hemácias; ⁴Hematócrito; ⁵Leucócitos; ⁶Hemoglobina; ⁷Concentração de hemoglobina corpuscular média; ⁸Proteínas plasmáticas totais; ⁹Volume corpuscular médio; ¹⁰Erro padrão da média; ¹¹Parâmetros do modelo matemático.

Tabela 7 Bioquímica sérica de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	AST ³	FA ⁴	GGT ⁵	PT ⁶	ALB ⁷	GB ⁸	AUR ⁹
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹		U/L			g/dL		mg/dL
25	0,588	156,7	5801	18,06	2,760	1,638	1,122	4,533
37	0,870	174,7	6949	20,06	2,855	1,672	1,183	5,258
49	1,152	182,4	5265	20,05	2,827	1,640	1,187	4,690
61	1,434	170,9	5587	18,42	2,837	1,682	1,198	5,220
73	1,716	188,4	4883	19,68	2,900	1,692	1,218	5,050
85	2,000	178,0	5949	20,27	2,763	1,627	1,137	5,207
Média		175,2	5733	19,45	2,824	1,655	1,174	4,991
P-Valor		<,0001	<,0001	> 0,05	> 0,05	> 0,05	<,0001	<,0001
SEM ¹⁰		3,315	244,7	0,543	0,034	0,014	0,019	0,196
Rmax ¹¹		195,1	137,7	-	-	-	1,211	5,357
km ¹¹		0,127	-1,338	-	-	-	0,035	0,080

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Aspartato aminotransferase; ⁴Fosfatase alcalina; ⁵Gama glutamil transpeptidase; ⁶Proteínas totais; ⁷Albumina; ⁸Globulina; ⁹Ácido úrico; ¹⁰Erro padrão da média; ¹¹Parâmetros do modelo matemático.

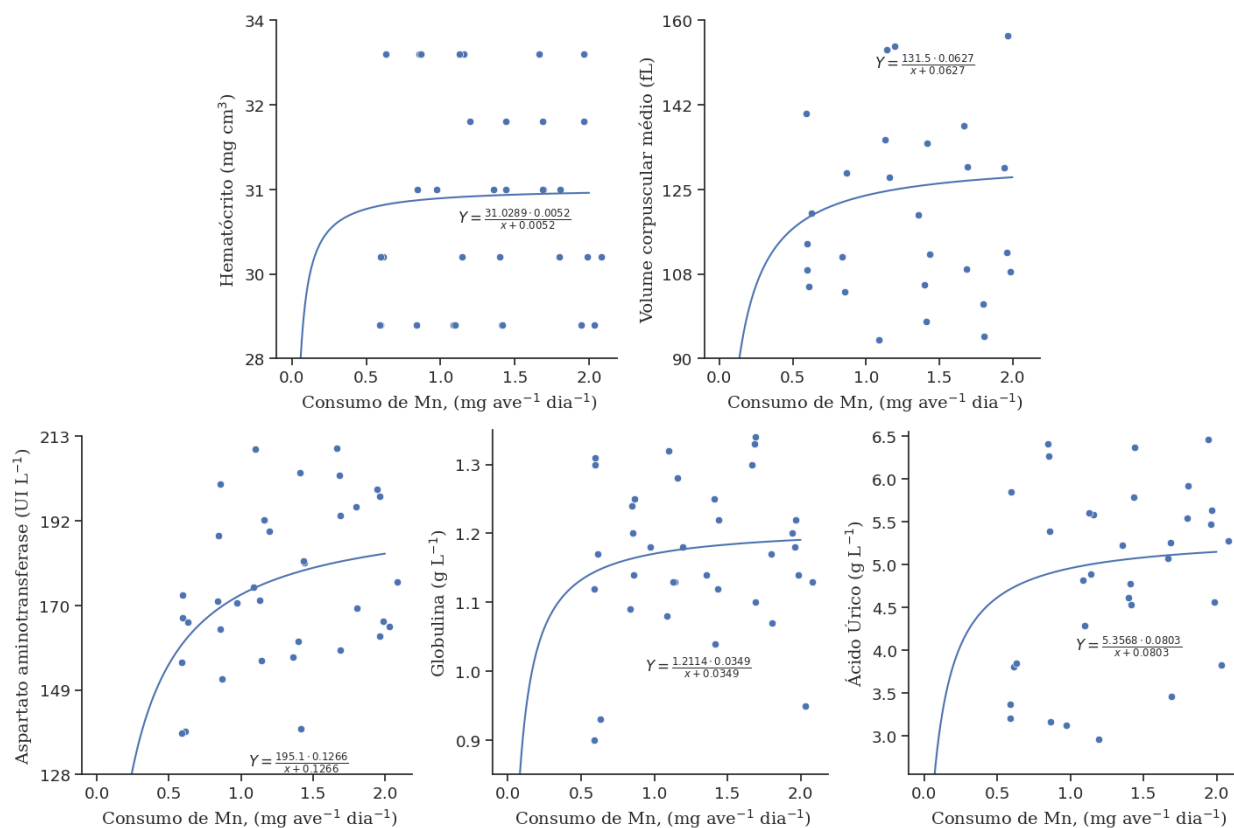


Figura 2 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis hematócrito, volume corpuscular médio, aspartato aminotransferase, globulina e ácido úrico baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para pintainhas poedeiras de um dia a cinco semanas.

3.4. AVALIAÇÃO ÓSSEA

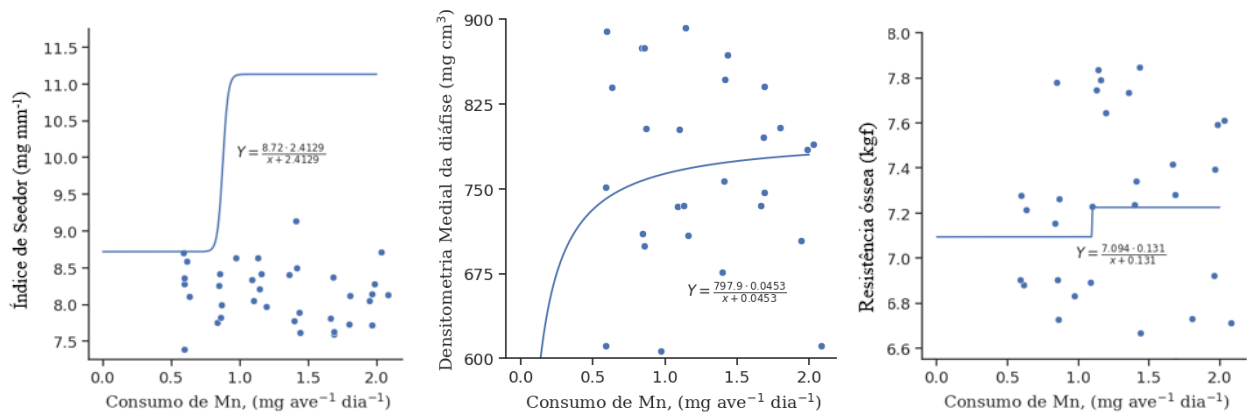
Os níveis suplementares de MnAA influenciaram ($P < 0,05$) índice de Seedor (IS), densitometria óssea medial (DOM), resistência óssea (RO), bem como, as concentrações minerais de manganês (CMMn), cálcio (CMCa) e fósforo (CMP) nas tíbias das aves (Tabela 8).

O consumo suplementar de MnAA em 0,917; 0,919; 1,092 e 1,747 mg ave⁻¹ dia⁻¹ é fundamentado através de parâmetros matemáticos (Rmax e b ou Rmin e amp) de IS, DOM, RO e CMMn. Perante os resultados obtidos para CMCa e CMP, não foi possível ajustá-los ao modelo matemático em razão da não identificação do ponto de máxima resposta. Constatando-se estabilização das variáveis resposta com o aumento da ingestão de MnAA, indicando, portanto, o nível ideal a ser utilizado (Figura 3).

Tabela 8 Avaliação óssea das tíbias de pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	IS ³	DOP ⁴	DOM ⁵	DOD ⁶	RO ⁷	CMMn ⁸	CMCa ⁹	CMP ¹⁰
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	mg mm ⁻¹		mg cm ³		kgf	mg kg ⁻¹	g kg ⁻¹	
25	0,588	8,240	528,5	712,3	816,8	7,070	5,119	309,7	173,0
37	0,870	8,147	527,4	761,4	841,3	7,110	5,779	291,3	160,2
49	1,152	8,272	570,0	802,0	837,1	7,524	5,544	297,1	160,9
61	1,434	8,038	600,8	840,1	930,9	7,482	5,447	246,4	132,0
73	1,716	7,876	545,1	814,8	824,8	6,755	6,777	269,4	154,3
85	2,000	8,177	559,1	668,1	905,3	7,104	7,799	278,4	154,4
Média		8,128	555,1	766,4	864,2	7,180	6,057	281,5	155,7
P-Valor		<,0001	> 0,05	<,0001	> 0,05	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
SEM ¹¹		0,353	10,87	19,35	16,22	0,084	0,202	5,149	3,173
Rmax ¹²		-	-	797,9	-	-	-	-	-
km ¹²		-	-	0,045	-	-	-	-	-
Rmin ¹²		7,391	-	-	-	7,094	5,432	-	-
amp ¹²		1,741	-	-	-	0,131	2,344	-	-
r ¹²		44,99	-	-	-	1157	15,38	-	-
s ¹²		-51,36	-	-	-	-1054	-9,203	-	-

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Índice de Seedor; ⁴Densitometria óssea proximal; ⁵Densitometria óssea medial; ⁶Densitometria óssea distal; ⁷Ressistência óssea; ⁸Composição mineral de manganês; ⁹Composição mineral de cálcio; ¹⁰Composição mineral de fósforo; ¹¹Erro Padrão da média; ¹²Parâmetros do modelo matemático.



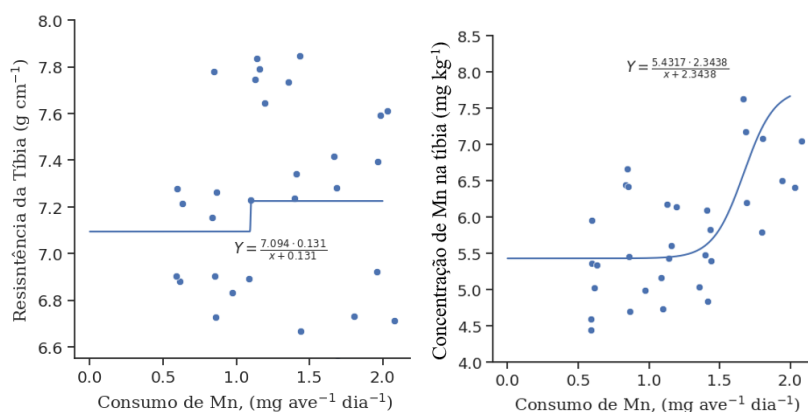


Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis índice de Seedor, densitometria óssea medial, resistência óssea e composição mineral de manganês baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para pintainhas poedeiras de um dia a cinco semanas.

3.5. RETENÇÃO CORPORAL DE MANGANÊS

A retenção mineral corporal das pintainhas diferiu ($P < 0,05$) com a suplementação de MnAA (Tabela 9). Diante dos resultados obtidos, não foi possível ajustá-los ao modelo matemático devido a não identificação do ponto de máxima resposta.

Tabela 9 Retenção corporal de Mn das pintainhas poedeiras (5 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	PCMf ³	MnCCF ⁴	RTCMn ⁵
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	g	g kg ⁻¹	g ave ⁻¹
25	0,588	361,3	5×10^{-4}	0,075
37	0,870	354,2	6×10^{-4}	0,103
49	1,152	354,5	6×10^{-4}	0,105
61	1,434	354,8	7×10^{-4}	0,134
73	1,716	344,3	8×10^{-4}	0,158
85	2,000	360,5	10×10^{-4}	0,211
Média		354,9	7×10^{-4}	0,129
P-Valor		> 0,05	> 0,05	<,0001
SEM ⁶		12,91	3×10^{-4}	0,010
Rmax ⁷		-	-	3,006
km ⁷		-	-	28,42

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Peso médio da carcaça final; ⁴Concentração corporal final de Mn;

⁵Retenção corporal de MnAA; ⁶Erro padrão da média; ⁷Parâmetros do modelo matemático

Peso médio da carcaça inicial: 34,49g; Concentração corporal inicial de Mn: 0,003mg/kg.

3.6. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES

As estimativas ($\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) oriundas da pesquisa foram resumidas na Tabela 10, além de sua recomendação de suplementação em mg kg^{-1} e ainda, comparação destes valores com aqueles sugeridos pelas literaturas frequentemente utilizadas nas dietas das aves, demonstrando as diferenças entre as estimativas.

