UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

WILLIAN HIDEHARU DE EIROZ OKIYAMA

Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados

Pirassununga
2017

WILLIAN HIDEHARU DE EIROZ OKIYAMA

Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Profº Dr. Marcus Antonio Zanetti

Pirassununga

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O41i

Okiyama, Willian Hideharu de Eiroz
Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados / Willian Hideharu de Eiroz Okiyama ; orientador Marcus Antonio Zanetti. -- Pirassununga, 2017.
46 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Nutrição animal. 2. Suinos. 3. Suplementos minerais para animais. I. Zanetti, Marcus Antonio, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

A toda minha família que sempre me apoiou em todas as decisões, em especial à minha amada esposa Dayane, pelo amor, companheirismo e dedicação na educação dos nossos filhos.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti, pela confiança depositada em mim, pela paciência e por ter me acolhido como seu orientado.

A minha eterna namorada Dayane, pela paciência que teve comigo durante a realização desta pesquisa, pela ajuda na conclusão de mais essa etapa das nossas vidas e por se dedicar tanto a nossa família sem medir esforços e sem pedir nada em troca.

A minha mãe “Lurdinha” que soube conduzir tão bem a nossa família mesmo depois da ida do meu pai Jorge. Hoje, as lembranças de tudo que vivemos só despertam sentimentos de admiração e gratidão por você.

As minhas irmãs Lillian e Vivian que sempre me apoiaram em tudo que eu fiz mesmo estando errado (na maioria das vezes).

A toda a equipe do Laboratório de pesquisa em suínos, em especial a Simone e a Ana Paula, pela colaboração na condução do experimento.

A todos os professores, alunos e profissionais que contribuíram durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

A empresa De Heus pelo apoio e suporte na execução desta pesquisa.

RESUMO

OKIYAMA, W. H. E. **Influência de fontes e níveis de cobre sobre o desempenho de leitões desmamados.** 2017. 46 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

O baixo crescimento após o desmame ainda é um grande desafio na suinocultura. A queda no consumo de ração e o aparecimento de diarreias nos leitões desmamados são uma constante no manejo suinícola e estão diretamente relacionados com desempenho dos animais nesta fase. Estratégias como a utilização do cobre em níveis acima das exigências nutricionais dos leitões já são amplamente utilizadas nas dietas a fim de controlar a diarreia e melhorar o desempenho dos animais nessa fase. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes fontes de cobre (sulfato e cloreto de cobre tri-básico) e níveis deste mineral (125 e 200 mg/kg) no controle de diarreia, seus efeitos como melhorador desempenho e na morfologia intestinal de leitões no período de creche. Para a realização do experimento foram utilizados 96 leitões de linhagem comercial, desmamados com idade média de 21 dias e peso médio de 6,14 ± 0,269 kg. Os leitões foram divididos em 24 baias, sendo que cada unidade experimental foi composta por 4 animais, o delineamento experimental foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2x2, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F a 5% de significância. Foram investigados o desempenho dos animais, a incidência de diarreia, e a morfometria intestinal. Pode-se concluir que o cloreto de cobre é uma fonte efetiva de cobre quando incluída na dieta de leitões desmamados a níveis farmacológicos, sendo tão eficaz quanto o sulfato de cobre como promotor de crescimento e no controle da diarreia. Além disso, pode-se inferir que a utilização do cloreto de cobre tem como vantagem uma maior concentração deste micro mineral.

Palavras-chave: cloreto de cobre; desmame; diarreia; leitões; morfometria intestinal; sulfato de cobre.

ABSTRACT

OKIYAMA, W. H. E. **Influence of sources and levels of copper on the performance of weaned pigs.** 2016. 46 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

Low growth after weaning still a big challenge in the swine production. The low feed intake and diarrhea in weaned pigs are a constant in swine management and are directly related to the performance of the animals at this stage. Strategies such as the use of copper at levels above the nutritional requirements of the piglets are already widely used in the diets to control diarrhea and improve animal performance. In this context, the aim of this study was to evaluate different sources of copper (copper sulfate and tri-basic copper chloride) and levels of this mineral (125 and 200 mg/kg) in the diarrhea control, their effects as growth promotor and the intestinal morphology of nursery piglets. For the trial, 96 commercial line piglets were used, they were weaned at 21 days of age in average with mean body weight of 6,14 ± 0,269 kg. The piglets were divided in 24 pens and each experimental unit was composed of 4 animals, the experimental design was a randomized complete block in factorial scheme 2x2, the data were submitted to analysis of variance through the F test at 5% of significance. The performance of the animals, incidence of diarrhea and intestinal morphometry were investigated. It was concluded that copper chloride is an effective source of copper when it is included in the diet of weaned pigs at pharmacological levels, this source seems to be nearly as efficacious as copper sulfate as growth promotor and in the diarrhea control. In addition, it can be inferred that the use of copper chloride has the advantage of a higher copper concentrarion is indicated since it brings a higher concentration of this trace mineral

Keywords: copper chloride; copper sulfate; diarrhea; intestinal morphometry; piglets; weaning.

Lista de Figuras

Figura 1. Instalação de creche do Núcleo de Pesquisa de Suínos (VNP/USP) 23
Figura 2. Leitões instalados na unidade de creche. 24
Figura 3. Escore fecal para leitões. 31
Figura 4. Abate dos leitões ao final de 42 dias de experimento. 31
Figura 5. Coleta de fragmento do intestino delgado para avaliação morfométrica intestinal 32

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm (CuSO4125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm (CuSO4200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 1 (21 a 27 dias de vida)..... 26
Tabela 2 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm (CuSO4125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm (CuSO4200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 2 (28 a 34 dias de vida)..... 27
Tabela 3 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm (CuSO4125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm (CuSO4200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 3 (35 a 49 dias de vida)..... 28
Tabela 4 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm (CuSO4125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm (CuSO4200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 4 (50 a 63 dias de vida)..... 29
Tabela 5 - Média das temperaturas (°C) mínimas e máximas das 3 salas da unidade de creche..... 34
Tabela 6 - Desempenho de leitões alimentados com dois níveis (125 e 200 ppm) e duas fontes de cobre (sulfato e cloreto)..... 35
Tabela 7 - Desempenho de leitões alimentados com dois níveis (125 e 200 mg/kg) e duas fontes de cobre (sulfato e cloreto). 36
Tabela 8 - Frequência de diarreia observada para a interação entre o nível de cobre e a sua fonte..... 37
Tabela 9 - Morfometria intestinal dos leitões abatidos aos 63 dias de vida. 38
Tabela 10 – Desdobramento dos fatores das variáveis altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação AV:PC do duodeno de leitões alimentados com dois níveis e duas fontes de cobre. 39

Abreviaturas e Siglas

Altura de vilosidade (AV)
Cálcio (Ca)
Cloreto de cobre tribásico (TBCC)
Cobre (Cu)
Consumo médio diário de ração (CDR)
Conversão alimentar (CA)
Energia Metabolizável (EM)
Fósforo disponível (P.disp)
Ganho de peso médio diário (GPD)
Lisina digestível (Lis dig)
Profundidade de cripta (PC)
Proteína Bruta (PB)
Relação de lisina digestível com metionina + cistina digestível (Lis/M+C dig)
Relação de lisina digestível com treonina digestível (Lis/M+C dig)
Relação de lisina digestível com triptofano digestível (Lis/M+C dig)
Sódio (Na)
Sulfato de cobre ($CuSO_4$)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12

2 REVISÃO DA LITERATURA 13

2.1 Cobre 13

2.2 Metabolismo do cobre 14

2.2.1 Absorção 14

2.2.2 Excreção 15

2.2.3 Interação de cobre com outros minerais 16

2.3 Fontes de Cobre 16

2.3.1 Sulfato de cobre penta hidratado 17

2.3.2 Cloreto de cobre tri-básico 17

2.3.3 Cobre orgânico 17

2.4 Níveis nutricionais do cobre 18

2.5 Sintomas de deficiência e toxicidade 19

2.6 O cobre como melhorador de desempenho 20

2.7 Cobre e a saúde intestinal de leitões 22

3 MATERIAIS E METODOS 22

3.1 Local e Instalações 22

3.2 Animais e distribuição entre os tratamentos 23

3.3 Delineamento experimental 24

3.4 Manejo alimentar 25

3.5 Manejo sanitário 30

3.6 Avaliação de desempenho 30

3.7 Incidência de diarreia 30

3.8 Avaliação morfométrica intestinal 31

3.9 Análises estatísticas 33

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 34

4.1 Temperatura 34

4.2 Desempenho dos leitões 34

4.3 Frequência de diarreia 37

4.4 Morfometria intestinal 38

5 CONCLUSÃO 40

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura tem um importante papel socioeconômico dentro do cenário mundial, sendo a carne suína a mais consumida no mundo e a indústria suinícola geradora de milhões de empregos dentro de toda a cadeia produtiva. No Brasil, a suinocultura está entre as indústrias de tecnologia animal mais desenvolvidas e emprega mão de obra altamente qualificada, apesar disso, o baixo crescimento após o desmame ainda é um grande desafio dentro das granjas.