Tabela 10 Estimativas determinadas para pintainhas poedeiras (1 a 5 semanas de idade) suplementadas com MnAA e a diferença (%) entre as recomendações de suplementação de NRC, Manual da linhagem Dekalb White e Rostagno *et al.*

Variáveis	Unidade	Estimativa	Suplementação recomendada	NRC (1994) ¹	Manual da Linhagem (2009) ¹	Rostagno <i>et al.</i> (2024) ¹	
				Inorg ¹⁰	Inorg ¹⁰	Inorg ¹⁰	Org ¹¹
		$\text{mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$	mg kg^{-1}			%	
HTC ²	%	0,907	38,71	54,99 >	29,16 >	102,50 >	8,86 <
VCM ³	fL	0,902	38,50	55,85 >	29,88 >	103,62 >	8,36 <
AST ⁴	U/L	1,139	48,61	23,42 >	2,85 >	61,25 >	27,43 <
GB ⁵	mg/dL	0,908	38,75	54,82 >	29,02 >	102,28 >	8,96 <
AUR ⁶		0,911	38,88	54,31 >	28,59 >	101,61 >	9,26 <
IS ⁷	mg mm^{-1}	0,917	39,14	53,30 >	27,75 >	100,29 >	9,86 <
DOM ⁸	mg cm^{-3}	0,919	39,22	52,97 >	27,48 >	99,86 >	10,05 <
RO ⁹	kgf	1,092	46,61	28,74 >	7,28 >	68,19 >	24,30 <

¹NRC: 60 mg kg^{-1} , Manual da linhagem: 50 mg kg^{-1} , Rostagno *et al.*: 78,39 mg kg^{-1} (inorgânico) e 35,28 mg kg^{-1} (orgânico); ²Hematócrito; ³Volume corpuscular médio; ⁴Aspartato aminotransferase; ⁵Globulina; ⁶Ácido úrico; ⁷índice de Seedor; ⁸Densitometria óssea medial; ⁹Resistência óssea; ¹⁰valores oriundos de fontes inorgânicas; ¹¹valores oriundos de fontes orgânicas. >: percentuais maiores que a suplementação recomendada; <: percentuais menores que a suplementação recomendada.

4. DISCUSSÃO

A estimativa da exigência nutricional de manganês complexado a aminoácidos (MnAA) para pintainhas de postura é um desafio para nutrição e produção de galinhas poedeiras, uma vez que são inexistentes os trabalhos sobre o assunto. No entanto, dada a importância do manganês (Mn) para o metabolismo desses animais, esta pesquisa demonstrou que os níveis suplementação do MnAA influenciaram no desempenho produtivo, na avaliação sanguínea, na avaliação óssea, bem como na retenção corporal de Mn das pintainhas poedeiras criadas em sistema de gaiolas em galpões abertos.

Apesar dos níveis de MnAA terem atuado nas principais variáveis produtivas das aves, foi possível estimar uma ingestão ideal de MnAA apenas por meio das avaliações sanguíneas e variáveis

ósseas. No entanto, por se tratar de variáveis distintas, é comum observarmos estimativas da exigência de MnAA com valores diferentes entre elas, pois ambas respondem de maneira divergente aos níveis de Mn. Neste sentido, observou-se nesta pesquisa que a determinação da estimativa da ingestão suplementar ideal de MnAA pelo modelo não linear, para a aspartato aminotransferase (AST) ($1,139 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) no soro foi 1,25 vezes maior que a estimada pela concentração de hematócrito (HTC) ($0,907 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) no sangue das aves. Todavia, ao levarmos em consideração a importância do Mn no desenvolvimento e formação óssea das aves, observamos que essa diferença permanece similar de acordo com a densitometria óssea medial (DOM) ($0,919 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$), em 1,24 vezes maior; entretanto considerando a composição mineral de manganês nas tíbias (CMMn) ($1,747 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$), a AST é 1,53 vezes menor. Tais diferenças podem ser atribuídas ao modelo matemático aplicado nesta pesquisa.

Os modelos matemáticos preveem com exatidão o efeito do fenômeno estudado, sendo considerados essenciais em pesquisas para estimar uma exigência ou o consumo ideal de um determinado nutriente. Os modelos Michaelis-Menten e Sigmoidal foram os que melhor se ajustaram aos dados. Por serem modelos matemáticos não lineares, são mais sensíveis em relação as respostas fisiológicas e metabólicas do animal, uma vez que o metabolismo é um fenômeno com inúmeras reações bioquímicas, comportando-se de forma antagônica e sinérgica. Portanto, a funcionalidade da equação desse modelo matemático não é linear em relação aos parâmetros desconhecidos (Ratkowski, 1983).

Fundamentado nessa teoria, o modelo não linear aplicado nesse estudo, estimou que a pintainha precisa ingerir entre $0,902$ e $1,747 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de MnAA ($38,50$ a $74,56 \text{ mg kg}^{-1}$ de dieta) com base no perfil sanguíneo e avaliação óssea. Contudo vale ressaltar, que esses animais consumiram dietas contendo outros microminerais (zinco, cobre, ferro e selênio) também de fontes complexadas a aminoácidos, logo, provavelmente isto tenha contribuído com o sinergismo do Mn com os demais microminerais, além do que, as dietas continham a enzima fitase, que contribui para melhoria na absorção dos nutrientes, especialmente os minerais acima citados, cálcio e fósforo (Fireman; Fireman, 1998; Singh, 2008).

Um aspecto importante a ser destacado é que embora haja diferença na estimativa da ingestão suplementar ideal do MnAA entre as variáveis AST, DOM e CMMn, é importante mencionar, que apesar da relevância em se avaliar e verificar a atividade da AST no soro desses animais, ela é uma variável instável, uma vez que pode ser encontrada em diversos tecidos e órgãos, especialmente nos músculos, fígado, cérebro, coração e rins. Portanto, sua atividade é influenciada por diversos fatores e, conseqüentemente, necessitando seus resultados serem associados com outras enzimas mais específicas (Lewandowski; Campbell; Harrison, 1986; Capitelli; Crosta, 2013). No que se refere a

CMMn, percebe-se que por ser um local de reserva de Mn, apresentou uma estimativa de suplementação elevada e assim, possivelmente desnecessária, considerando os resultados encontrados para melhor resposta com as demais variáveis estudadas. Deste modo, observamos que a densitometria óssea é considerada uma das medidas mais acuradas para avaliar a qualidade do osso, pois é um indicativo de melhoria na deposição de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita (Onyango *et al.*, 2003), além de uma garantia futura na produção de ovos, uma vez que a junção dos macro e microminerais é responsável pela resistência do osso, e, portanto, por depositar o cálcio na formação da casca dos ovos.

O Mn desempenha importantes funções para as aves, como na formação óssea (Underwood, 1977) e em diversos processos bioquímicos, pois ele é um constituinte essencial de enzimas envolvidas no metabolismo de proteínas, sistema de defesa antioxidante e formação óssea, tais como: superóxido dismutase, piruvato carboxilase, glicosil transferase (Suttle, 2010) hidrolases e ligases (Keen *et al.*, 2000).

O fígado é um dos órgãos vitais e um importante reservatório de Mn, além de ser um órgão alvo de substâncias tóxicas e encarregado pela desintoxicação do corpo (Eidi *et al.*, 2013). Enzimas séricas hepatobiliares, tais como fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT) e AST são encontradas no fígado e quando há dano à membrana ou ainda, necrose de hepatócitos, elas são liberadas na circulação, em níveis séricos elevados (Drotman; Lawhan, 1978). Em vista disto, é possível que a deficiência de Mn reduza a proteção contra danos hepáticos, bem como a redução dos mecanismos de eliminação hepática de radicais livres (Keen *et al.*, 1985; Vogel, 2002).

Diante disso, AST é a uma enzima intracelular presente no citosol e na mitocôndria, sua avaliação no soro das aves é considerada um marcador sensível para diversas alterações metabólicas no fígado, a fim de verificar se o mesmo encontra-se em perfeito funcionamento. Porém, sua avaliação deve ser combinada com a creatinina quinase, para diferenciarmos danos nas funções hepáticas (Harr, 2002) dos danos musculares (Schmidt *et al.*, 2007). Portanto, sua avaliação no soro das aves é importante para verificarmos se seus níveis encontram-se dentro do aceitável ou se houve alteração devido ao manejo nutricional empregado, uma vez que, em aves, o fígado é sobrecarregado, pois esses animais não apresentam um sistema linfático bem desenvolvido (Barbosa *et al.*, 2010).

Contudo, a faixa de normalidade da AST existente na literatura está relacionada a galináceos de uma maneira geral, mantendo-se entre 174,80 e 350 UI/L (Lumeij, 2008; Campbell, 2015). Em nosso estudo, a ingestão suplementar ideal para pintainhas poedeiras, considerando tal parâmetro, foi de 1,139 mg ave⁻¹ dia⁻¹ de MnAA (48,61 mg kg⁻¹ de dieta), mantendo o nível de atividade (175,13 UI/L de AST) dentro da faixa aceitável, indicando que nesse consumo de MnAA pelo animal, possivelmente a integridade hepática esteve mantida. Eidi *et al.* (2013), demonstraram a ação

hepatoprotetora do manganês através da utilização de cloreto de Mn, resultando em redução do aumento sérico de AST, ALT, FA e gama glutamil transferase (GGT), melhorando a função hepática e reduzindo a necrose nos fígados de ratos. Todavia, Jiang *et al.* (2020), verificaram que o excesso de Mn (1800 mg kg^{-1}) pode gerar acúmulo deste mineral no fígado, aumentando os níveis séricos de AST e provocando danos hepáticos em frangos de corte.

O desenvolvimento e crescimento ósseo ocorre ainda durante o desenvolvimento embrionário, durante a incubação, quando a cartilagem hialina do esqueleto é estabelecida, então a ossificação endocondral inicia-se transformando cartilagem em ossos primários por meio de uma cascata de eventos, e se intensifica com a eclosão da ave (Dibner *et al.*, 2007). Portanto, os ossos das pintainhas poedeiras estão em formação e seu crescimento longitudinal continua pelo processo de crescimento endocondral, quando o osso se desenvolve através da formação da placa de crescimento (Cui *et al.*, 2016), sendo concluído ainda no final da fase de recria do animal.

O Mn é primordial na formação óssea, pois tem papel fundamental na síntese da matriz cartilaginosa (Leach *et al.*, 1967). Rico *et al.* (2000), constataram que o Mn é eficiente para impedir a perda de massa óssea em ratos. Desta forma, Zhaojun *et al.* (2013), demonstraram que frangos de corte que consumiram dietas deficientes ($8,7 \text{ mg kg}^{-1}$) em Mn apresentaram menores comprimento de tíbia, em relação ao grupo controle (60 e 40 mg kg^{-1}). De forma semelhante, Liu *et al.* (2015), ofertaram dietas deficientes (40 e $8,7 \text{ mg kg}^{-1}$) em Mn para frangos de corte, observaram que o desenvolvimento tibial foi prejudicado, de tal forma a inibir a vitalidade dos osteoblastos.

A densitometria óssea e a concentração de Mn nas tíbias nesta fase de criação podem ser bons indicadores, pois permitem a avaliação da evolução da deposição mineral nos ossos, visto que a densidade é descrita como a razão entre massa de material e volume do osso (Rath *et al.*, 2000), compreendendo elementos inorgânicos (minerais) e orgânicos (colágeno e proteínas) e sendo influenciada principalmente pela nutrição (Boskey *et al.*, 1999). Nossa pesquisa demonstrou que a ingestão de $0,919 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de MnAA ($39,22 \text{ mg kg}^{-1}$) pelas pintainhas proporcionou melhor massa óssea, de acordo com sua densidade, bem como, uma boa mineralização na diáfise da tíbia. A mineralização ou formação óssea, inicia-se na zona hipertrófica inferior, onde os condroclastos reabsorvem a matriz cartilaginosa e os condrócitos hipertrofiados sofrem apoptose, sendo reabsorvidos pelos osteoblastos, os quais secretam fosfatase alcalina, auxiliando na formação da matriz óssea de fibrilas de colágeno tipo I e cristais de hidroxiapatita (Florencio-Silva *et al.*, 2015). A densitometria depende da concentração de cálcio no plasma, pois, a homeostase do mesmo é fundamental para que ocorra a deposição de cálcio e fósforo na forma de hidroxiapatita, durante o processo de mineralização óssea.

Portanto, em nosso estudo, apesar das pintainhas ainda apresentarem o tecido ósseo em

desenvolvimento e com fibras de colágeno sem organização definida, foi possível aferir que a ingestão de MnAA possibilitou melhoria no metabolismo de retenção mineral, proporcionando significativa deposição de Mn, cálcio (Ca) e fósforo (P) no osso.

O Mn é requerido para o desenvolvimento e atividades normais dos tecidos (Wang *et al.*, 2015), sendo indispensável no desenvolvimento ósseo e na prevenção de deformidades, especialmente das tíbias (Wilgus Jr; Norris; Heuser, 1937; Wang *et al.*, 2021). O maior acúmulo de Mn ocorre nos ossos (Conly *et al.*, 2012), portanto, a deficiência do metal resulta em má-formação da placa epifisária, encurtamento ou torção da tíbia, menor comprimento de pernas, osteoporose, entre outros problemas ósseos (Wilgus Jr; Norris; Heuser, 1937; Liu *et al.*, 2015; Noetzold *et al.*, 2020).

Diante disso, para Rostagno *et al.* (2024), a recomendação de uma suplementação de Mn oriundo de fontes orgânicas para pintainhas poedeiras é de 35,28 mg kg⁻¹, enquanto para NRC (1994) é de 60 mg kg⁻¹, proveniente de fontes inorgânicas, não havendo recomendação para as complexadas. A recomendação desses autores é contestável, uma vez que foi determinada com base em um fator médio observado nos estudos avaliados, dos quais em sua maioria, são advindos de resultados com frangos de corte, além de não estar baseada na máxima resposta de ossificação, o qual é um dos parâmetros mais importantes para uma pintainha que será uma futura produtora de ovos. Ademais, é importante considerar que as recomendações do NRC (1994) estão obsoletas, uma vez que foram publicadas há três décadas. Naquela época, o mercado contava com outras linhagens de aves, cujo crescimento e desempenho produtivo eram distintos dos atuais, Além de não apresentarem a opção de suplementação com fontes orgânicas.

Atualmente os estudos com pintainhas poedeiras são escassos (Medeiros-Ventura *et al.*, 2020), principalmente considerando a densitometria óssea para estimar a ingestão ideal de Mn. Porém, a densidade óssea é uma variável sensível à suplementação mineral, principalmente nos indicadores de consumo de Ca e P (Onyango *et al.*, 2003), o que satisfaz as pressuposições da ingestão ideal de MnAA deste estudo. Logo, os resultados obtidos no presente estudo são prógonos quanto a estimativa do consumo ideal de MnAA para pintainhas leves de postura nas primeiras 5 semanas de vida, em dietas contendo fitase (600 FTU), em que os demais minerais traço (exceto Iodo) foram suplementados como metal-AA.

A utilização de minerais complexados a aminoácidos na alimentação de pintainhas poedeiras oferece benefícios financeiros consideráveis, uma vez que, possuem uma biodisponibilidade superior, resultando em uma melhor eficiência alimentar e na redução da quantidade necessária desses minerais na ração. Como consequência, há uma diminuição nos custos com suplementos minerais e uma melhora na qualidade óssea e, consequentemente, dos ovos, o que pode levar a um reajuste significativamente positivo nos preços. Além disso, a melhoria da saúde e desempenho das aves

reduzem os custos com tratamentos veterinários e podem aumentar a produção total, maximizando o retorno sobre o investimento na dieta. Portanto, a suplementação de minerais complexados a aminoácidos, além de promover uma alimentação mais eficiente, também contribui para uma gestão financeira mais robusta e lucrativa na avicultura.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, a estimativa da ingestão suplementar ideal de MnAA nas dietas de galinhas poedeiras leves na fase de cria, com inclusão dos demais minerais complexados a aminoácidos (Zn, Cu, Fe e Se) e fitase (600 FTU/kg) é de 0,919 mg ave⁻¹ dia⁻¹ MnAA (39,22 mg kg⁻¹), assegurando desempenho produtivo, homeostase hematológica e bioquímica, qualidade óssea e deposição mineral.

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; ao CNPq e 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

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17. ed. Arlington: AOAC, 2000.
- BAO, Y. M.; CHOCT, M.; IJI, P. A.; BRUERTON, K. Effect of organically complexed copper, iron, manganese, and zinc on broiler performance, mineral excretion, and accumulation in tissues. **The Journal of applied poultry research**, v. 16, n. 3, p. 448–455, 2007.
- BARBOSA, A. A.; MORAES, G. H. K.; TORRES, R. A.; REIS, D. T. C.; RODRIGUES, C. S.; MÜLLER, E. S. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 772–778, 2010.
- BOSKEY, A. L.; WRIGHT, T. M.; BLANK, R. D. Collagen and bone strength. **Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 14, n. 3, p. 330–335, 1999.
- 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, 2015. p. 1233-1257.

- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice**, v. 16, n. 1, p. 71–120, 2013.
- CRENSHAW, T. D.; PEO JR, E. R.; LEWIS, A. J.; MOSER, B. D. Bone strength as a trait for assessing mineralization in swine: a critical review of techniques involved. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 3, p. 827-835, 1981.
- CUFADAR, Y.; GÖÇMEN, R.; KANBUR, G.; YILDIRIM, B. Effects of dietary different levels of nano, organic and inorganic zinc sources on performance, eggshell quality, bone mechanical parameters and mineral contents of the tibia, liver, serum and excreta in laying hens. **Biological trace element research**, v. 193, n. 1, p. 241–251, 2020.
- CUI, L.; HOUSTON, D. A.; FARQUHARSON, C.; MACRAE, V. E. Characterisation of matrix vesicles in skeletal and soft tissue mineralisation. **Bone**, v. 87, n. 1, p. 147-158, 2016.
- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D.; KITCHELL, M. L.; QUIROZ, M. A. Metabolic challenges and early bone development. **The Journal of applied poultry research**, v. 16, n. 1, p. 126–137, 2007.
- DROTMAN, R.; LAWHAN, G. Serum Enzymes as Indicators of Chemically Induced Liver Damage. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 1, n. 2, p. 163-171, 1978.
- EIDI, A., MORTAZAVI, P., BEHZADI, K.; ROHANI, A. H.; SAFI, S. 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.
- FIREMAN, A. K. B. A. T.; FIREMAN, F. A. T. Fitase na alimentação de poedeiras. **Ciencia rural**, v. 28, n. 3, p. 529–534, 1998.
- FLORENCIO-SILVA, R.; SASSO, G. R. da S.; SASSO-CERRI, E.; SIMÕES, M. J.; CERRI, P. S. Biology of bone tissue: Structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed research international**, v. 2015, p. 421746, 2015.
- GAO, S.; YIN, T.; XU, B.; MA, Y.; HU, M. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life sciences**, 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 science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.
- GREGER, J. L. Nutrition versus toxicology of manganese in humans: Evaluation of potential biomarkers. **Neurotoxicology**, v. 20, n. 2-3, p. 205–212, 1999.
- HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary clinical pathology**, v. 31, n. 3, p. 140–151, 2002.
- JIANG, J.; WANG, F.; WANG, L.; XIAO, J.; GUO, D. Manganese Chloride Exposure Causes Disorder of Energy Metabolism and Induces Oxidative Stress and Autophagy in Chicken Liver. **Biological Trace Element Research**, v. 197, n. 1, p. 254-261, 2020.

KEEN, C. L.; TAMURA, T.; LONNERDAL, B.; HURLEY, L. S.; HALSTED, C. H. Changes in superoxide dismutase activity in alcoholic monkeys. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 41, n. 5, p. 929–932, 1985.

LEACH JR, R. M. Role of manganese in the synthesis of mucopolysaccharides. **Federation proceedings**, v. 26, n. 1, p. 118–120, 1967.

LEWANDOWSKI, A. H.; CAMPBELL, T. W.; HARRISON, G. J. Clinical Chemistries. In: HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. Clinical avian medicine. Philadelphia: WB Saunders; 1986. p. 192-200.

LIU R.; JIN C.; WANG Z.; WANG Z.; WANG J.; WANG L. 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.

LUMEIJ, J. T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 839-1325.

M'SADEQ, S. A.; WU, S.-B.; CHOCT, M.; SWICK, R. A. 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.

MADSEN-BOUSERSE, S. A.; ZHONG, Q.; MOHAMMAD, G.; HO, Y.-S.; KOWLURU, R. A. Oxidative damage of mitochondrial DNA in diabetes and its protection by manganese superoxide dismutase. **Free radical research**, v. 44, n. 3, p. 313–321, 2010.

MEDEIROS-VENTURA, W. R. L.; RABELLO, C. B. V.; BARROS, M. R.; SILVA JUNIOR, R. V.; OLIVEIRA, H. B.; FARIA, A. G.; SILVA, A. F.; SOARES, P. C.; PEREIRA, C. G.; SANTOS, M. J. B.; FIREMAN, A. K. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold stress conditions. **Poultry science**, v. 99, n. 11, p. 5718–5727, 2020.

MIN, Y. N.; LIU, F. X.; QI, X.; JI, S.; CUI, L.; WANG, Z. P.; GAO, Y. P. Effects of organic zinc on tibia quality, mineral deposit, and metallothionein expression level of aged hens. **Poultry science**, v. 98, n. 1, p. 366–372, 2019.

MIN, Y. N.; LIU, F. X.; QI, X.; JI, S.; MA, S. X.; LIU, X.; WANG, Z. P.; GAO, Y. P. Effects of methionine hydroxyl 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.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requerimento of poultry**. 9. ed., Washington, 1994.

NOETZOLD, T. L.; VIEIRA, S. L.; FAVERO, A.; HORN, R. M.; SILVA, C. M.; MARTINS, G. B. Manganese requirements of broiler breeder hens. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 5814-5826, 2020.

OFFIONG, S. A.; ABED, S. M. Fertility, hatchability and malformations in guinea fowl embryos as affected by dietary manganese. **British Poultry Science**, v. 21, n. 5, p. 371–375, 1980.

OLIVEIRA, J. F.; JÚNIOR, J. L. R.; LEITE, F. L. G.; OLIVEIRA, D. C.; COSTA, L. A. V. S.; SILVA, I. C. C.; TEIXEIRA, M. W.; COSTA, F. S. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e

osso neural em 1518 tartarugas verdes híginas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1440–1445, 2012.

ONYANGO, E. M.; HESTER, P. Y.; STROSHINE, R.; ADEOLA, O. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry science**, v. 82, n. 11, p. 1787–1791, 2003.

PARK, H. J.; LEE, O. J.; LEE, M. C.; MOON, B. M.; JU, H. W.; LEE, J. M.; KIM, J. H.; KIM, D. W.; PARK, C. H. 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: 12 ago. 2021.

RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; BALOG, J. M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry science**, v. 79, n. 7, p. 1024–1032, 2000.

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

RICHARDS, J. D.; ZHAO, J.; HARRELL, R. J.; ATWELL, C. A.; DIBNER, J. J. Trace mineral nutrition in poultry and swine. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 23, n. 11, p. 1527–1534, 2010.

RICO, H.; GÓMEZ-RASO, N.; REVILLA, M.; HERNÁNDEZ, E. R.; SECO, C.; PÁEZ, E.; CRESPO, E. Effects on bone loss of manganese alone or with copper supplement in ovariectomized rats. A morphometric and densitometric study. **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, v. 90, n. 1, p. 97–101, 2000.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; CALDERANO, A. A.; HANNAS, M. I.; SAKAMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; ROCHA, G. C.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; GENOVA, J. L.; TAVERNARI, F. C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2024.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKAMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017.

SANTOS, M. J. B.; SILVA, L. M.; LUDKE, M. C. M. M.; RABELLO, C. B. V.; BARROS, M. R.; COSTA, F. S.; SANTOS, C. S.; WANDERLEY, J. S. S. Complexed amino acid minerals vs. bis-glycinate bound minerals: Impact on the performance of old laying hens. **Animal nutrition**, v. 16, n. 1, p. 395–408, 2024.

SCHMIDT, E. M. S.; DITTRICH, R.; SANTIN, E. Patologia clínica em aves de produção: Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola-Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9–20, 2007.

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.

SINGH, P. K. Significance of phytic acid and supplemental phytase in chicken nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 64, n. 4, p. 553–580, 2008.

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

SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed. Midlothian: Cabi, 2010.

UNDERWOOD, E. J. **Trace elements in human and animal nutrition**. 4. ed. Londres, England: Academic Press, 1977.

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.

VOGEL, H. G. Carbon tetrachloride induced liver fibrosis in rats. In: VOGEL, H. G.; VOGEL, W. H. **Drug discovery and evaluation, pharmacological assays**, 2. ed. Berlin: Springer, 2002.

WANG J.; WANG, Z.Y.; WANG, Z.J.; LIU, R.; LIU, S. Q.; WANG, L. Effects of manganese deficiency on chondrocyte development in tibia growth plate of Arbor Acres chicks. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 33, n. 1, p. 23–29, 2015.

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, n. 1, p. 164–170, 2021.

WILGUS JR, H. S.; NORRIS L. C.; HEUSER G. F. The role of manganese and certain other trace elements in the prevention of perosis. **The Journal of Nutrition**, v. 14, n. 2, p. 155–167, 1937.

YAN, F.; KEEN, C. A.; ZHANG K. Y; WALDROUP, P. W. Comparison of Methods to Evaluate Bone Mineralization. **Journal of Applied Poultry**, v. 14, n. 3, p. 492–498, 2005.

YENICE, E.; MIZRAK, C.; GÜLTEKIN, M.; ATIK, Z.; TUNCA, M. Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens. **Biological trace element research**, v. 167, n. 2, p. 300–307, 2015.

YILDIZ, A. Ö.; CUFADAR, Y.; OLGUN, O. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralisation in laying hens. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 162, n. 10, p. 482–488, 2011.