O baixo consumo de ração e o aparecimento de diarreias nos leitões desmamados são uma constante no manejo suinícola e estão diretamente relacionados com o desempenho dos animais nesta fase. A mudança brusca do tipo de alimento fornecido e as condições gerais de estresse proporcionam uma diminuição do sistema imunológico desses animais jovens, facilitando assim, a proliferação de bactérias patogênicas, que no período de aleitamento, se encontravam em equilíbrio no trato gastrointestinal.

Estratégias como a utilização do cobre em níveis acima das exigências nutricionais dos leitões já são amplamente utilizadas nas dietas a fim de diminuir a diarreia e melhorar o desempenho dos animais nessa fase, entretanto, poucos estudos são conduzidos para avaliar diferentes fontes e níveis de cobre como alternativas para melhorar o desempenho durante esse período. O cobre também, se comprovado seus efeitos benéficos, pode ser uma alternativa para redução do uso de antibióticos na produção animal, redução esta que tem apresentado forte tendência nos últimos anos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes fontes de cobre (sulfato e cloreto de cobre tri-básico) e níveis deste mineral (125 e 200 mg/kg) no controle de diarreia, seus efeitos como melhorador no desempenho e na morfologia intestinal de leitões no período de creche.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cobre

O cobre (Cu) é um micromineral presente em baixa concentração nos animais, contudo desempenha funções essenciais no organismo (PONTES & LIOBET, 1995; KOH et al., 1996). Sua essencialidade está voltada principalmente para a reprodução, crescimento, desenvolvimento ósseo e de tecidos conectivos, pigmentação dos pelos e plumas, formação do sangue e formação de uma série de enzimas cúpricas (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999).

Este elemento participa de diversos processos nos organismos, dentre eles a metabolização do ferro por enzimas cobre-dependentes, tendo uma importância sinérgica na formação da hemoglobina (SUTTLE, 2010). Tem influência também na formação de elastina e do colágeno participando, por exemplo, da formação da lisil-oxidase, enzima que liga subunidades de colágeno em formas de proteína madura para aumentar a sua força (RUCKER et al., 1998). Esta enzima atua adicionando um grupo hidroxila aos resíduos de lisina no colágeno, possibilitando as ligações cruzadas entre as fibras que dão rigidez e elasticidade à proteína estrutural. A lisil-oxidase também liga a proteína estrutural elastina, que é encontrada no tecido conjuntivo, principalmente no sistema cardiovascular, intestinos, e outros tecidos que mudam de tamanho em consequência do enchimento destes órgãos. Devido ao seu papel na ligação do colágeno, o cobre promove força à pele, osso, tendão e intestino (MCDOWELL, 1992).

Ele também atua nas enzimas citocromo-oxidase, oxidase terminal na cadeia respiratória, que catalisa a redução de oxigênio (O_2) para água, passo essencial na respiração celular e na superóxido dismutase que protege as células dos efeitos tóxicos no metabolismo do oxigênio. Embora, devido à atuação na superóxido dismutase, ele tenha influência no sistema de defesa antioxidante, ele também pode agir de forma pró-oxidante uma vez que os íons Cu são ativamente oxidados e reduzidos, podendo catalisar a formação de radicais hidroxila, o que pode levar à peroxidação lipídica (BREMNER, 1998).

A maior parte do cobre presente no plasma de mamíferos está na forma de ceruloplasmina, sendo o carreador específico, que exporta cobre do fígado para os órgãos alvos. O fígado é o órgão central do seu metabolismo, e a concentração deste mineral depende do nível que está sendo ingerido, da fonte e do status nutricional do organismo (MCDOWELL, 1992). A concentração hepática deste elemento, na maior parte dos mamíferos, aumenta com a idade (DEL CLARO, 2007).

O nível adequado de cobre basal no suíno é de 5,25 µg/g no fígado, de 1,3 a 3,0 mg/L no soro sanguíneo, de 8 a 15 µg/g nos pelos e de 7 a 10 µg/g nos rins (YAGÜE, 2009). As necessidades fisiológicas básicas de cobre em suínos tornam necessárias alterações dietéticas com suplementação deste mineral em níveis que variam de acordo com a idade e fase de desenvolvimento do animal (JONDREVILLE et al., 2002). Contudo, estudos indicaram que os leitões têm maior necessidade de cobre, principalmente durante o período pós-desmame, e que a suplementação deste micromineral estaria relacionada à a uma melhor ingestão alimentar bem como a uma melhora fisiológica nos animais (BRAUDE, 1967; BUNCH et al., 1961; POULSEN et al.,1998.).

2.2 Metabolismo do cobre

2.2.1 Absorção

A absorção do cobre ocorre principalmente no duodeno e jejuno superior, e o fígado serve como o principal órgão de armazenamento deste mineral (LINDER & HAZEGH-AZAM, 1996). Alguns autores citam que a absorção já se inicia no estômago (NOBRE et al., 1995). Segundo Kim et al. (2008), os íons intracelulares de cobre são regulados por proteínas transportadoras e chaperonas que são responsáveis pela sua aquisição, distribuição intracelular e excreção, porém desconhece-se como esses mecanismos são afetados pela quantidade e fonte deste mineral em suínos.

Em animais recém-nascidos de todas as espécies sua absorção ocorre via pinocitose, onde ele é absorvido junto a um complexo proteico. Já o mecanismo preciso em animais adultos não está claramente compreendido (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Nos monogástricos o cobre geralmente é pouco absorvido, em animais jovens em torno de 15 a 30% e em animais adultos de 5 a 10%, sendo o duodeno o principal sítio de absorção (MCDOWELL, 1992), sendo que o nível de absorção é maior quando o animal apresenta deficiência do mineral (AOYAGY e BAKER, 1993).

A presença de fitatos, a forma química do cobre ingerido, a idade do animal e os altos níveis de cálcio, ferro, zinco, cádmio, prata, chumbo, e molibidênio, afetam acentuadamente a absorção, a retenção e a distribuição do cobre no organismo animal (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999; JENSEN et al., 1974). Aoyagy e Baker (1993), trabalhando com níveis e fontes diferentes deste mineral, observaram que o carbonato de cobre ($CuCO_3$) teve sua absorção prejudicada à medida que se elevavam os níveis na dieta. Deste modo, os autores sugeriram que a possível causa desta queda poderia estar relacionada a presença de contaminantes, principalmente zinco, ferro e magnésio.

A transferência do cobre absorvido para o sistema porta é facilitado por uma ligação com a albumina, no fígado ele sofre dois processos sendo eles a ligação com a glutationa e posteriormente ligação com a metalotionina, a qual então é dividida para três finalidades diferentes: secreção biliar, síntese de ceruloplasmina e estocagem (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999).

O cobre no fígado, quando em níveis adequados, é liberado para ser incorporado na globulina ceruloplasmina, nos aminoácidos do soro, na albumina, na eritrocupreína e nas inúmeras enzimas que contém este elemento (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). A ceruloplasmina é sintetizada no fígado e secretada na corrente sanguínea. Cada molécula de ceruloplasmina retém 6 átomos de Cu, e cerca de 90 a 96% do total deste mineral do soro está ligado a esta globulina (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999), sendo a principal proteína carreadora de Cu no soro, exercendo papel fundamental em seu metabolismo. A albumina, também carreadora de cobre, é responsável pelo transporte dos 10% restantes presentes no soro (KOH et al., 1996).

2.2.2 Excreção

O fígado proporciona a principal rota de excreção do cobre via sistema biliar, para consequentemente ser eliminado nas fezes. Somente pequena quantidade de cobre biliar pode ser reabsorvida (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Porém em aves, Aoyagy e Baker (1993), citam que o cobre biliar se torna indisponível para reabsorção.

No fígado, a tioneína foi identificada como a maior proteína que se liga a este elemento, ela consiste numa sequência de aminoácidos que varia de espécie para espécie, podendo se ligar tanto ao íon Zn como ao íon Cu para formar a metalotioneína (RICHARDS, 1989). A metalotioneína controla e mantém o cobre em níveis normais e compatíveis ao requerimento celular, à medida que a concentração de cobre nas células hepáticas se eleva, alcança-se um limite crítico acima do qual é considerado excessivo, este excesso induz a síntese de tioneína, que ligada ao íon Cu, formará a metalotioneína, diminuindo assim a quantidade de íons livres no fígado (RICHARDS, 1989). Níveis altos deste micro mineral no fígado pode ser incorporado nas mitocôndrias, nos lisossomos, nos núcleos e na fração solúvel das células parenquimáticas (THIERS & VALEE, 1957), mas é principalmente nos lisossomos que a metalotioneína é armazenada e degradada (RICHARDS, 1989).