ZAMANI, A.; RAHMANI, H. R.; POURREZA, J. Effect of different levels of manganese and zinc on performance traits and breaking eggs in laying hens. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 8, n. 7, p. 1035–1040, 2005.

ZHAOJUN, W.; LIN, W.; ZHENYONG, W.; JIAN, W.; RAN, L. Effects of manganese deficiency on serum hormones and biochemical markers of bone metabolism in chicks. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 3, n. 3, p. 285–292, 2013.

CAPÍTULO II

ESTIMATIVA DA SUPLEMENTAÇÃO IDEAL DE MANGANÊS COMPLEXADO A AMINOÁCIDOS PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE RECRIA

RESUMO

A suplementação adequada de manganês visa crescimento, produção, reprodução, digestão e metabolismo apropriados. O objetivo desta pesquisa foi estimar o consumo ideal de manganês suplementar de uma fonte complexada a aminoácido (MnAA) em dietas para frangas de postura, com base no desempenho produtivo, perfil sanguíneo, peso dos órgãos e avaliação óssea. Utilizou-se 360 frangas Dekalb White, com seis semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 6 repetições de 10 aves cada. Os tratamentos experimentais compreenderam dietas isonutritivas e isoenergéticas, variando os níveis de inclusão de MnAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹. O experimento ocorreu de seis a treze semanas de idade. A ingestão de Mn foi calculada pelos modelos $MnAA = R_{max} * x / (k_m + x)$ e $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - \text{amp} / y - R_{min}) / s)$, onde: R_{max} é a resposta máxima, K_m é um parâmetro da função biológica e x é a ingestão de Mn; R_{min} é a resposta mínima e amp é a amplitude. A estimativa de Mn para cada variável foi calculada pela inversão dos modelos. Os dados foram ajustados pelo procedimento Nlin ($P < 0,05$). Empregando o modelo inverso para estimar o consumo de MnAA em mg ave⁻¹ dia⁻¹, temos: 1,263 para ganho de peso médio; 0,938 para conversão alimentar; 0,937 para timo; 0,933 para hemácias; 0,934 para volume corpuscular médio; 1,134 para fosfatase alcalina; 0,918 para índice de Sedor; 1,888 para densitometria óssea proximal e 2,088 para densitometria óssea distal. A recomendação para suplementação de MnAA para frangas poedeiras leves é de 2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (41,97 mg kg⁻¹), considerando melhor desenvolvimento corporal e ósseo, assim como, estado de saúde satisfatório.

Palavras-chave: Densitometria óssea, consumo ideal, mineral complexado, mineral orgânico, frangas poedeiras.

ABSTRACT

Adequate manganese supplementation promotes proper growth, production, reproduction, digestion, and metabolism. This research aimed to estimate the ideal consumption of supplemental manganese from a source complexed with amino acids (MnAA) in diets for laying chickens, based on productive performance, blood profile, organ weight, and bone evaluation. 360 Dekalb White pullets, six weeks old, were used, and distributed in a completely randomized design with 6 treatments and 6 replications of 10 birds each. The experimental treatments comprised isonutritive and isoenergetic diets, varying the levels of MnAA inclusion at: 5, 15, 25, 35, 55, and 75 mg kg⁻¹. The experiment took place from six to thirteen weeks of age. Mn intake was calculated using the models $MnAA = R_{max} * x / (k_m + x)$ and $MnAA = -r + \ln((-y - R_{min} - \text{amp} / y - R_{min}) / s)$, where: R_{max} is the maximum response, k_m is a parameter of biological function and x is Mn intake; R_{min} is the minimum response and amp is the amplitude. The Mn estimate for each variable was calculated by inverting the models. Data were adjusted using the Nlin procedure ($P < 0.05$). The parameters R_{max} and k_m , as well as R_{min} and amp were: 11.807 and 0.745; 4.096 and 0.138; 5.281 and 0.036; 2.520 and 0.024; 122.8 and 0.099; 1052 and 0.126; 16.82 and 0.025; 993.0 and 0.210; 1258 and 0.232; for average weight gain (AWG), feed conversion (FC), thymus, red blood cells (RBC), mean corpuscular volume (MCV), alkaline phosphatase (FA), Seedor index (SI), proximal bone densitometry (PBD) and distal densitometry (DBD), respectively. Using the inverse model to estimate MnAA consumption, we have 1.263; 0.938; 0.937; 0.933; 0.934; 1.134; 0.918; 1.888 and 2.088 mg bird⁻¹ day⁻¹ for AWG, FC, thymus, RBC, MCV, FA, SI, DBD, and PBD, respectively. The recommendation for MnAA supplementation for light-laying pullets is 2.088 mg bird⁻¹ day⁻¹, considering better body and bone development and satisfactory health status.

Keywords: Bone densitometry, ideal intake, complexed mineral, organic mineral, laying chickens.

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade, as fontes de minerais orgânicos são bastante empregadas nas rações dos animais, em virtude dos diversos estudos realizados, comprovando suas qualidades e superioridade em relação as fontes inorgânicas. Os metais aminoácidos são absorvidos de forma integral pela mucosa do intestino, utilizando as vias de transporte dos aminoácidos, portanto, impedem sua dissociação e interação com os demais ingredientes da dieta (Ashmead, 1993; Gao *et al.*, 2014; Sauer *et al.*, 2017; Goff, 2018).

Dentre os microminerais que são suplementados em dietas aves comerciais, temos o manganês (Mn), que é fundamental, pois possui papel primordial no crescimento, reprodução e produção, bem como nas funções fisiológicas e cerebrais, digestão, metabolismo, além de ser essencial na prevenção de danos oxidativos, pois é cofator da superóxido dismutase (Greger, 1999; Madsen-Bouterse *et al.*, 2010; Yildiz *et al.*, 2011). Sua deficiência pode causar principalmente problemas ósseos (Scheideler, 2008) e, conseqüentemente, adversidades no crescimento e na produção de ovos, dado que é um mineral que constitui as proteínas essenciais na formação e crescimento da cartilagem e placa óssea (Leach, 1967).

As recomendações da suplementação de microminerais em dietas para aves são baseados, em sua maioria, em experimentos realizados com frangos de corte, e assim, essas mesmas recomendações são aplicadas para as aves de postura em crescimento. As frangas de postura em crescimento têm suas exigências nutricionais bem diferentes das exigências dos frangos de corte atuais, em que se negligencia, por vezes, a formação de tecidos, como o ósseo, em função de uma alta deposição de proteínas nos tecidos.

As aves necessitam de alguns minerais para seu adequado desenvolvimento e crescimento do tecido ósseo, visto que necessitam de uma boa formação para de garantir uma boa produção de ovos, com cascas de qualidade, dentre os minerais necessários, tem-se o Mn (Wilgus Jr; Norris; Heuser, 1937).

Considerando as tabelas do NRC (1994), a recomendação mineral de Mn em sua forma inorgânica para frangas em crescimento é de 30 mg kg⁻¹, não indicando valores para microminerais na forma orgânica. As tabelas mais modernas são as Brasileiras, publicadas recentemente (Rostagno *et al.*, 2024), as quais recomendam 78,39 mg kg⁻¹ na forma inorgânica e 35,28 mg kg⁻¹ na forma orgânica (proteinato), sendo estas, as mesmas recomendações dos frangos de corte.

Pelas razões acima descritas, até o momento não se tem a suplementação ideal de MnAA, de forma a promover máxima resposta para o desempenho, a saúde da ave, bem como, as propriedades morfológicas, físicas e químicas dos ossos para frangas poedeiras consumindo dietas contendo Zn,

Cu, Fe e Se complexados a aminoácidos.

Ademais, no mercado existem várias outras fontes que não sejam as inorgânicas (sulfatos, óxidos) do Mn, as quais possuem muitas vezes biodisponibilidades distintas entre si, como os proteinatos, glicinatos e metais aminoácidos, estes últimos, apresentam uma porposta diferenciada, pois possuem uma organização em que o Mn é complexado na estrutura de determinado aminoácido, tornando a molécula estável e com absorção no sítio absorptivo dos aminoácidos, evitando assim, a perda do micromineral durante o seu trajeto no trato gastrointestinal, bem como, na sua passagem nos enterócitos (AAFCO, 2001; Tomasi *et al*, 2013; Goff, 2018).

Tendo em conta a importância do Mn perante o metabolismo das frangas poedeiras, hipotetizou-se que a determinação da ingestão ideal de manganês complexado a aminoácidos garantirá adequados desenvolvimento e formação óssea de frangas poedeiras. Portanto, o objetivo da pesquisa foi estimar o consumo ideal de MnAA para frangas leves de postura, conforme os dados de performance, avaliações sanguíneas e ósseas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as técnicas utilizadas nesta pesquisa foram aprovadas pelo Comitê de Ética no uso dos Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) sob o protocolo (n°6000110221).

2.1. LOCAL, AVES E INSTALAÇÕES

O experimento ocorreu no Laboratório de Pesquisas com Aves (LAPAVE) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Latitude: 8°01'11,3"S e Longitude: 34°57'14,6"W).

Foram utilizadas 360 frangas de postura da linhagem Dekalb White com seis semanas de idade (6^a à 13^a semana), distribuídas em 36 gaiolas experimentais, previamente pintadas com tinta eletrostática, de dimensões 50Lx80Ax50C cm, respeitando a densidade de 222cm²/ave, equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro automático com copinho acoplado. Durante o experimento o fornecimento de ração foi ajustado semanalmente conforme a necessidade nutricional, enquanto o fornecimento de água foi *ad libitum*.

Adotou-se o programa de luz recomendado pelo manual da linhagem, sendo proporcionadas 12 horas de luz natural. A temperatura e umidade relativa do ar foram registradas diariamente através de Datalogger (HOBO U12-012), instalado nas extremidades do galpão e termo-higrômetro digital (Incoterm, modelo 7663.02.0.00) fixado no centro do galpão (Figura 1).

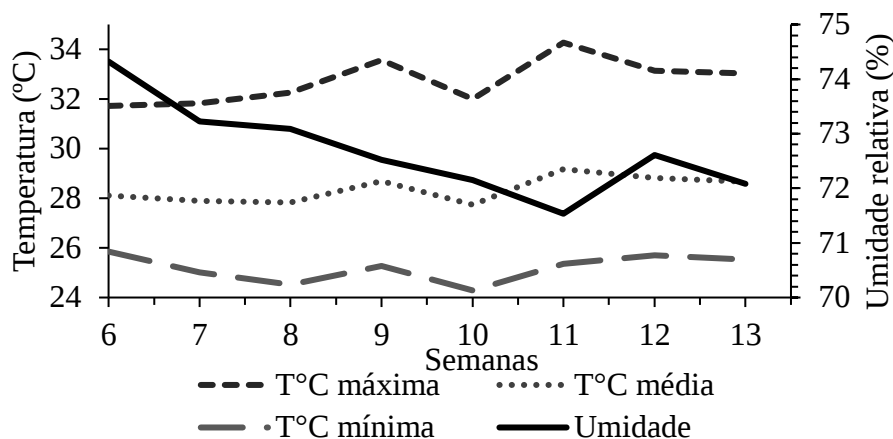


Figura 1 Variações médias de temperatura (°C) e umidade relativa (%) do ar durante o período experimental.

2.2. DELINEAMENTO E TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

As frangas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em 6 tratamentos com 6 repetições de 10 aves por unidade experimental, de acordo com peso médio ($431,67 \pm 4,29$ g). O período experimental sucedeu-se durante sete semanas, da 6^a até a 13^a.

Os tratamentos consistiram em dietas experimentais isonutritivas e isoenergéticas, alterando apenas os níveis de inclusão de MnAA em: 5, 15, 25, 35, 55 e 75 mg kg⁻¹. O micromineral utilizado é um complexo de 1:1 com aminoácidos (um íon metálico ligado a um íon aminoácido), dos quais estão em sua composição: ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, arginina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, prolina, serina, tirosina, treonina e valina (Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN, Estados Unidos).

O premix foi formulado de acordo com as exigências da linhagem (Planalto, 2009), com exceção do manganês, no qual foi elaborado de acordo com os tratamentos (Tabela 1). O premix mineral utilizado compreende zinco, manganês, cobre e ferro complexados a aminoácidos, selênio na forma de zinco-L-selenometionina e o iodo em iodato de cálcio.

Tabela 1 Níveis de suplementação dos metais nas dietas experimentais da fase de recria de acordo com os níveis de suplementação de manganês complexado a aminoácidos (MnAA)

Tratamentos	MnAA					
	5	15	25	35	55	75
	mg kg ⁻¹					
Manganês ¹	5,000	15,00	25,00	35,00	55,00	75,00
Zinco ²	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00
Cobre ³	5,600	5,600	5,600	5,600	5,600	5,600
Ferro ⁴	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00
Selênio ⁵	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175	0,175
Iodo ⁶	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700	0,700

¹Availa Mn: 80 g/kg de manganês, ²Availa 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, ⁶Iodato de cálcio: 628 g/kg.

As rações experimentais foram formuladas de acordo com o Rostagno *et al.* (2017) a fim de atender às exigências nutricionais de cada fase de criação das aves (Tabela 2).

Tabela 2 Composição calculada e analisada das dietas experimentais

Ingredientes	%	Composição química e energética	
Milho	68,18	EMA ⁴ , kcal/kg	2850
Farelo de soja	21,43	Proteína Bruta, %	15,14
Calcário calcítico	1,615	Proteína Bruta ⁵ , %	22,08
Fosfato Bicálcico	0,775	Matéria Seca ⁵ , %	89,12
Bicarbonato de sódio	0,150	Matéria Mineral ⁵ , %	12,58
Sal Comum	0,160	Fósforo disponível%	0,420
DL-metionina 99	0,085	Cálcio %	1,100
Premix mineral ¹	0,200	Sódio	0,160
Premix Vitamínico ²	0,150	Potássio, %	0,610
Fitase ³	0,006	Cloro, %	0,072
Inerte	7,240	Lisina digestível, %	0,674
Total	100	Metionina digestível, %	0,310
		Metionina + Cistina digestível, %	0,573
		Balanco eletrolítico, mEq/kg	178,5

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 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, 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, Ácido. Fólico (mín): 1.50 g/kg, Ácido. Pantotênico (mín): 11.00 g/kg, Biotina (mín): 0.10 g/kg; ³Fitase (mín) 10.000 FTU/g; ⁴Energia metabolizável; ⁵Valores analisados (AOAC 2001).

Logo após a fabricação das rações experimentais, uma amostra de 500g de cada ração foi coletada e armazenada em freezer a -20 °C, para posterior análise de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) por micro - Kjeldahl (N × 6,25) (nº 954,01) e matéria mineral (MM) em mufla (550°C; 18h) (nº 942,05) (AOAC, 2000). Bem como, também foram acondicionadas em freezer a -20 °C, alíquotas da água ingerida pelas aves, durante o período experimental. A composição mineral das dietas e da água foram descritas na Tabela 3.

Tabela 3 Concentração de Zn, Mn, Cu, Fe, Ca e P nas dietas e água utilizadas no experimento

Dietas*	Zn	Mn	Cu	Fe	Ca	P
	mg kg ⁻¹			g kg ⁻¹		
MnAA – 5	90,93	24,10	8,784	245,9	8,366	5,335
MnAA – 15	93,58	35,81	8,709	271,1	8,388	5,260
MnAA – 25	93,55	48,12	8,794	267,3	8,469	5,246
MnAA – 35	92,56	68,27	9,537	277,0	8,671	5,674
MnAA – 55	93,12	92,90	9,030	277,5	8,548	5,577
MnAA - 75	91,81	126,9	9,009	276,1	8,800	5,253
Água*	0,036	0,009	0,012	0,000	1,612	0,000

*Valores obtidos por meio de ICP-OES

2.3. DESEMPENHO PRODUTIVO

Semanalmente aferiu-se o peso vivo (g) e o consumo de ração (g), a partir dos quais, calculou-se: ganho de peso médio (g), conversão alimentar (g/g) e uniformidade (%).

2.4. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

Ao final da 12ª semana de idade, foram colhidas amostras de sangue de duas aves por parcela (5 ml/ave), através da veia jugular, em que uma se destinou para análise do perfil hematológico e outra ao perfil bioquímico. A contagem das hemácias (HEM), leucócitos (LEU) e plaquetas foi realizada em câmara de Neubauer, após diluição com reagente Natt-Herrickem que suas leituras ocorrem por meio de microscopia eletrônica. O hematócrito (HTC) foi obtido através do método de microcapilar e a mensuração da proteína plasmática total por refratometria. As amostras do perfil bioquímico foram identificadas e centrifugadas a 3500 - 4000 rpm durante 15 minutos; a fim de coletar-se o soro, do qual colheu-se 2ml com o auxílio de uma pipeta, sendo armazenados em freezer até o momento das análises. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita pelo kit comercial (BIOCLIN®) e submetidas à leitura em espectrofotômetro (Bioclin, Biolisa Reader). Foram analisados: ácido úrico (AUR), albumina (ALB), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), globulina (GB) e proteínas totais (PPT).

2.5. AMOSTRAGEM PARA AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS E OSSOS

Com o propósito de avaliar os órgãos e as tíbias, na 13ª semana foram eutanasiadas duas aves de cada unidade experimental (UE), as quais foram previamente selecionadas de acordo com o peso médio da UE.

2.5.1. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS

Para aferir os órgãos, coletou-se os tecidos: timo, bursa de Fabrício, baço, fígado, pâncreas e intestinos (delgado e grosso). Os órgãos foram pesados em balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália).

2.5.2. COLETA DE TÍBIAS

As tíbias direita e esquerda foram coletadas e acondicionadas em freezer a – 20 °C. Adiante foram previamente descongeladas em temperatura ambiente e descarnadas sem provocar danos na estrutura óssea. As tíbias esquerdas foram utilizadas para avaliação do comprimento, peso e índice de *Seedor*, enquanto as direitas, para a avaliação da resistência óssea.

2.6. AVALIAÇÃO ÓSSEA

2.6.1. COMPRIMENTO, PESO E ÍNDICE DE SEEDOR

Para determinar comprimento, peso e índice de *Seedor*, as tíbias foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital (Model Absolute Digital AOS Mitutoyo, SP, BR – precisão de 0,01 mm) e pesadas em balança semi-analítica de precisão de 0,01g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália). Em seguida, foram calcinadas em mufla para obtenção da matéria mineral (550°C; 4h; nº 942.05) (AOAC, 2000). Posteriormente, calcula-se o Índice de *Seedor*, dividindo o peso das cinzas (mg) pelo comprimento das tíbias (mm) (*SEEDOR et al.*, 1991).

2.6.2. DENSITOMETRIA ÓSSEA

A densitometria óssea foi realizada com o auxílio de tomografia computadorizada (scanner HiSpeed FXI CT 06824). Para identificação da densidade óssea utilizou-se o espectro de hidroxiapatita de cálcio. As tíbias foram dispostas lado a lado na mesa do tomógrafo para aquisição das imagens. Posteriormente, as imagens foram analisadas no Software Dicom (versão 1,1,7, Horos, Purview, Annapolis, MD 21401, EUA) para estimar os valores individuais da radiodensidade óssea em três níveis de corte diferentes da diáfise (proximal, medial e distal), sendo cada região dos cortes divididas em quadrantes e uma região circular de interesse (ROI) selecionada para avaliação densitométrica do osso cortical (Oliveira et al., 2012). Os resultados são apresentados em unidade de Hounsfield (HU), posteriormente corrigidos e convertidos em mg/cm³ de hidroxiapatita de cálcio, utilizando a equação descrita por Park *et al.*, 2015:

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

Sendo HU_t a radiodensidade do osso mensurado; HUb a radiodensidade do espectro de osso, que contém 200 mg de

hidroxiapatita de cálcio/cm³; e *HUw* a radiodensidade do espectro da água, sem hidroxiapatita de cálcio.

2.6.3. RESISTÊNCIA ÓSSEA

A resistência foi definida através da utilização da força por meio de um ensaio de flexão, em que a força é aplicada em um ponto central, previamente definido através da média do comprimento da tíbia. A força é empregada até a deformação máxima do osso, sendo realizada em máquina de ensaios universais com capacidade de 100kN (EMIC, modelo DL-10000), com o auxílio do software Tesc EMIC. Deformação é uma medida de flexão que ocorre conforme o osso é testado. Ao passo que o ensaio é realizado, o software gera uma curva de deformação, em que tem-se: deformação elástica, a qual ocorre na fase inicial da curva, na qual se removida a força aplicada, o osso voltará à sua forma original, pois não há danos permanentes; e deformação máxima, a qual ocorre no ponto de inflexão da curva, em que a aplicação da força é suficiente para haver danos irreversíveis ao osso, sendo este o ponto de falha. A distância entre apoios foi de 70 mm e a velocidade de deslocamento empregada pela célula de carga foi de 10 mm/min (Adaptado Crenshaw et al., 1981). O ensaio foi realizado no Laboratório de Caracterização de Propriedades Mecânicas do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Pernambuco.

2.7. PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MINERAL

2.7.1. LIMPEZA DE UTENSÍLIOS

As vidrarias, cadinhos de porcelana e demais utensílios passaram por processos de higienização: lavagem com detergente neutro, imersão em solução de ácido nítrico a 10% por 24h, enxague em água deionizada e secagem em estufa a 55 °C, a fim de se evitar qualquer contaminação com resíduos de outros minerais.

2.7.2. COMPOSIÇÃO ÓSSEA

As tíbias foram secas em estufa a 105 °C por 24h e, em seguida, calcinadas em mufla por 4 horas a 600 °C (Yan *et al.*, 2005).

2.8. QUANTIFICAÇÃO MINERAL: RAÇÕES, TÍBIAS E ÁGUA

Pesou-se 0,5 g das amostras de rações, as quais foram digeridas em 6 ml de HNO₃ (65%) em digestão úmida assistida por radiação de micro-ondas (Mars Xpress: Thechnology Inside, Cem Corporation) e submetidas a um programa de aquecimento em três etapas: 1º etapa: 1.300W de potência por 10 minutos e 120 °C; 2º etapa: 1.500W de potência por 15 minutos e 170 °C e 3º etapa:

1.500W de potência por 35 minutos e 170 °C. Já para as tíbias, utilizou-se as amostras anteriormente calcinadas, as quais pesou-se 0,5 g de amostra e foram digeridas em 6 ml de HNO₃ (65%) em digestão aberta por cerca de 10min. A solução resultante das amostras digeridas foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluída com água deionizada até atingir o volume final de 25ml.

Para as tíbias, foram pesados 0,5 g das cinzas em balança semi-analítica de precisão de 0,01 g (Modelo L3102iH, Bel Engineering®, Milão, Itália) e digeridas em 6 ml de HNO₃ (65% PA) em sistema aberto durante 10 minutos. A solução obtida foi filtrada em papel filtro quantitativo faixa azul e diluídas com água deionizada até atingirem o volume final de 25 ml.

As amostras de água foram diretamente analisadas, sem necessidade prévia de preparo.

Foram quantificados nas rações e na água: zinco, manganês, cobre, ferro, cálcio e fósforo. Enquanto nas tíbias, quantificou-se manganês, cálcio e fósforo. A determinação mineral de todas as amostras foi obtida através de espectrofotômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (Optima 7000 DV ICP – OES, PerkinElmer), realizada pelo Laboratório de Química Ambiental de Solos da UFRPE.

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos a homogeneidade das variâncias (Bartlett) e normalidade dos resíduos (Shapiro-wilk) e, em seguida à análise de variância. Posteriormente, efetuou-se a análise de regressão linear e não-linear pelo procedimento PROC NLIN no SAS (2004) com 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

A relação entre cada variável estudada e a ingestão do MnAA foi modelada pela função matemática de Michaelis-Menten (Érdi; Lente, 2014) e de Sigmoidal (Venegas; Haaris; Simon, 1998) e, a partir da inversão do modelo foi estimado a ingestão suplementar de MnAA para cada variável.

Os modelos utilizados contam com o auxílio dos fatores: resposta mínima (Rmin) e amplitude (amp) (Equação 1), bem como resposta máxima (Rmax) e velocidade da variável resposta (Km) (Equação 2):

$$\text{Equação 1: } Y = R_{min} + \frac{amp}{1 + e^{(r+s \times x)}}$$

$$\text{Equação 2: } Y = \frac{(R_{max} \times x)}{(K_m + x)}$$

Invertendo esta equação, obtém-se a estimativa do consumo ideal de MnAA para máxima e/ou mínima resposta da variável resposta, tendo:

$$\text{Equação 1: } MnCAA = -r + \ln \frac{(-y - R_{min} - amp \div y - R_{min})}{s}$$

$$\text{Equação 2: } MnCAA = -\frac{(Y \times Km)}{(Y - Rmax)}$$

3. RESULTADOS

3.1. DESEMPENHO PRODUTIVO

Foram observados efeitos significativos dos níveis de suplementação de MnAA ($P < 0,05$) sobre o ganho de peso médio (GPM) e a conversão alimentar (CA). Não havendo significância ($P > 0,05$) para o consumo de ração (CR) (Tabela 4).

Tabela 4 Desempenho produtivo de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	GPM ³	CR ⁴	CA ⁵
mg kg ⁻¹	mg ave dia ⁻¹	g ave dia ⁻¹		g.g ⁻¹
5	0,251	11,82	49,87	4,220
15	0,752	11,88	49,19	4,175
25	1,254	11,76	50,15	4,264
35	1,756	11,69	49,62	4,277
55	2,760	11,88	49,74	4,177
75	3,763	12,26	49,95	4,096
Média		11,88	49,75	4,204
P-Valor		0,001	> 0,05	0,015
SEM ⁶		0,053	0,157	0,016
Ymin ⁷		11,807	-	4,096
amp ⁷		0,745	-	0,138
r ⁷		67,92	-	-15,96
s ⁷		-18,17	-	5,702

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Ganho de peso médio; ⁴Consumo de ração; ⁵Conversão alimentar;

⁶Erro padrão da média; ⁷Parâmetros do modelo matemático.