Em sua revisão Bremner (1987), cita que após o armazenamento do Cu nos lisossomos, as células hepáticas ficam protegidas de seu efeito tóxico e são os lisossomos que desencadeiam o mecanismo principal de eliminação do Cu via sistema biliar.

2.2.3 Interação de cobre com outros minerais

Durante o processo de absorção ocorrem interações do cobre com outros minerais, principalmente com o zinco. A absorção de cobre depende de um transportador, porém o zinco tem alta afinidade por ele, portanto altos níveis de zinco na dieta podem causar deficiência de Cu devido a sua baixa absorção (ZHAO et al., 2008). O molibdênio é outro mineral que compete com o Cu, e quando há grande ingestão de molibdênio há maior necessidade de suplementação de Cu (LEESON E SUMMERS, 2001).

Há também evidências do antagonismo do cobre com os minerais ferro, prata, cálcio, enxofre, cádmio e chumbo (UNDERWOOD, 1977). Concentrações excessivas de um desses elementos poderão resultar na deficiência dos demais (NRC, 1998).

Interação tripla entre cálcio, zinco e cobre foi citada por Underwood & Suttle (1999), o qual destacou que excesso de cálcio reduz a disponibilidade de zinco e consequentemente intensifica a possibilidade de toxidez por cobre em rações de suínos.

O cobre ainda tem íntima relação com o metabolismo do ferro, favorecendo a sua absorção e reabsorção na mucosa intestinal. Favorece o transporte de ferro para os tecidos via ceruloplasmina, a qual é indispensável para sua oxidação à forma férrica, permitindo que este se ligue a transferrina e seja transportado e armazenado na forma de ferritina (MCDOWELL, 1992).

2.3 Fontes de cobre

Historicamente o cobre tem sido suplementado na dieta dos animais na forma de sais inorgânicos como os óxidos e sulfatos. De acordo com Pontes & Llobet (1995), as utilizações de fontes inorgânicas de cobre são consideradas como o melhor meio de suplementar o aporte natural dos alimentos, uma vez que sua disponibilidade é boa. No entanto, esses sais tendem a se dissociar em pH baixo como é o caso do pH no início do intestino delgado, deixando os minerais susceptíveis a vários nutrientes e ingredientes antagônicos que comprometem sua absorção e assim reduzem sua biodisponibilidade (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Além disso, o ácido fítico é capaz de formar complexos com quantidades muito pequenas de minerais, entre eles o cobre, que são muito estáveis e altamente insolúveis, tornando-os indisponíveis para absorção (LEESON e SUMMERS, 2001).

O número de fontes de cobre encontradas comercialmente é extensa, dentre estas, destacam-se o óxido de cobre; carbonato de cobre; sulfato de cobre mono hidratado,

sulfato de cobre penta hidratado, cloreto de cobre tri-básico e fontes orgânicas de cobre, sendo os três últimos os mais amplamente utilizados.

2.3.1 Sulfato de cobre penta hidratado

O sulfato de cobre penta hidratado é a fonte mais utilizada como suplemento nutricional e também como melhorador de desempenho devido ao seu baixo custo e desempenho satisfatório (CROMWELL et al., 1998). O sulfato de cobre ($CuSO_4$) é higroscópico e muito solúvel em água e ácido (MILES et al., 1998). Apesar de sua ampla aplicação, o íon Cu pode atuar como um pró-oxidante em dietas e também no corpo.

2.3.2 Cloreto de cobre tri-básico

O cloreto de cobre tri-básico (TBCC) vêm sendo bastante estudado, é uma forma mais concentrada do que o sulfato de cobre, possui aproximadamente 58% de cobre contra 25% do sulfato de cobre. Estas fontes se diferenciam enormemente em suas características químicas, sendo o $CuSO_4$ higroscópico, muito solúvel em água e ácido e o TBCC não é higroscópico e pouco solúvel em água mas solúvel em meios ácidos (Miles et al., 1998). Assim, devido a suas características, o TBCC é uma forma menos reativa e menos destrutiva de cobre, quando junto com vitaminas em misturas de suplementos e dietas.

Em estudo para avaliar a eficácia do TBCC como uma fonte de Cu em níveis farmacológicos na dieta de leitões desmamados, Cromwell et al. (1998), concluíram que TBCC é uma fonte eficaz de Cu quando incluídas em rações de suínos recém-desmamados. Estudo realizado por Miles et al., (1998), demonstraram que as dietas de aves suplementadas com $CuSO_4$ apresentaram maior atividade pró-oxidante durante o armazenamento quando comparadas com aquelas suplementadas com TBCC. Dessa forma, a baixa solubilidade, a redução da reatividade e natureza menos corrosiva do TBCC, em comparação com $CuSO_4$, juntamente com a sua maior concentração de cobre, torna o TBCC uma importante fonte alternativa deste micro mineral para leitões recém-desmamados (CROMWELL et al., 1998).

2.3.3 Cobre orgânico

Nos últimos anos, uma nova questão que vem sendo levantada no meio científico, a qual diz respeito à poluição ambiental; decorrente do excesso de cobre presente nas

fezes de animais alimentados com altos níveis dietéticos deste mineral. Devido a isto, estudos têm sido desenvolvidos na busca de fontes mais solúveis como os minerais orgânicos Cu-lisina (ZHOU et al., 1994a; APGAR et al., 1995) ou histidinato de lisina (ZHOU et al., 1994b), que possam promover sistematicamente, melhora no desempenho dos animais e, ao mesmo tempo, redução na deposição do cobre no meio ambiente.

Os minerais orgânicos (quelatados) são definidos por Leeson e Sumers (2001) como sendo uma mistura de elementos minerais que são ligados a algum tipo de carreador que pode ser um aminoácido ou um polissacarídeo que possuem capacidade de ligar o metal por ligações covalentes através de grupamentos aminos ou oxigênio, formando assim uma estrutura cíclica. Esses minerais geralmente possuem preços mais elevados que os minerais inorgânicos, mas espera-se que apresentem mais benefícios quando comparados com minerais inorgânicos.

Em relação à biodisponibilidade do cobre orgânico Baker et al. (1991), observaram um aumento na biodisponibilidade desse mineral quando comparado a fontes inorgânicas através de um estudo do total de cobre acumulado no fígado. Aoyagi e Baker (1993), também demonstraram uma melhor biodisponibilidade do Cu na forma orgânica, principalmente devido ao fato da molécula do quelato proteger o mineral contra interações com outras substâncias como: L-cisteína e glutationa reduzida, que são capazes de reduzir sua absorção no intestino. Ainda Lee et al. (2001), observaram um aumento na concentração sanguínea de Cu e Zn em suínos jovens e frangos de corte, bem como uma diminuição na concentração desses minerais nas fezes dos animais quando foram utilizadas fontes quelatadas dos minerais nas rações, concluindo assim que a suplementação com fontes orgânicas são mais biodisponíveis e podem ser suplementadas em menores concentrações nas dietas quando comparadas a suplementação com fontes inorgânicas.

2.4 Níveis nutricionais do cobre

Para suínos a recomendação de suplementação de cobre segundo a NRC (1998) é de 5 a 6 ppm para todas as fases, enquanto Rostagno et al. (2011), sugere suplementar de 6 a 13 ppm. Porém alguns autores afirmam que em condições normais, as dietas de aves e suínos não requerem suplementação deste mineral (MCDOWELL, 1992; UNDERWOOD & SUTTLE, 1999; NRC, 1998). Porém, na indústria suína, o cobre é normalmente adicionado em concentrações farmacológicas (geralmente 150-250mg/kg) à dietas de leitões desmamados durante 35 dias ou mais para atuar como promotor de crescimento (HEDEMANN et al., 2014; FRY et al., 2012).

2.5 Sintomas de deficiência e toxicidade

O cobre está envolvido em funções essenciais relacionadas com o metabolismo, desenvolvimento e integridade celular, por isso sua deficiência provoca vários sintomas fisiológicos (MCDOWELL, 2003; SUTTLE, 2010).

Segundo Nunes (1998), a deficiência deste micromineral promove menor resistência às doenças, seja por redução da capacidade imunológica do animal ou por alterações da função leucocitária.

Anemia é uma expressão comum da deficiência de cobre em todas as espécies (causada pela não utilização do ferro), quando a deficiência é severa ou prolongada (BAUMGARTNER et al., 1978). Contudo, McNaughton e Day (1979), observaram que a deficiência deste mineral é uma causa indireta pois o baixo nível de Cu na dieta causa diminuição da utilização de ferro, elemento indispensável na síntese de hemoglobina no sangue.

A carência de Cu no fígado é acompanhada de perda na atividade de ceruloplasmina, que é cobre dependente (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999), o que leva a deficiência deste micro mineral para os demais tecidos.