Foram estimados para ingestão suplementar de MnAA em 1,263 e 0,938 mg ave⁻¹ dia⁻¹ para GPM e CA, respectivamente. Constatou-se estabilização das variáveis resposta com o aumento da ingestão de MnAA (Figura 2).

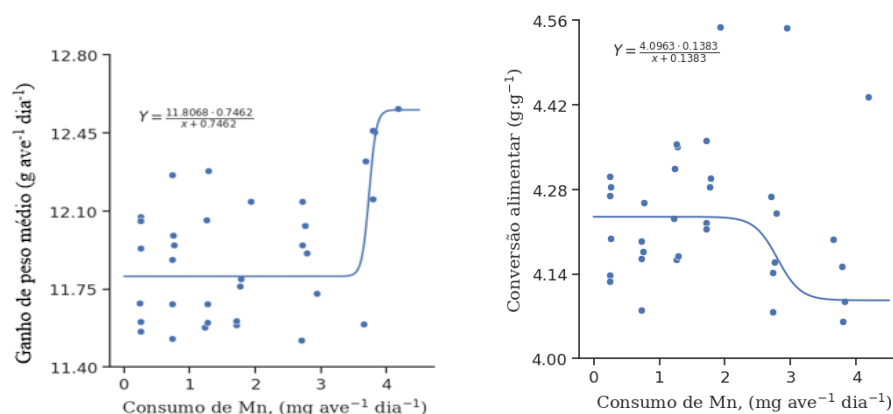


Figura 2 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis ganho de peso médio e conversão alimentar baseadas no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para frangas poedeiras de seis a treze semanas.

3.2. BIOMETRIA DE ÓRGÃOS

Verificou-se resultados significativos ($P < 0,05$) com a ingestão suplementar de MnAA para todos os órgãos analisados, tais como: timo, baço, bursa, intestino, pâncreas e fígado (Tabela 5).

Tabela 5 Peso de órgãos de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	Timo	Baço	Bursa	Intestino	Pâncreas	Fígado
mg kg ⁻¹	mg ave dia ⁻¹	g					
5	0,251	4,438	2,183	3,863	44,64	2,528	27,53
15	0,752	5,488	2,152	4,365	42,45	2,562	27,46
25	1,254	5,125	2,122	3,955	44,51	2,488	27,54
35	1,756	5,782	1,938	3,178	44,53	2,532	24,45
55	2,760	4,298	2,033	3,452	43,91	2,205	28,07
75	3,763	5,272	2,155	3,460	43,37	2,543	25,07
Média		5,067	2,097	3,753	43,97	2,491	26,60
P-valor		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
SEM ³		0,349	0,037	0,176	0,596	0,048	0,390
Rmax ⁴		5,281	2,058	3,625	43,77	2,464	26,09
km ⁴		0,036	-0,015	-0,024	-0,004	-0,009	-0,015

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Erro padrão da média; ⁴Parâmetros do modelo matemático.

Apesar da significância, foi possível estimar uma ingestão suplementar de 0,937 mg ave⁻¹ dia⁻¹ de MnAA apenas para o timo. Para os demais órgãos não foi possível a utilização de tais dados para criar um modelo matemático que justifique a relação da suplementação de MnAA e os resultados obtidos, devido a não verificação do ponto de máxima resposta nos dados, impossibilitando a estimativa ideal do consumo. Constatou-se estabilização da variável resposta com o aumento da ingestão de MnAA (Figura 3).

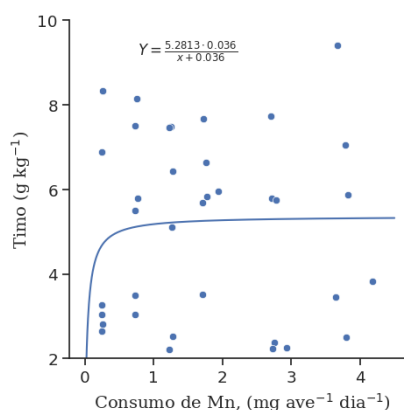


Figura 3 A linha azul representa a resposta máxima da variável timo baseada no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para frangas poedeiras de seis a treze semanas.

3.3. PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO

Os perfis hematológico (Tabelas 6) e bioquímico (Tabela 7) das aves foram influenciados pela suplementação de MnAA. Houve diferenças significativas ($P < 0,05$) na concentração das hemácias (HEM), leucócitos (LEU), hemoglobina (HGB) e volume corpuscular médio (VCM), bem como para fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transpeptidase (GGT), proteínas totais (PT), albumina (ALB), globulina (GB) e ácido úrico (AUR).

Tabela 6 Hemograma de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	HEM ³	HTC ⁴	LEU ⁵	HGB ⁶	CHCM ⁷	PQT ⁸	VCM ⁹
mg kg ⁻¹	mg ave dia ⁻¹	M/mm ³	%	mm ³		g dL ⁻¹		fL
5	0,251	2,715	29,83	30,75	9,945	33,33	3,000	93,93
15	0,752	2,854	29,33	30,91	9,778	33,33	3,333	105,2
25	1,254	2,890	28,50	33,83	9,500	33,33	5,167	98,92
35	1,756	2,358	29,17	28,08	9,723	33,33	4,167	120,3
55	2,760	2,551	31,17	31,35	10,39	33,33	6,200	124,6
75	3,763	2,275	29,17	28,25	9,722	33,33	5,833	124,7
Média		2,60	29,53	30,50	9,843	33,33	4,571	111,9
P-Valor		<,0001	> 0,05	<,0001	<,0001	> 0,05	<,0001	<,0001
SEM ¹⁰		0,084	0,294	0,940	0,098	0,000	0,400	3,617
Rmax ¹¹		2,520	-	30,21	9,826	-	6,351	122,8
km ¹¹		0,024	-	-0,008	-0,001	-	0,429	0,099

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Hemácias; ⁴Hematócrito; ⁵Leucócitos; ⁶Hemoglobina; ⁷Concentração de hemoglobina corpuscular média; ⁸Plaquetas; ⁹Volume corpuscular médio; ¹⁰Erro padrão da média; ¹¹Parâmetros do modelo matemático.

Tabela 7 Bioquímica sérica de frangas poedeiras (13 semanas de idade) suplementadas com níveis de inclusão de MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	AST ³	FA ⁴	GGT ⁵	PT ⁶	ALB ⁷	GB ⁸	AUR ⁹
mg kg ⁻¹	mg ave dia ⁻¹		U L ⁻¹			g dL ⁻¹		mg dL ⁻¹
5	0,251	193,1	910,9	15,85	4,363	2,136	2,284	5,933
15	0,752	199,1	1137	21,76	4,185	2,078	2,186	5,298
25	1,254	201,4	869,1	24,66	4,035	2,038	1,997	5,297
35	1,756	196,9	918,4	26,65	4,240	1,990	2,092	5,372
55	2,760	194,2	999,2	16,00	3,825	1,995	1,830	4,740
75	3,763	196,3	1158	20,89	4,078	2,068	1,980	4,222
Média		196,8	995,4	20,69	4,121	2,052	2,050	5,144
P-Valor		> 0,05	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
SEM ¹⁰		2,162	33,47	1,050	0,047	0,014	0,035	0,126
Rmax ¹¹		-	1052	23,90	3,876	1,968	1,813	4,367
km ¹¹		-	0,126	0,375	-0,136	-0,093	-0,269	0,338

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Aspartato aminotransferase; ⁴Fosfatase alcalina; ⁵Gama glutamil transpeptidase; ⁶Proteínas totais; ⁷Albumina; ⁸Globulina; ⁹Ácido úrico; ¹⁰Erro padrão da média; ¹¹Parâmetros do modelo matemático.

Constatou-se resposta máxima e consequente consumo ideal com a suplementação do MnAA para HEM e VCM em 0,933 e 0,934 mg ave⁻¹ dia⁻¹, bem como para FA em 1,134 mg ave⁻¹ dia⁻¹. Houve estabilização das variáveis resposta com o aumento da ingestão de MnAA (Figura 4). Não sendo possível a verificação ponto de máxima resposta nos resultados das demais variáveis, portanto, não houve modelo matemático aplicável para gerar suas estimativas.

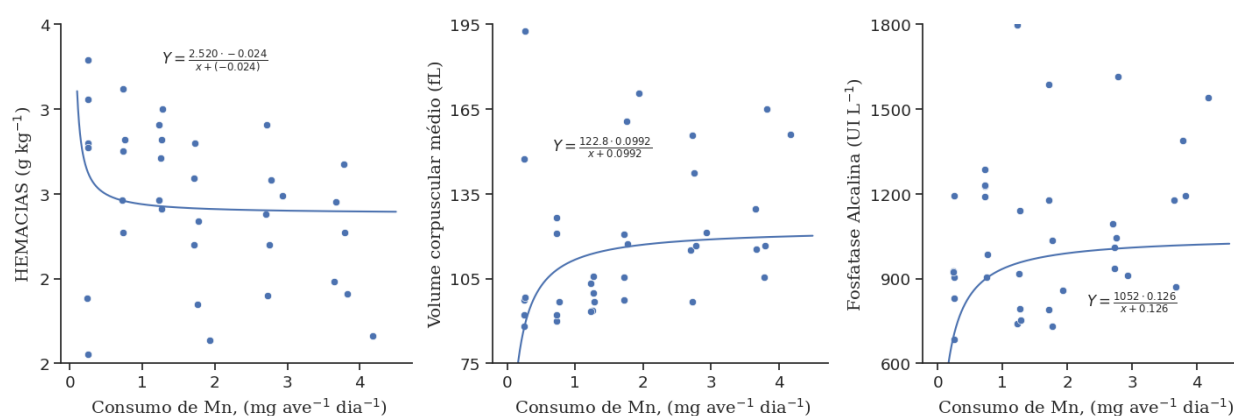


Figura 4 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis hemácias, volume corpuscular médio e fosfatase alcalina baseadas no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para frangas poedeiras de seis a treze semanas.

3.4. AVALIAÇÃO ÓSSEA

Os níveis de suplementação de MnAA influenciaram ($P < 0,05$) índice de Seedor (IS) e as densitometrias ósseas proximal, medial e distal (DOP, DOM, DOD), assim como a resistência óssea (RO), entretanto, não houve diferenças ($P > 0,05$) para as demais variáveis (Tabela 8).

Tabela 8 Avaliação óssea das tíbias de frangas poedeiras suplementadas com MnAA

MnAA ¹	MnAA ²	IS ³	DOP ⁴	DOM ⁵	DOD ⁶	RO ⁷	MM ⁸	CMMn ⁹	CMCa ¹⁰	CMP ¹¹
mg kg ⁻¹	mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	mg mm ⁻¹		mg cm ³		kgf	%	mg kg ⁻¹	g kg ⁻¹	
5	0,251	16,33	486,9	453,2	539,2	11,80	58,10	4,330	268,9	148,7
15	0,752	16,79	860,9	968,5	1156	11,64	58,93	4,361	268,4	148,5
25	1,254	16,00	874,1	975,4	1084	11,04	58,05	4,378	268,2	149,6
35	1,756	17,07	894,7	1019	1024	11,00	58,13	4,301	268,9	147,8
55	2,760	16,15	784,8	1080	1144	10,90	58,26	4,282	268,3	148,7
75	3,763	16,94	1018	1022	1164	11,71	58,28	4,386	268,5	148,9
Média		16,55	820,0	919,6	1019	11,34	58,29	4,340	268,53	148,70
P-Valor		<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
SEM ¹²		0,744	179,9	232,0	240,8	0,226	0,325	0,042	0,307	0,577
Rmax ¹³		16,82	993,0	1180	1258	11,16	-	-	-	-
km ¹³		0,025	0,210	0,288	0,232	-0,014	-	-	-	-

¹Suplementação de MnAA; ²Consumo de MnAA; ³Índice de Seedor; ⁴Densitometria óssea proximal; ⁵Densitometria óssea medial; ⁶Densitometria óssea distal; ⁷Resistência óssea; ⁸Matéria mineral; ⁹Composição mineral de manganês, ¹⁰Composição mineral de cálcio; ¹¹Composição mineral de fósforo ¹²Erro Padrão da média. ¹³Parâmetros do modelo matemático.

Conforme os resultados de IS, DOP e DOD, foi possível estimar o consumo ideal de MnAA baseado em 0,918, 1,888 e 2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹, de acordo com os parâmetros matemáticos. Embora tenham diferenças nos resultados de DOM e RO, não foi possível estimar suas máximas respostas, e, portanto, relacionar os dados com a suplementação do MnAA, impedindo a estimativa para tais variáveis. Constatando-se estabilização das variáveis resposta com o aumento da ingestão de MnAA, conforme ilustrado nos gráficos (Figura 5).