A deficiência de cobre leva a uma pobre mobilização do ferro; hematopoiese anormal; e baixa queratinização e síntese de colágeno, elastina e mielina. A falta deste mineral afeta também a enzima citocromo C oxidase, a qual catalisa a reação de transformação de oxigênio até água, uma etapa fundamental no metabolismo celular (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Foram observadas falhas reprodutivas em mamíferos com deficiência deste elemento. A deficiência de cobre altera também a resposta imune em humanos e animais (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Alguns estudos têm demonstrado que sua carência influencia o metabolismo de lipídeos, resultando em elevado nível de triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol no soro de ratos (MCDOWELL,1992)

O cobre também pode ser tóxico quando se encontra em níveis superiores a 250 ppm na dieta e quando fornecido por longos períodos (NRC, 1998). Sinais de toxidez incluem baixos níveis de hemoglobina e icterícia, os quais são resultados do acúmulo excessivo deste mineral no fígado e outros órgãos vitais. Fatores como baixos níveis de zinco e ferro ou altos níveis de cálcio na dieta aumentam o risco de intoxicação por cobre (NRC, 1998).

2.6 O cobre como melhorador de desempenho

O cobre, como elemento químico, exibe característica de melhorar o desempenho animal quando em níveis acima dos exigidos nutricionalmente. Apesar da exigência de cobre dos suínos estar entre 5 a 13 ppm, estudos têm demonstrado que a suplementação de cobre a 100 a 250 ppm, aumenta o crescimento e a ingestão de alimentos em suínos (CROMWELL et al., 1998; ARMSTRONG et al., 2004, FRY et al., 2012).

Fornecimento de quantidades de cobre superiores às recomendações nutricionais para aves e suínos (125 – 250 ppm), são empregados apenas quando se deseja que o elemento atue como melhorador de desempenho ou como agente antimicrobiano (MCDOWELL, 1992).

A partir da década de 50, os pesquisadores já mostravam a eficiência do sulfato de cobre como agente melhorador de desempenho, quando utilizado em níveis de 125 a 250 ppm na dieta (BARBER et al.,1955; BUNCH et al., 1961; HAWBAKER et al., 1961). Por outro lado, diversos estudos têm demonstrado que a eficácia do cobre é dependente da solubilidade da fonte, assim como sua disponibilidade biológica. Desta forma, têm-se observado variações no desempenho dos animais em função da fonte de Cu utilizada (LIMA E MIYADA, 2003).

Para leitões desmamados, uma grande variedade de estudos indica que o desempenho dos animais é aumentado quando o cobre dietético é suplementado acima da exigência do NRC (1998) de 5 mg/kg da dieta (Armstrong et al., 2004). No entanto, os mecanismos responsáveis por esta resposta farmacológica ainda não são totalmente claros. São várias as teorias que procuram mostrar o modo de ação do cobre como agente melhorador de desempenho. Bunch (1961), cita a ação antimicrobiana ou modificadora da flora microbiana do trato gastrintestinal. Além disso, alguns trabalhos (Zhou et al., 1994 a, b; Apgar et al., 1995) têm sugerido que o cobre pode ter uma ação metabólica ou sistêmica na promoção do crescimento de leitões recém desmamados. A utilização de Cu como melhorador de desempenho pode ser justificada pelo seu baixo custo em relação à maioria dos outros promotores de crescimento, principalmente os antibacterianos encontrados no mercado.

Veum et al. (2004), trabalharam com cobre em dietas de leitões recém-desmamados e demonstraram ação melhoradora de desempenho, especialmente na forma de sulfato, em níveis entre 100 ppm a 250 ppm.

Já Lima e Miyada (2003), estudando a utilização de cobre orgânico e inorgânico como promotores de crescimento para leitões recém-desmamados, concluíram que as fontes e os níveis de cobre estudados não foram eficientes como promotores do

crescimento de leitões desmamados aos 21 dias de idade. Ainda segundo os autores, um dos motivos da não detecção de diferenças significativas entre os tratamentos, tenha sido a maior digestibilidade das dietas utilizadas, uma vez que, quanto maior a digestibilidade da dieta, menor pode ser o efeito do cobre como agente promotor do crescimento de leitões.

Alguns trabalhos indicam que a concentração e tipo de fonte de cobre adicionado também afetam a resposta no desempenho. Cromwell et al. (1989), observaram uma resposta curvilínea no ganho de peso ao aumentar as concentrações de cobre dietético a partir de sulfato de cobre e com base no ponto de inflexão calculada, a maior resposta foi a 242ppm. Estudos adicionais demonstraram que a quantidade ideal de cobre adicionado a partir da fonte de sulfato de cobre para promover o crescimento situa-se entre 125 e 250 mg/kg (STAHLY et al, 1980; ROOF e MAHAN, 1982; COFFEY et al., 1994).

Óxido de cobre adicionada a 125 ou 250 mg/kg não desencadeia uma resposta de crescimento (CROMWELL et al., 1989); No entanto, um complexo de cobre-lisina (Cu-Lis) tem mostrado respostas de crescimento semelhantes quando comparado com fontes sulfato (COFFEY et al 1994;.. APGAR et al., 1995). Usando concentrações hepáticas como os critérios de resposta, Apgar (1995), determinaram que a absorção a partir do complexo Cu-Lis foi semelhante ao sulfato. Cromwell et al. (1998), também observaram comportamento semelhante em leitões recém-desmamados que foram suplementados com Cu a partir de TBCC ou $CuSO_4$ e concluíram que, sob algumas condições, cobre a partir de CuSO4, complexo de Cu-lis ou TBCC podem ser adicionados a rações de suínos para promover o crescimento.

Segundo Edmonds et al. (1985), a resposta de crescimento do cobre em leitões jovens independe e é adicional a resposta de outros agentes antibacterianos. Em concordância com isso, Stahly et al. (1980), agrupou resultados de quatro ensaios comparando o uso de CuSO4 e suplementação de antibiótico e determinaram que o efeito da suplementação de cobre foi independente da resposta a antibióticos promotores de crescimento.

Cromwell et al. (1993), verificaram que a alimentação contínua de altos níveis de cobre durante mais de 6 ciclos reprodutivos (gestação e lactação) não afetou o desempenho reprodutivo das fêmeas apesar do significante aumento na concentração deste elemento no fígado e nos rins, e o peso ao nascimento e a desmama foram maiores em leitões de porcas alimentadas com níveis elevados. Porém outros estudos no qual cobre foi fornecido durante final da gestação e lactação (THACKER, 1991) ou durante a lactação (DOVE, 1993) não obtiveram resposta à adição de cobre em leitões lactentes.

2.7 Cobre e a saúde intestinal de leitões

Após o desmame, está comprovado que ocorre uma atrofia das vilosidades do intestino delgado dos leitões (HAMPSON, 1986, HEDEMANN et al., 2003) e uma diminuição da atividade de enzimas digestivas no tecido pancreático (HEDEMANN e JENSEN , 2004).

Acredita-se que a suplementação com Zn e Cu na dieta de suínos pode promover os processos de reparo no tecido do intestino delgado e estimular a síntese de enzimas digestivas, resultando em uma melhor digestão e absorção de nutrientes e potencialmente melhorar o desempenho (HEDEMANN et al., 2014). Os efeitos promotores do crescimento de Zn e Cu foram atribuídos aos efeitos sobre a microflora intestinal (KATOULI et al., 1999; HØJBERG et al., 2005). A microflora interage com a camada de muco que cobre o trato gastrointestinal (DEPLANCKE e GASKINS, 2001), e qualquer alteração na microflora pode afetar a camada de muco. Acredita-se que a camada de muco desempenhe um papel importante na proteção contra doenças infecciosas (FORSTNER, 1978) e, portanto, o efeito de Zn e Cu na diarreia pós-desmama estaria relacionado com alterações na camada de muco.

Efeitos relatados do cobre sobre a microbiota gastrointestinal são escassos e baseiam-se principalmente em análises de amostras fecais. Fuller et al. (1960) estudando a inclusão de $CuSO_4$ na dieta de suínos relataram redução do número de estreptococos em amostras fecais. Varel et al. (1987), avaliando o efeito da inclusão desta mesma fonte de cobre na alimentação de suínos sob a microbiota do intestino grosso, concluiram que sua inclusão reduziu o número de grupos de bactérias ureolíticas, dos quais os estreptococos constituem aproximadamente 75% do total. O número de lactobacilos também diminuiu em suínos alimentados com dietas com enriquecidas em cobre (JENSEN, 1998; KELLOGG et al., 1964), enquanto que os Coliformes permanecem inalterados ou tendem a aumentar em número (FULLER et al., 1960; JENSEN, 1998).

3 MATERIAIS E METODOS

3.1 Local e Instalações

O experimento foi realizado na unidade de creche pertencente ao Núcleo de Pesquisa em Suínos (NPS), junto ao Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Campus de

Pirassununga, Universidade de São Paulo, durante o período de 14 de maio a 23 de julho de 2015.

A unidade de creche na qual o experimento foi conduzido (Figura 1) é constituída por três salas idênticas, todas providas de sistema de aquecimento a gás central suspenso e cortinas ajustáveis para controle do ambiente. Cada sala é composta por 16 baias suspensas de alvenaria com piso parcialmente ripado, comedouro semiautomático e bebedouro tipo chupeta, com metragem de 1,2 m²/4 animais. As baias são suspensas a 0,4 m do chão, sobre um fosso responsável pela coleta dos dejetos e água excedentes, os quais em seguida são encaminhados para a rede de esgoto. Os restos de ração foram coletados a cada 2 dias para possibilitar o cálculo de consumo de ração de forma precisa.

Figura 1. Instalação de creche do Núcleo de Pesquisa de Suínos (VNP/USP)

Fonte: Própria autoria.

3.2 Animais e distribuição entre os tratamentos

Para a realização do experimento foram utilizados 96 leitões de linhagem comercial, desmamados com idade média de 21 dias e peso médio de 6,14 ± 0,269 kg. A distribuição dos animais entre os tratamentos se deu em três grupos de desmame distintos, os quais tiveram intervalos de quinze dias entre si, sendo que cada grupo formava 2 repetições de cada tratamento, totalizando assim, 6 repetições ao final do terceiro grupo de desmame. No desmame, os animais foram brincados e pesados individualmente para serem distribuídos entre os tratamentos conforme o peso médio de desmame. Assim, os leitões foram divididos em 24 baias, sendo que cada unidade experimental foi composta por 4 animais (Figura 2).

Durante todo o período experimental a temperatura máxima e mínima ambiente das salas foi registrada com auxílio de termômetro. Esta aferição teve por objetivo, além do controle diário para oferecer ambiência adequada aos animais, proporcionar dados para comparação da ocorrência de dias com diarreia com alterações bruscas na temperatura.

Figura 2. Leitões instalados na unidade de creche.

Fonte: Própria autoria.

3.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 (2 níveis de suplementação e 2 fontes de cobre), com doze repetições por fator. Os blocos foram determinados pelo grupo de desmame. A baia foi a unidade experimental para os dados de desempenho zootécnico, enquanto que o leitão foi a unidade experimental para as avaliações morfométricas do intestino.

Sendo os tratamentos (T) empregados:

T 1: Sulfato de Cobre 125ppm ($CuSO_4$125)

T 2: Cloreto de Cobre 125ppm (TBCC125)

T 3: Sulfato de Cobre 200ppm ($CuSO_4$200)

T 4: Cloreto de Cobre 200ppm (TBCC200)

O experimento foi conduzido no período pós desmame quando os animais foram alimentados com 4 tipos de rações de acordo com a idade, sendo elas: Fase 1 (21-27dias), fase 2 (28 a 34 dias), sendo nessas duas primeiras fases foram adicionados 2500 ppm de zinco (via óxido de zinco) para prevenir a ocorrência de diarreia fisiológica,

fase 3 (35 a 49 dias) e fase 4 (50 a 63 dias de vida). Em cada troca de ração fez-se a pesagem individual de todos os animais e verificou-se o consumo de ração.

3.4 Manejo alimentar

A ração base proposta foi formulada com os principais ingredientes milho, farelo de soja, soro de leite em pó e suplemento vitamínico e mineral, calculadas para serem isonutritivas. As inclusões dos produtos teste ($CuSO_4$ e TBCC) foram substituídos por um inerte (caulim) para ajuste dos níveis de cálcio da ração para todos os demais tratamentos.

Os animais receberam alimento farelado *ad libitum* em comedouros semiautomáticos, os quais foram verificados 4 vezes ao dia. As dietas experimentais estão apresentadas nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

Tabela 1 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm ($CuSO_4$125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm ($CuSO_4$200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 1 (21 a 27 dias de vida).

Ingrediente (%)	Tratamentos			
	CuSO4125	**TBCC125**	**CuSO4200**	**TBCC200**
Milho moído	48,500	48,500	48,500	48,500
Farelo de soja 46%	19,000	19,000	19,000	19,000
Soro de leite	18,630	18,630	18,630	18,630
Leite em pó integral	2,000	2,000	2,000	2,000
Óleo de soja degomado	2,290	2,290	2,290	2,290
Plasma bovino	4,200	4,200	4,200	4,200
Açúcar extra fino	2,000	2,000	2,000	2,000
Fosfato monobicálcico 20%	1,570	1,570	1,570	1,570
L-lisina HCL 78%	0,420	0,420	0,420	0,420
DL-metionina	0,360	0,360	0,360	0,360
L-treonina 98%	0,290	0,290	0,290	0,290
L-triptofano 99%	0,090	0,090	0,090	0,090
L-valina 96%	0,040	0,040	0,040	0,040
Sulfato de cobre	0,050	0,000	0,080	0,000
Cloreto de cobre	0,000	0,023	0,000	0,037
Premix vitamínico mineral[1]	0,500	0,500	0,500	0,500
Inerte	0,060	0,087	0,030	0,073
TOTAL (%)	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis Calculados				
EM (kcal/kg)	3450,000	3450,000	3450,000	3450,000
PB (%)	18,415	18,415	18,415	18,415
Ca (%)	0,550	0,550	0,550	0,550
P.disp (%)	0,569	0,569	0,569	0,569
Lis dig (%)	1,270	1,270	1,270	1,270
Lis/M+C dig (%)	0,643	0,643	0,643	0,643
Lis/Treo dig (%)	0,703	0,703	0,703	0,703
Lis/Trip dig (%)	0,210	0,210	0,210	0,210
Na (%)	0,362	0,362	0,362	0,362
Cu adicionado (mg/kg)	125	125	200	200

[1] Premix vitamínico mineral (níveis na ração final): Ácido Fólico (3,20 mg/kg), Ácido Pantotênico (18,00 mg/kg), Biotina (0,20 mg/kg), Cobalto (0,10 mg/kg), , Colina 562,50 (mg/kg), Ferro 125,00 (mg/kg), Iodo (1,20 mg/kg), Manganês (48,00 mg/kg), Niacina (38,00 mg/kg), Selênio (0,50mg/kg), Tiamina (3,00 mg/kg), Vitamina A (20.250,00 UI/kg), Vitamina B12 (46,50 mcg/kg), Vitamina B2 (7,30 mg/kg), Vitamina B6 (4,00 mg/kg), Vitamina C (400,00 mg/kg), Vitamina D3 (5.265,00 UI/kg), Vitamina E (150,00 UI/kg), Vitamina K3 (5,26 mg/kg), Zinco (2.500,00 mg/kg).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 2 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm ($CuSO_4$125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm ($CuSO_4$200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 2 (28 a 34 dias de vida).

Ingrediente (%)	Tratamentos			
	$CuSO_4$125	**TBCC125**	**$CuSO_4$200**	**TBCC200**
Milho	52,400	52,400	52,400	52,400
Farelo de soja 46%	25,000	25,000	25,000	25,000
Soro de leite	12,460	12,460	12,460	12,460
Leite em pó integral	2,520	2,520	2,520	2,520
Óleo de soja degomado	0,840	0,840	0,840	0,840
Plasma bovino	1,500	1,500	1,500	1,500
Açúcar extra fino	2,000	2,000	2,000	2,000
Calcário	0,610	0,610	0,610	0,610
Fosfato monobicálcico 20%	0,860	0,860	0,860	0,860
Sal	0,400	0,400	0,400	0,400
L-lisina HCL 78%	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-metionina	0,250	0,250	0,250	0,250
L-treonina 98%	0,150	0,150	0,150	0,150
L-triptofano 99%	0,030	0,030	0,030	0,030
L-valina 96%	0,070	0,070	0,070	0,070
Sulfato de cobre	0,050	0,000	0,080	0,000
Cloreto de cobre	0,000	0,023	0,000	0,037
Premix vitamínico mineral[1]	0,500	0,500	0,500	0,500
Inerte	0,060	0,087	0,030	0,073
TOTAL (%)	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis Calculados				
EM (kcal/kg)	3400,000	3400,000	3400,000	3400,000
PB (%)	19,030	19,030	19,030	19,030
Ca (%)	0,622	0,622	0,622	0,622
P.disp (%)	0,493	0,493	0,493	0,493
Lis dig (%)	1,170	1,170	1,170	1,170
Lis/M+C dig (%)	0,620	0,620	0,620	0,620
Lis/Treo dig (%)	0,650	0,650	0,650	0,650
Lis/Trip dig (%)	0,180	0,180	0,180	0,180
Na (%)	0,358	0,358	0,358	0,358
Cu adicionado (mg/kg)	125	125	200	200

[1] Premix vitamínico mineral (níveis na ração final): Ácido Fólico (3,20 mg/kg), Ácido Pantotênico (18,00 mg/kg), Biotina (0,20 mg/kg), Cobalto (0,10 mg/kg), , Colina 562,50 (mg/kg), Ferro 125,00 (mg/kg), Iodo (1,20 mg/kg), Manganês (48,00 mg/kg), Niacina (38,00 mg/kg), Selênio (0,50mg/kg), Tiamina (3,00 mg/kg), Vitamina A (20.250,00 UI/kg), Vitamina B12 (46,50 mcg/kg), Vitamina B2 (7,30 mg/kg), Vitamina B6 (4,00 mg/kg), Vitamina C (400,00 mg/kg), Vitamina D3 (5.265,00 UI/kg), Vitamina E (150,00 UI/kg), Vitamina K3 (5,26 mg/kg), Zinco (2.500,00 mg/kg).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 3 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm ($CuSO_4$125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm ($CuSO_4$200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 3 (35 a 49 dias de vida).