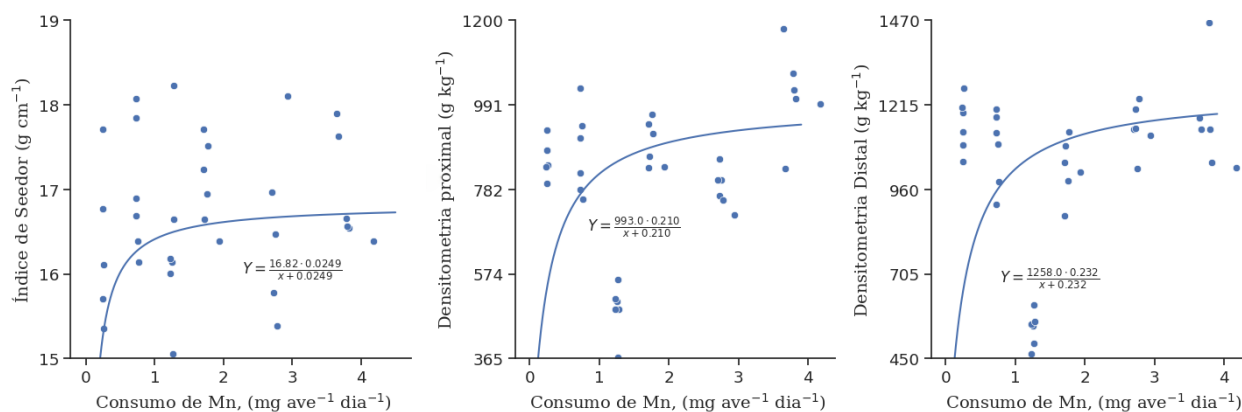


Figura 5 A linha azul representa a resposta máxima das variáveis índice de Seedor e densitometria óssea proximal e distal baseadas no consumo de MnAA (mg ave⁻¹ dia⁻¹) para frangas poedeiras de seis a treze semanas.

3.5. RESUMO DAS ESTIMATIVAS E CONTRASTE COM DEMAIS RECOMENDAÇÕES

As estimativas (mg ave⁻¹ dia⁻¹) provenientes desta pesquisa foram resumidas na Tabela 9, além de sua recomendação da suplementação em mg kg⁻¹ e ainda, comparação destes valores com as literaturas habitualmente utilizadas nas formulações das dietas das aves, demonstrando, em sua maioria, uma redução da recomendação da suplementação de Mn em dietas para poedeiras na fase de recria.

Tabela 9 Estimativas determinadas para frangas poedeiras de 6 a 13 semanas de idade suplementadas com MnAA e a diferença entre as recomendações de suplementação de NRC, Manual da linhagem Dekalb White e Rostagno *et al.*

Variáveis	Unidade	Estimativa	Suplementação recomendada	NRC (1994)	Manual da Linhagem (2009)	Rostagno <i>et al.</i> (2024)	
				Inorg ¹⁰	Inorg ¹⁰	Inorg ¹⁰	Org ¹¹
		mg ave ⁻¹ dia ⁻¹	mg kg ⁻¹	%			
GP ²	g ave ⁻¹ dia ⁻¹	1,263	25,39	18,17 >	96,95 >	208,78 >	38,97 >
CA ³	g g ⁻¹	0,938	18,85	59,12 >	165,20 >	315,77 >	87,12 >
Timo	g	0,937	18,83	59,29 >	165,48 >	316,22 >	87,32 >
HEM ⁴	M/mm ³	0,933	18,75	59,97 >	166,61 >	317,99 >	88,12 >
VCM ⁵	fL	0,934	18,77	59,80 >	166,33 >	317,55 >	87,92 >
FA ⁶	U/L	1,134	22,79	31,61 >	119,36 >	243,91 >	54,78 >
IS ⁷	mg mm ⁻¹	0,918	18,45	62,58 >	170,97 >	324,83 >	91,20 >
DOP ⁸	mg cm ³	1,888	37,95	20,95 <	31,75 >	106,56 >	7,04 <
DOD ⁹		2,088	41,97	28,52 <	19,13 >	86,78 >	15,94 <

¹NRC: 30 mg kg⁻¹, Manual da linhagem: 50 mg kg⁻¹, Rostagno: 78,39 mg kg⁻¹ (inorgânico) e 35,28 mg kg⁻¹ (orgânico);

²Ganho de peso médio; ³Conversão alimentar; ⁴Hemácias; ⁵Volume corpuscular médio; ⁶Fosfatase alcalina; ⁷Índice de

Seedor; ⁸Densitometria óssea proximal da tíbia; ⁹Densitometria óssea distal da tíbia; ¹⁰Valores oriundos de fontes inorgânicas; ¹¹Valores oriundos de fontes orgânicas. >: percentuais maiores que a suplementação recomendada; <: percentuais menores que a suplementação recomendada.

4. DISCUSSÃO

A avicultura de postura está em constante aperfeiçoamento quando se trata de sustentabilidade ambiental, principalmente em relação aos sistemas de criação e nutrição. Entretanto, ainda é expressiva a quantidade de criações de galinhas poedeiras comerciais em gaiolas, acarretando redução da qualidade de vida e de suas atividades naturais, como a locomoção, podendo com isto, gerar prejuízos para a produção. A suplementação mineral adequada pode ser uma forma de minimizar esses problemas, visando garantir um satisfatório desenvolvimento esquelético para esses animais, sobretudo o uso de microminerais complexados a aminoácidos, o qual melhora o aproveitamento do mineral pelo organismo animal em comparação às fontes inorgânicas, reduzindo, sua excreção no meio ambiente.

Diante do exposto, faz-se necessário o estabelecimento da estimativa de consumo ideal das novas fontes de microminerais orgânicos, dentre os quais satisfaçam as diferentes fases de criação, visando a futura produção de ovos. Portanto, a estimativa de consumo do Mn desta pesquisa foi realizada com prudência, especialmente no que diz respeito a utilização do modelo matemático que melhor se ajustasse aos dados. Isto posto, o modelo matemático não linear se adequou satisfatoriamente aos dados de nossa pesquisa para estimar o consumo suplementar ideal de MnAA.

Os modelos não lineares são preconizados nesse tipo de avaliação, pois respondem melhor as relações fisiológicas e metabólicas que acontecem no animal, uma vez que são fundamentados pelas relações entre as variáveis. O metabolismo é um fenômeno com inúmeras reações bioquímicas e fisiológicas que ocorrem ao longo da vida do animal. Na fase de recria ocorre o desaceleramento do crescimento ósseo e maior metabolismo na modulação de deposição de nutrientes necessários para o início do período produtivo, compreendendo, portanto, uma etapa importante para a produção (Silva, 2023).

Assim sendo, a suplementação de MnAA nas dietas de frangas poedeiras influenciou no ganho de peso e conversão alimentar. Este desempenho das aves, demonstra consenso com o que é preconizado em sua linhagem nesta fase de criação, em que o melhor desempenho foi obtido entre 0,938 até 1,263 mg ave⁻¹ dia⁻¹ de MnAA, correspondendo a aproximadamente 18,85 a 25,39 mg kg⁻¹ de suplementação de Mn na dieta. Quando o Mn é deficiente ou não está disponível para o animal, uma série de disfunções fisiológicas e estruturais podem ocorrer, incluindo atenuação do sistema

antioxidante, assim como má formação da cartilagem e esquelética (Wilgus Jr; Norris; Heuser, 1936; Cao, 1987), consequentemente, resultando em queda na imunidade do animal, comprometendo todo o seu desenvolvimento e sua futura produção de ovos.

Nesta pesquisa, os resultados demonstram que os animais suplementados com a quantidade ideal de Mn, obtiveram um adequado desenvolvimento produtivo, não apresentando sintomas de deficiência ou excesso mineral. A saúde do animal pode ser refletida através de seus níveis séricos, uma vez que seus resultados podem retratar as respostas fisiológicas e metabólicas do animal. Portanto, os dados de hemograma e bioquímica sérica nos permitem analisar as atividades enzimáticas e metabólitos sanguíneos envolvidos no metabolismo hepático, pois o MnAA pode influenciar no estado de saúde do animal, sendo capaz de identificar, com estas análises, possíveis alterações no estado imunológico e, consequentemente, alterações hepáticas nas aves. Embora a avaliação dos parâmetros bioquímicos não tenha se ajustado ao modelo matemático e por conseguinte, não haver estimativa da ingestão suplementar de MnAA baseada em tal análise, suas atividades e concentrações quantificadas estão próximos da faixa de normalidade estabelecida para galinhas (Lumeij, 2008; Campbell, 2015), situando-se em 174,80 até 350 UI/L para AST, 16 até 20 g/L e 23 até 33 g/L para a ALB e GB, respectivamente.

Assim, nossos resultados apenas confirmam que a suplementação do MnAA promoveu estabilidade no metabolismo do fígado. O Mn tem significativa importância nas funções imunológicas das aves, uma vez que se relacionam com neutrófilos e macrófagos por meio das células da membrana plasmática envolvidas na resposta imune (Hurley; Keen, 1987), bem como, é componente da enzima superóxido dismutase (SOD), que desempenha papel importante no cessamento de infecções bacterianas (Seifert *et al.*, 2011). Ademais, podem existir contribuições nas respostas das avaliações deste estudo advindas da inclusão de fitase e demais minerais traço complexados nas dietas. A fitase libera cátions do ácido fítico, que estarão em sua forma ionizada participando dos processos de captação pelos enterócitos por proteínas transportadoras específicas (Kornegay, 1996), contribuindo para melhoria na absorção dos nutrientes (Fireman; Fireman, 1998). É importante evidenciar que na indústria de ovos de mesa, a inclusão da fitase nas dietas de galinhas poedeiras é rotineira, devendo tal informação ser considerada no momento da suplementação micromineral, incluindo o Mn.

O peso dos órgãos como, timo, bursa e fígado está relacionado com a defesa do organismo e no metabolismo animal. Logo, qualquer alteração em seu peso indicará modificações significativas no sistema imunológico e no metabolismo, o qual é ativamente realizado no fígado. Todavia, os animais desta pesquisa precisaram consumir $0,937 \text{ mg ave}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de MnAA ($18,83 \text{ mg kg}^{-1}$ de MnAA) para a máxima atuação do timo. O timo é um tecido linfóide primário, local onde os linfócitos T são

maturados, para atuação na regulação da resposta imunológica através da ativação de células que eliminam os antígenos (Ritchie, 1995; Qureshi, 2003). O Mn é um micromineral que auxilia na regulação das funções imunológicas, uma vez que se relaciona com macrófagos e heterófilos, os quais estão envolvidos na resposta imune (Hurley; Keen, 1987). Confirmando, portanto, que a suplementação de Mn na dieta das aves auxilia na integridade da saúde animal e apresenta efeitos positivos quanto ao sistema imunológico (Son *et al.*, 2007). Burin Jr *et al.* (2018), estudaram dietas contendo Mn nas formas inorgânica (80 mg kg^{-1}) e orgânica (40 mg kg^{-1}) para frangos de corte, observando melhorias nas respostas imunológicas das aves.

Tal resultado pode ter contribuição dos demais microminerais complexados, como o Zn, Cu e Se. Jarosz *et al.* (2017), confirma que Zn oriundo de fontes orgânicas protegem efetivamente o corpo contra infecções e melhora a saúde geral das aves. Medeiros-Ventura *et al.* (2020), constatou que dietas suplementadas com minerais complexados a aminoácidos, em forma de premix mineral, teria contribuído para a defesa do organismo de aves. Bem como, para Faria (2018), que verificaram que a utilização de suplementação com premix de minerais complexados, melhorou a produção e a função imunológica.

A recria é uma fase de criação das frangas poedeiras com papel relevante, pois é nela que será definida a qualidade de um lote de poedeiras e, conseqüentemente, sua produtividade. Ao final da recria, as respostas de suas características, em especial a óssea, devem satisfazer as expectativas da indústria em relação ao período produtivo das aves (Silva, 2023). Neste sentido, o consumo ideal de MnAA mantém-se entre 0,918 e 2,088 mg ave dia ($18,45$ a $41,97 \text{ mg kg}^{-1}$), estimado com base no IS e densitometria óssea das tíbias, permitindo aferir que esta suplementação tenha sido suficiente para a máxima eficiência da deposição mineral no osso. Fundamentado nestes níveis de suplementação, valores acima promoveriam respostas estáveis, sem melhoras adicionais. Ferket *et al.* (1992) e Brito *et al.* (2006), trabalhando com a utilização de minerais orgânicos para peruas e frangas poedeiras (7 a 12 semanas), observaram que a suplementação de 40 e 35 mg kg^{-1} de Mn, respectivamente, não afetou as características ósseas destas aves, corroborando com nossos dados, onde os valores acima não viabilizaram quaisquer diferenças ósseas.