Ingrediente (%)	Tratamentos			
	$CuSO_4$125	**TBCC125**	**$CuSO_4$200**	**TBCC200**
Milho moído	61,730	61,730	61,730	61,730
Farelo de soja 46%	30,000	30,000	30,000	30,000
Óleo de soja degomado	1,180	1,180	1,180	1,180
Açúcar extra fino	2,000	2,000	2,000	2,000
Farinha de peixe 55%	2,200	2,200	2,200	2,200
Calcário	0,410	0,410	0,410	0,410
Fosfato monobicálcico 20%	0,690	0,690	0,690	0,690
Sal	0,570	0,570	0,570	0,570
L-lisina HCL 78%	0,280	0,280	0,280	0,280
DL-metionina	0,190	0,190	0,190	0,190
L-treonina 98%	0,120	0,120	0,120	0,120
L-triptofano 99%	0,020	0,020	0,020	0,020
Sulfato de cobre	0,050	0,000	0,080	0,000
Cloreto de cobre	0,000	0,023	0,000	0,037
Premix vitamínico mineral[1]	0,500	0,500	0,500	0,500
Inerte	0,060	0,087	0,030	0,073
TOTAL (%)	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis Calculados				
EM (kcal/kg)	3380,000	3380,000	3380,000	3380,000
PB (%)	19,822	19,822	19,822	19,822
Ca (%)	0,600	0,600	0,600	0,600
P.disp (%)	0,442	0,442	0,442	0,442
Lis dig (%)	1,120	1,120	1,120	1,120
Lis/M+C dig (%)	0,610	0,610	0,610	0,610
Lis/Treo dig (%)	0,630	0,630	0,630	0,630
Lis/Trip dig (%)	0,180	0,180	0,180	0,180
Na (%)	0,260	0,260	0,260	0,260
Cu adicionado (mg/kg)	125	125	200	200

[1] Premix vitamínico mineral (níveis na ração final): Ácido Fólico (3,20 mg/kg), Ácido Pantotênico (18,00 mg/kg), Biotina (0,20 mg/kg), Cobalto (0,10 mg/kg), , Colina 562,50 (mg/kg), Ferro 125,00 (mg/kg), Iodo (1,20 mg/kg), Manganês (48,00 mg/kg), Niacina (38,00 mg/kg), Selênio (0,50mg/kg), Tiamina (3,00 mg/kg), Vitamina A (20.250,00 UI/kg), Vitamina B12 (46,50 mcg/kg), Vitamina B2 (7,30 mg/kg), Vitamina B6 (4,00 mg/kg), Vitamina C (400,00 mg/kg), Vitamina D3 (5.265,00 UI/kg), Vitamina E (150,00 UI/kg), Vitamina K3 (5,26 mg/kg), Zinco (150,00 mg/kg).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 4 - Composição nutricional e centesimal da dieta com sulfato de cobre a 125ppm ($CuSO_4$125), cloreto de cobre a 125ppm (TBCC125), sulfato de cobre a 200ppm ($CuSO_4$200), cloreto de cobre a 200ppm (TBCC200) relativas à fase 4 (50 a 63 dias de vida).

Ingrediente (%)	Tratamentos			
	CuSO4125	**TBCC125**	**CuSO4200**	**TBCC200**
Milho moído	66,265	66,265	66,265	66,265
Farelo de soja 46%	30,000	30,000	30,000	30,000
Óleo de soja degomado	0,700	0,700	0,700	0,700
Cloreto de colina 60%	0,080	0,080	0,080	0,080
Calcário	0,870	0,870	0,870	0,870
Fosfato monobicálcico 20%	0,620	0,620	0,620	0,620
Sal	0,470	0,470	0,470	0,470
L-lisina HCL 78%	0,200	0,200	0,200	0,200
DL-metionina	0,120	0,120	0,120	0,120
L-treonina 98%	0,060	0,060	0,060	0,060
L-triptofano 99%	0,005	0,005	0,005	0,005
Sulfato de cobre	0,050	0,000	0,080	0,000
Cloreto de cobre	0,000	0,023	0,000	0,037
Premix vitamínico mineral[1]	0,500	0,500	0,500	0,500
Inerte	0,060	0,087	0,030	0,073
TOTAL (%)	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis Calculados				
EM (kcal/kg)	3350,000	3350,000	3350,000	3350,000
PB (%)	19,850	19,850	19,850	19,850
Ca (%)	0,600	0,600	0,600	0,600
P.disp (%)	0,367	0,367	0,367	0,367
Lis dig (%)	1,050	1,050	1,050	1,050
Lis/M+C dig (%)	0,610	0,610	0,610	0,610
Lis/Treo dig (%)	0,620	0,620	0,620	0,620
Lis/Trip dig (%)	0,180	0,180	0,180	0,180
Na (%)	0,200	0,200	0,200	0,200
Cu adicionado (mg/kg)	125	125	200	200

[1] Premix vitamínico mineral (níveis na ração final): Ácido Fólico (3,20 mg/kg), Ácido Pantotênico (18,00 mg/kg), Biotina (0,20 mg/kg), Cobalto (0,10 mg/kg), , Colina 562,50 (mg/kg), Ferro 125,00 (mg/kg), Iodo (1,20 mg/kg), Manganês (48,00 mg/kg), Niacina (38,00 mg/kg), Selênio (0,50mg/kg), Tiamina (3,00 mg/kg), Vitamina A (20.250,00 UI/kg), Vitamina B12 (46,50 mcg/kg), Vitamina B2 (7,30 mg/kg), Vitamina B6 (4,00 mg/kg), Vitamina C (400,00 mg/kg), Vitamina D3 (5.265,00 UI/kg), Vitamina E (150,00 UI/kg), Vitamina K3 (5,26 mg/kg), Zinco (150,00 mg/kg).

Fonte: Própria autoria.

3.5 Manejo sanitário

Durante o período de permanência dos animais nas instalações, foi realizada uma rotina diária de limpeza. Além disso, aos 35 dias de idade os animais receberam uma dose de reforço da vacina contra *Streptococcus suis* sorotipo 2 (Porcilis Strepsuis®, MSD Saúde Animal, São Paulo/SP), pela administração de 2mL da vacina pela via intramuscular na tábua de pescoço.

3.6 Avaliação de desempenho

O desempenho zootécnico dos leitões foi avaliado por meio do peso corporal (P, kg), aferido aos 21, 28, 35, 50 e 63 dias de idade. A partir dessa medida foi possível calcular o ganho de peso diário (GPDP, kg) e, foi avaliado também o consumo diário de ração (CDR, kg). Com esses parâmetros foi possível calcular a conversão alimentar (CA, kg de consumo/kg de ganho de peso). O consumo médio de ração diário dos leitões foi obtido pela diferença entre a dieta fornecida e a sobra, dividido pelo número de animais e o número de dias do período avaliado.

3.7 Incidência de diarreia

Foram avaliadas as incidências de diarreia entre os leitões dos diversos tratamentos durante todo o período experimental. Todos os dias, no período da manhã e no período da tarde, as fezes foram avaliadas visualmente e classificadas quanto à consistência pelo seguinte escore: 0 - fezes normais, 1 - fezes pastosas e 2 - fezes líquidas (Figura 3). A incidência de diarreia foi analisada por Qui-Quadrado de contingência quanto a positividade do animal para diarreia. Para a avaliação da diarreia, os animais foram avaliados individualmente, mas a unidade experimental foi a baia, considerando positivo para diarreia a baia com pelo menos um animal com escore 1 ou 2.

Figura 3. Escore fecal para leitões.

0- Fezes normais 1- Fezes pastosas 2- Fezes líquidas

Fonte: Própria autoria.

3.8 Avaliação morfométrica intestinal

Para avaliação da morfometria intestinal, ao final do período experimental foi selecionado um leitão de cada unidade experimental, com peso vivo próximo a média do peso da baia, totalizando 24 animais que foram abatidos no abatedouro escola da Universidade de São Paulo, em Pirassununga-SP (Figura 4), seguindo procedimentos de abate humanitário, os animais foram insensibilizados por meio de choque elétrico (eletronarcose) de alta voltagem e baixa amperagem, seguido por sangria de no mínimo três minutos.

Figura 4. Abate dos leitões ao final de 42 dias de experimento.

Equipamento de Insensibilização Animais abatidos

Fonte: Própria autoria.

Após o abate dos animais, foram colhidas amostras de aproximadamente três centímetros de comprimento do duodeno, jejuno e íleo, conforme pode ser observado na Figura 5. A porção do duodeno foi coletada aproximadamente a cinco centímetros do piloro, a porção do jejuno foi coletada a cerca de 20 centímetros de distância da

prega duodenocólica e o íleo foi coletado a 5 centímetros da junção ileocecal. Após a coleta, as amostras foram seccionadas em sua borda mesentérica, lavadas delicadamente com solução de cloreto de sódio a 9%, na sequência foram imediatamente identificadas e estendidas pela túnica serosa e mergulhadas em solução de formaldeído a 10%. Após 24 horas, os fragmentos foram transferidos para uma solução de álcool etílico a 70º GL, processo que inicia a fixação das amostras.

Figura 5. Coleta de fragmento do intestino delgado para avaliação morfométrica intestinal

Fonte: Própria autoria.

Após a fixação, os fragmentos foram incluídos em blocos de parafina, sendo mergulhados sequencialmente nas seguintes soluções: álcool etílico a 70º GL, álcool etílico a 90º GL, álcool absoluto I, álcool absoluto II, xilol I, xilol II, parafina I e parafina II, permanecendo uma hora em cada uma destas soluções.

Após a inclusão, os blocos foram resfriados por 24 horas em freezer a -20º C e então o corte foi realizado com cinco micrometros de espessura com auxílio de

micrótomo. Os cortes foram acomodados em lâminas para microscopia e encaminhadas a estufa onde permaneceram a aproximadamente 60º C por duas horas para a remoção do excesso de parafina.

Para a coloração os cortes foram desparafinados e desidratados, permanecendo por 10 minutos em xilol I e em seguida mais 10 minutos e xilol II e então foram mergulhados em álcool etílico 95º GL, álcool etílico 70º GL e água permanecendo por três minutos em cada uma destas soluções, nesta ordem. A coloração dos cortes foi realizada na sequência, para tanto estes foram mergulhados em hematoxilina por dois minutos e em seguida em eosina por 45 segundos, após este processo foram lavados em água corrente por dez minutos para remoção do excesso dos pigmentos.

Para a montagem das lâminas, os cortes já corados foram desidratados, sendo mergulhados nesta ordem por aproximadamente dez segundos em álcool etílico 95º GL, álcool absoluto I, álcool absoluto II, solução álcool etílico absoluto e xilol na proporção 1:1, xilol diafanizador e então os mesmos foram mergulhados em xilol montável. As lâminas e seus respectivos cortes foram retirados do xilol montável, realizou-se a secagem do excesso de xilol do verso das lâminas e então as lâminas foram colocadas sobre os cortes.

Os cortes foram examinados sob microscopia de luz, com o auxílio de um microscópio Nikon modelo Eclipse N*i*-U 80i® (Nikon Instruments Inc., Melville, NY), acoplado a câmera Nikon DigitalSight DS RI1® (Nikon Instruments Inc., Melville, NY) e para documentação das imagens e mensuração dos parâmetros analisados foi utilizado o *software* NIS Elements AR 4 13.01® (Nikon Instruments Inc., Melville, NY). As análises foram realizadas sob um aumento de 10x.

Foram efetuadas dez medidas de altura de vilosidade (AV) e dez medidas de profundidade de cripta (PC) para cada seguimento coletado, o que possibilitou a obtenção da relação (AV:PC). Para as medições utilizou-se somente vilosidades íntegras que foram medidas em sequência, procurou-se medir a profundidade de cripta próximas a essas vilosidades. A medida de altura de vilosidade foi tomada a partir da região basal, que coincide com a porção superior das criptas percorrendo a vilosidade longitudinalmente até o ápice. As criptas foram mensuradas da base até a região de transição cripta-vilosidade.

3.9 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (MINITAB 17, 2014), através do teste F a 5% de significância, sendo usado o seguinte modelo matemático: Yikj = k + Ai + Bj + (A*B)k + Eijk, onde cada variável dependente está em função da média de

todas as observações (K), efeito do nível de suplementação (Ai), efeito do tipo de fonte (Bj), efeito da interação entre nível de suplementação e fonte ((A*B) k) e efeito do erro aleatório (Eikj).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Temperatura

As médias das temperaturas mínimas e máximas das 3 salas da unidade de creche, estão representadas na Tabela 5. A temperatura ideal para leitões desmamados com idade média de 21 dias, situa-se próxima dos 24°C nas primeiras semanas de alojamento, e em torno de 20°C nas últimas, não devendo estar acima dos 31°C e abaixo dos 8°C nessa fase de criação (SILVA, 1999). Apesar da dificuldade na manutenção da temperatura constante dentro das salas, devido à ocorrência de baixas temperaturas durante o período de execução do experimento, as temperaturas internas se mantiveram próximas do preconizado.

Tabela 5 - Média das temperaturas (°C) mínimas e máximas das 3 salas da unidade de creche.

SALA	T mín (°C)	DP*	T máx (°C)	DP
1	19,1	±1,6	26,1	±1,7
2	18,0	±1,9	26,1	±2,0
3	18,6	±1,4	26,3	±1,6

*DP: Desvio-padrão

Fonte: Própria autoria

4.2 Desempenho dos leitões

O desempenho zootécnico dos animais foi avaliado através da aferição das variáveis peso, CDR, GPD, CA. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para essas variáveis nas 4 fases do período experimental. Na fase 1 (21-27 dias) não ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) para nenhuma das variáveis analisadas em decorrência dos tratamentos. No entanto, para os animais tratados com sulfato de cobre, houve uma tendência ($P < 0,10$) para melhor GPD e CA. E para os tratamentos com suplementação de 125ppm de cobre tenderam ($P< 0,10$) para melhor CDR, conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Desempenho de leitões alimentados com dois níveis (125 e 200 ppm) e duas fontes de cobre (sulfato e cloreto).

Item	NÍVEL			FONTE			Geral	SE
	125ppm	*200ppm*	***P valor***	*CuSO4*	*TBCC*	***P valor***		
21 - 27 dias de alojamento								
Peso Inicial (Kg)	6,1	6,1	0,975	6,1	6,1	0,984	6,1	
CDR (g/d)	173	150	0,094	167	157	0,448	162	0,01
GPD (g/d)	97	87	0,426	103	81	0,088	92	0,009
Peso Final (Kg)	6,8	6,7	0,951	6,7	6,9	0,526	6,8	0,158
CA	1,84	1,91	0,882	1,73	2,03	0,058	1,88	0,085
28 - 34 dias de alojamento								
CDR (g/d)	422	385	0,100	408	397	0,580	402	0,01
GPD (g/d)	340	323	0,312	335	328	0,692	332	0,008
Peso Final (Kg)	9,2	9,0	0,711	9,0	9,2	0,553	9,1	0,201
CA	1,21	1,2	0,718	1,22	1,20	0,548	1,21	0,024
35 - 49 dias de alojamento								
CDR (g/d)	706	710	0,862	718	697	0,432	708	0,014
GPD (g/d)	464	470	0,771	466	468	0,909	467	0,011
Peso Final (Kg)	15,7	15,6	0,890	15,5	15,7	0,726	15,6	0,31
CA	1,52	1,52	0,733	1,54	1,50	0,074	1,52	0,016
50 - 63 dias de alojamento								
CDR (g/d)	1091	1035	0,275	1057	1069	0,811	1063	0,028
GPD (g/d)	581	547	0,114	557	571	0,474	564	0,012
Peso Final (Kg)	23,8	23,2	0,511	23,5	23,5	0,986	23,5	0,45
CA	1,84	1,89	0,414	1,90	1,84	0,318	1,87	0,027

Fonte: Própria autoria.

Na fase 2 (28-34 dias) não ocorreu diferença significativa ($P \leq 0,05$) para nenhuma das variáveis analisadas em decorrência dos tratamentos. Nesta fase, os tratamentos recebendo níveis de 125ppm de cobre tenderam ($P \leq 0,10$) a ter um melhor CDR. O período de 14 dias após o desmame (21-34 dias) correspondente as fases 1 e 2 deste estudo é uma fase muito crítica em relação ao desempenho dos leitões e, pode ser o período em que estratégias de utilização de melhoradores de desempenho seja, normalmente, mais pronunciada (Menten, 1995). Neste período foram adicionados 2500 ppm de zinco (óxido de zinco) para prevenir a ocorrência de diarreia fisiológica. Considerando que elevados níveis de zinco podem afetar a resposta do Cu como agente promotor de crescimento, foi avaliado as fases 2 e 3 (35 a 63 dias) em que a inclusão do micromineral zinco atingiu apenas a exigência nutricional dos leitões.