Diversos autores já demonstraram que o Mn é fundamental no desenvolvimento e crescimento ósseo, uma vez que atua na formação da matriz orgânica pois é ativador metálico das enzimas responsáveis pela síntese de mucopolissacarídeos e glicoproteínas (Georgievskii, 1982; Suttle, 2010; Dermience *et al.*, 2015). Desta forma, é possível atestar a importância de uma boa formação óssea para as frangas poedeiras e, conseqüentemente, adequada produção de ovos, com boa qualidade de casca, uma vez que as anomalias ou problemas ósseos serão evitados com o auxílio da suplementação

adequada.

Diante dos problemas ósseos acarretados principalmente por desequilíbrios nutricionais, sobretudo de minerais, nosso trabalho possui expressiva importância, uma vez que a ingestão suplementar de apenas 0,918 a 2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹ de MnAA para as frangas poedeiras foi suficiente para garantir a deposição mineral necessária para satisfatória formação óssea. O osso é formado por matéria orgânica e inorgânica, servindo de reserva mineral para apoiar a produção futura de ovos e garantir formação, remodelação e reabsorção dos ossos ao longo da vida das poedeiras (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Ao constatar que a atividade sérica da fosfatase alcalina (FA) das frangas poedeiras foi influenciada pelo nível de suplementação de MnAA, com seu máximo desempenho em 1,134 mg ave⁻¹ dia⁻¹ de MnAA (22,79 mg kg⁻¹), em razão do Mn ser um cofator e está presente nas estruturas das enzimas, podemos afirmar que ele também atuou na FA. Ela catalisa reações de hidrólise de grupos fosfato, portanto, se faz presente no desenvolvimento e formação óssea, sendo responsável por estimular através dos osteoblastos, a transcrição e expressão de genes de enzimas que participam na regulação da formação do cristal da matriz mineral no disco epifisário, durante o processo de crescimento (Chen *et al.*, 2018).

Podem ser observadas algumas variações fisiológicas, apresentando níveis de atividade maiores nas aves jovens decorrentes do crescimento ósseo. A função da FA está relacionada com o aporte de energia para o intercâmbio de íons através das membranas celulares (Hochleithner, 1994). Justificando, portanto, a estimativa da ingestão suplementar de MnAA (1,134 mg ave⁻¹ dia⁻¹) deste estudo para uma máxima resposta de FA, a qual foi 1,23 vezes maior que o valor estimado para IS (0,918 mg ave⁻¹ dia⁻¹) e apenas 0,5 vezes menor que o valor máximo da densitometria (2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹) das tíbias de frangas. Desta forma, subentende-se que as aves necessitaram de um vasto aporte energético para o desenvolvimento de seus tecidos e órgãos. Ademais, uma estimativa mais elevada que as demais, quando baseada na FA, é compreensível em virtude do Mn atuar na formação óssea e deposição dos macrominerais presentes nos ossos. Neste sentido, a presença do Mn, torna-se importante na atividade da metaloenzima e consequente estímulo dos osteoblastos (Chen *et al.*, 2018), responsáveis pela formação mineral, decorrendo na deposição mineral de Ca e P nos ossos. Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se afirmar que os tais são prógonos quanto a estimativa do consumo ideal de MnAA para frangas leves de postura em dietas contendo fitase (600 FTU), em que os demais minerais traço (exceto Iodo) foram suplementados como metal-AA.

O uso de minerais complexados a aminoácidos na alimentação de frangas poedeiras proporciona benefícios financeiros significativos, pois possuem maior biodisponibilidade, melhorando a eficiência alimentar e reduzindo a quantidade de suplementação necessária na ração.

Consequentemente, promove redução de custos com suplementos, melhorando a qualidade óssea e futura produção de ovos, permitindo preços mais atrativos. Ademais, a saúde e o desempenho das aves são aprimorados, reduzindo os gastos com tratamentos veterinários e aumentando sua produção, maximizando o retorno sobre o investimento. Portanto, a suplementação com minerais complexados acarreta em melhorias no âmbito nutricional, bem como no fortalecimento da gestão financeira na avicultura.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, a estimativa da ingestão suplementar ideal de MnAA nas dietas de frangas poedeiras leves, com inclusão dos demais minerais complexados a aminoácidos (Zn, Cu, Fe e Se) e fitase (600 FTU/kg) é de 2,088 mg ave⁻¹ dia⁻¹ (41,97 mg kg⁻¹), garantindo um estado de saúde satisfatório com máximo desempenho e qualidade óssea.

6. AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo; ao CNPq e 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. **The roles of amino acid chelates in animal nutrition**. Noyes Publications: Westwood, 1993.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official guidelines for contaminant levels permitted in mineral feed ingredients**. Official Publication. Indiana, 2001.

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

BRITO, J. Á. G. de; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J.; RODRIGUES, P. B.; FREITAS, R. T. F. de. Uso de microminerais sob a forma de complexo orgânico em rações para frangas de reposição no período de 7 a 12 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 1342–1348, 2006.

BURIN JUNIOR, A. M.; FERNANDES, N. L. M.; SNAK, A.; FIREMAN, A.; HORN, D.; FERNANDES, J. I. M. Arginine and manganese supplementation on the immune competence of

broilers immune stimulated with vaccine against Salmonella Enteritidis. **Poultry science**, [s. l.], v. 98, n. 5, p. 2160–2168, 2019.

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, 2015. p. 1233-1257.

CAO S. F. Manganese and growth and reproduction of animals and poultry. **Journal of Shanghai Agricultural College**, v. 5, n. 1, p. 79-85, 1987.

CHEN, N. N.; LIU, B.; XIONG, P. W.; GUO, Y.; HE, J. N.; HOU, C. C.; MA, L. X.; YU, D. Y. Safety evaluation of zinc methionine in laying hens: Effects on laying performance, clinical blood parameters, organ development, and histopathology. **Poultry science**, v. 97, n. 4, p. 1120–1126, 2018.

CRENSHAW, T. D.; PEO, E. R.; LEWIS, A. J.; MOSER, B. D. Bone Strength as a Trait for Assessing Mineralization in Swine: a Critical Review of Techniques Involved, **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 3, p. 827–835, 1981.

DERMIENCE, M.; LOGNAY, G.; MATHIEU, F.; GOYENS, P. Effects of thirty elements on bone metabolism. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 32, p. 86-106, 2015.

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

FARIA, A. G. Suplementação de complexo metal-aminoácido em dietas de frangas de reposição. 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

FERKET, P.R.; NICHOLSON, L.; ROBERTSON, K.D. et al. Effect of level of inorganic and organic zinc and manganese on the performance and leg abnormalities of turkey toms. **Poultry Science**, v.71, n.1, p. 60, 1992.

FIREMAN, A. K. B. A. T.; FIREMAN, F. A. T. Fitase na alimentação de poedeiras. **Ciencia rural**, v. 28, n. 3, p. 529–534, 1998.

FLORENCIO-SILVA, R.; SASSO, G. R. da S.; SASSO-CERRI, E.; SIMÕES, M. J.; CERRI, P. S. Biology of bone tissue: Structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed research international**, [s. l.], v. 2015, p. 421746, 2015.

GAO, S.; YIN, T.; XU, B.; MA, Y.; HU, M. Amino acid facilitates absorption of copper in the Caco-2 cell culture model. **Life sciences**, [s. l.], v. 109, n. 1, p. 50–56, 2014.

GEORGIEVSKII, V. I.; ANNENKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. T. **Mineral nutrition of animals**. Oxford, England: Butterworth-Heinemann, 1982.

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**, [s. l.], v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018.

GREGER, J. L. Nutrition versus toxicology of manganese in humans: evaluation of potential biomarkers. **Neurotoxicology**, [s. l.], v. 20, n. 2–3, p. 205–212, 1999.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L.R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994.

HURLEY, L. S.; C. L. KEEN. Manganese. In: MERTZ, W. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5. ed. Orlando: Academic Press, 1987.

JAROSZ, Ł.; MAREK, A.; GRĄDZKI, Z.; KWIECIEŃ, M.; ŻYLIŃSKA, B.; KACZMAREK, B. Effect of feed supplementation with zinc glycine chelate and zinc sulfate on cytokine and immunoglobulin gene expression profiles in chicken intestinal tissue. **Poultry science**, [s. l.], v. 96, n. 12, p. 4224–4235, 2017.

KORNEGAY, E. T. Effect of phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids, and trace minerals in broilers and turkeys. In: BASF Technical Symposium. World Congress Center, 1996, Atlanta, Georgia. **Proceedings...** Atlanta, 1996. p. 39- 70.

LEACH JR, R. M. Role of manganese in the synthesis of mucopolysaccharides. **Federation proceedings**, v. 26, n. 1, p. 118–120, 1967.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008.

MADSEN-BOUTERSE, S. A.; ZHONG, Q.; MOHAMMAD, G.; HO, Y.-S.; KOWLURU, R. A. Oxidative damage of mitochondrial DNA in diabetes and its protection by manganese superoxide dismutase. **Free radical research**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 313–321, 2010.

MEDEIROS-VENTURA, W. R. L.; RABELLO, C. B. V.; BARROS, M. R.; SILVA JUNIOR, R. V.; OLIVEIRA, H. B.; FARIA, A. G.; SILVA, A. F.; SOARES, P. C.; PEREIRA, C. G.; SANTOS, M. J. B.; FIREMAN, A. K. Zinc, manganese, and copper amino acid complexes improve performance and bone characteristics of layer-type chicks under thermoneutral and cold stress conditions. **Poultry science**, [s. l.], v. 99, n. 11, p. 5718–5727, 2020.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requerimento of poultry**. 9. ed., Washington, 1994.

OLIVEIRA, J. F.; JÚNIOR, J. L. R.; LEITE, F. L. G.; OLIVEIRA, D. C.; COSTA, L. A. V. S.; SILVA, I. C. C.; TEIXEIRA, M. W.; COSTA, F. S. Densitometria da vértebra dorsal, osso pleural e osso neural em 1518 tartarugas verdes híidas por tomografia computadorizada quantitativa. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1440–1445, 2012.

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: 12 ago. 2021.

QURESHI, M. A. Avian macrophage and immune response: an overview. **Poultry science**, v. 82, n. 5, p. 691–698, 2003.

RITCHIE, B. W. **Avian Viruses: Function and Control**. 1. ed. New Jersey: Wiley, 1995.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; CALDERANO, A. A.; HANNAS, M. I.; SAKAMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; ROCHA, G. C.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; GENOVA, J. L.; TAVERNARI, F. C. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2024.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKAMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017.

SAUER, A. K.; PFAENDER, S.; HAGMEYER, S.; TARANA, L.; MATTES, A.-K.; BRIEL, F.; KÜRY, S.; BOECKERS, T. M.; GRABRUCKER, A. M. Characterization of zinc amino acid complexes for zinc delivery in vitro using Caco-2 cells and enterocytes from hiPSC. **Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine**, v. 30, n. 5, p. 643–661, 2017.

SCHEIDELER, S. E. Trace minerals balance in poultry. In: Midwest Poultry Federation Convention, 2008; Minnesota, Lincoln. **Proceedings...** Minnesota, 2008.

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**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 339–346, 1991.

SEIFERT, S.; FRITZ, C.; CARLINI, N.; BARTH, S. W.; FRANZ, C. M. A. P.; WATZL, B. Modulation of innate and adaptive immunity by the probiotic *Bifidobacterium longum* PCB133 in turkeys. **Poultry science**, [s. l.], v. 90, n. 10, p. 2275–2280, 2011.

SILVA, G. D. **Zinco complexado a aminoácido para poedeiras leves na fase de cria e recria**. 2023. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SON, E.-W.; LEE, S.-R.; CHOI, H.-S.; KOO, H.-J.; HUH, J.-E.; KIM, M.-H.; PYO, S. Effects of supplementation with higher levels of manganese and magnesium on immune function. **Archives of pharmacal research**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 743–749, 2007.

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

SUTTLE, N. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed. Midlothian: Cabi, 2010.

TOMASI, N.; NOBILI, M.; GOTTARDI, S.; ZANIN, L.; MIMMO, T.; VARANINI, Z.; RÖMHELD, V.; PINTON, R.; CESCO, S. Physiological and molecular characterization of Fe acquisition by tomato plants from natural Fe complexes. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n.2, p. 187–200, 2013.

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.

WILGUS JR, H. S.; NORRIS, L. C.; HEUSER, G. F. The role of certain inorganic elements in the cause and prevention of perosis. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 84, n. 2176, p. 252–253, 1936.

YAN, F.; KEEN, C. A.; ZHANG K. Y.; WALDROUP, P. W. Comparison of Methods to Evaluate Bone Mineralization. **Journal of Applied Poultry**, v. 14, n. 3, p. 492–498, 2005.

YILDIZ, A. O.; CUFADAR, Y.; OLGUN, O. Effects of dietary organic and inorganic manganese supplementation on performance, egg quality and bone mineralisation in laying hens. **Revue de**

Médecine Vétérinaire, v. 162, n.10, p. 482-488, 2011.