Na fase 3 (35-49 dias) não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para CDR, GPD, peso e CA. Nesta fase, os tratamentos recebendo cobre via TBCC tenderam ($P< 0,10$) a ter uma melhor conversão alimentar. Na fase inicial 2 (50 a 63 dias) não ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) para nenhuma das variáveis analisadas em decorrência dos tratamentos.

Considerando o período experimental total (21 a 63 dias de idade) também não ocorreu diferença significativa (P < 0,05) para nenhuma das variáveis analisadas em decorrência dos tratamentos conforme os resultados apresentados na Tabela 7. Mesmo não tendo havido diferenças significativas (P < 0,05) entre os fatores dos tratamentos para as variáveis de desempenho, no período total do experimento, o GPD dos animais do tratamento com 125ppm de cobre foi numericamente superior em relação aos animais suplementados com 200ppm de cobre, proporcionando um peso final de aproximadamente 2,5% maior.

Tabela 7 - Desempenho de leitões alimentados com dois níveis (125 e 200 mg/kg) e duas fontes de cobre (sulfato e cloreto).

Descrição	**NÍVEL**			**FONTE**			*Geral*	*SE*
	125ppm	*200ppm*	***P valor***	*$CuSO_4$*	*TBCC*	***P valor***		
21 - 63 dias de alojamento								
Peso Inicial (Kg)	6,1	6,1	0,975	6,1	6,1	0,984	6,1	
CDR (g/d)	696	671	0,376	688	680	0,788	681	0,014
GPD (g/d)	421	407	0,355	414	414	0,989	412	0,008
Peso Final (Kg)	23,8	23,2	0,511	23,5	23,5	0,986	23,5	0,45
CA	1,66	1,65	0,860	1,66	1,64	0,602	1,65	0,015

Fonte: Própria autoria.

Os valores de CDR, GPD, peso e CA não foram afetados com a concentração de cobre na dieta nesse experimento, esses resultados vão de encontro com os obtidos por Huang et al. (2015) os quais não encontraram diferenças significativas para as variáveis de desempenho quando trabalharam com diferentes quantidades e fontes de cobre na dieta. Os autores ainda citam Hill e Spears, (2001) que é bem documentado que o fornecimento de cobre em quantidades farmacológicas (125 a 250ppm) geralmente aumenta o crescimento e o consumo em leitões desmamados, porém a ausência de resposta significativa pode ter ocorrido devido a curta duração do experimento e/ou ao número relativamente baixo de animais por tratamento. A fonte de cobre também não afetou as características de desempenho nesse estudo. Em contraste, outros estudos (Koustsos et al., 2011 ; Frye et al., 2012) observaram maior ganho de peso para animais que consumiram o TBCC comparados com os que receberam o mesmo nível de CuSO4. Há evidências de que, nesta fase, o efeito de promotor de crescimento do Cu pode variar tanto em função das fontes, como dos níveis utilizados (Cromwell et al., 1989; Baker et al., 1991; Zhou et al., 1994a, b; Pesti & Bakali, 1996). Os resultados encontrados neste estudo não estão de acordo com aqueles obtidos por Cromwell (1998) em relação a consumo de ração, os quais testaram CuSO4 e TBCC em diferentes níveis de inclusão e observaram maior consumo para os animais

que receberam 200ppm de cobre via sulfato do que os que receberam via cloreto de cobre, porém obtiveram resultados semelhantes em relação a ganho de peso e conversão alimentar onde não obtiveram diferenças significativas (P<0,05) entre os tratamentos.

4.3 Frequência de diarreia

Para a frequência de diarreia não houve diferença significativa (P<0,05) entre os fatores isolados e por isso os valores não são apresentados. Conforme descrito anteriormente, foi adicionado zinco em níveis farmacológicos justamente para evitar a diarreia durante os primeiros 14 dias de experimento e isso pode ter influenciado no fato da não diferenciação entre os fatores. Porém houve diferença significativa para Qui-Quadrado a 5% para interação do nível de cobre e sua fonte, onde os animais que receberam o TBCC a 200ppm apresentaram melhores resultados no controle de diarreia durante todo o período experimental. Os resultados da interação nível de cobre x fonte, referentes à frequência de diarreia, são apresentados na Tabela 8.

BERTOL e BRITO (1995), realizaram um estudo para avaliar o efeito do óxido de zinco e sulfato de cobre na ocorrência de diarreia e concluíram que apesar do tratamento com óxido de zinco ter proporcionado melhor desempenho dos animais ambos foram semelhantes no controle de diarreia, indicando que o micromineral cobre pode ser utilizado também como opção ao controle de diarreia na fase de creche.

Tabela 8 - Frequência de diarreia observada para a interação entre o nível de cobre e a sua fonte.

Interação Fonte x Nível de Cobre (ppm)	Tipo de fezes		
	Normal	**Diarreia**	**TOTAL**
CuSO4125	64	35 A	100
TBCC125	68	32 A	100
CuSO4200	67	33 A	100
TBCC200	92	8 B	100

*Para letras diferentes números significativamente diferentes (P < 0,05).

Fonte: Própria autoria.

Os resultados indicam que o TBCC a um nível de inclusão de 200ppm é uma boa alternativa no controle de diarreia para leitões durante toda a fase de creche mesmo quando outras alternativas, como o óxido de zinco, são utilizadas.

4.4 Morfometria intestinal

Os valores médios encontrados de altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC) e relação altura de vilosidade: profundidade de cripta (AV:PC) do duodeno, jejuno e íleo dos leitões abatidos aos 63 dias de idade, são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Morfometria intestinal dos leitões abatidos aos 63 dias de vida.

Descrição	NÍVEL			FONTE			*Geral*	*SE*	Interação (Nível x Fonte)
	125ppm	*200ppm*	***P* valor**	*CuSO4*	*TBCC*	***P* valor**			
Duodeno									
AV (µm)	339,790	335,844	0,604	336,602	338,963	0,657	337,783	13,967	0,004
PC (µm)	431,820	417,997	0,801	440,846	406,895	0,209	423,870	15,319	0,031
AV/PC	0,826	0,830	0,700	0,799	0,860	0,225	0,830	0,053	0,000
Jejuno									
AV (µm)	299,291	309,609	0,820	312,155	296,513	0,69	304,334	14,093	0,303
PC (µm)	349,659	376,432	0,409	372,432	354,023	0,534	363,227	18,081	0,458
AV/PC	0,918	0,874	0,651	0,892	0,897	0,843	0,895	0,068	0,236
Íleo									
AV (µm)	254,820	297,280	0,050	298,257	253,755	0,047	276,006	11,899	0,188
PC (µm)	262,378	285,555	0,391	272,792	276,302	0,928	274,547	12,767	0,381
AV/PC	1,015	1,096	0,546	1,136	0,971	0,249	1,054	0,067	0,889

Fonte: Própria autoria.

Com relação ao nível de cobre, verificou-se que os animais suplementados com o nível de 200ppm apresentaram maior AV ($P \leq 0,05$) do íleo comparados com os animais que receberam apenas 125ppm de cobre. Isso se deve, provavelmente, ao fato que 200ppm de cobre mostra-se mais eficiente na resposta como melhorador o desempenho em leitões (HILL & SPEARS, 2001) e consequentemente promove um maior desenvolvimento do trato gastrointestinal, refletindo na histologia do órgão.

Com relação a fonte de cobre utilizada, também verificou-se diferença significativa ($P < 0,05$) para AV do íleo, onde os animais tratados com CuSO4 apresentaram maior AV comparados com os animais que receberam TBCC. Ainda são escassos estudos comparando CuSO4 e TBCC e sua relação com a morfometria intestinal, assim mais estudos são necessários para o melhor esclarecimento sobre o tema. Para a porção do jejuno não houve nenhuma diferença significativa para todas as variáveis analisadas tanto em relação aos fatores isolados como a interação entre eles.

Além disso, foi possível observar uma interação entre os fatores nível de cobre e fonte na AV, PC e AV:PC no duodeno. Devido a interação encontrada para todas as características avaliadas, os fatores foram desdobrados e apresentados na Tabela 10.

A AV do duodeno diminui com o aumento no nível de cobre na dieta, quando a fonte utilizada é o CuSO4, porém não observa-se essa mesma tendência quando trata-se do uso da fonte TBCC. Esse resultado pode indicar que o sulfato de cobre, por ser uma fonte mais reativa que o TBCC, quando misturado com vitaminas e outros microminerais na dieta (CROMWELL et al. 1998) e suplementada a níveis mais altos pode afetar a morfometria intestinal.

Os animais que receberam CuSO4 a 125ppm apresentaram menor PC do duodeno em comparação aos animais que receberam TBCC nessa mesma inclusão. Indicando maior atividade mitótica nos animais tratados com TBCC a 125ppm, para renovar as células perdidas das vilosidades intestinais (UNI et. al., 2000).

Tabela 10 – Desdobramento dos fatores das variáveis altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação AV:PC do duodeno de leitões alimentados com dois níveis e duas fontes de cobre.

Nível	AV Duodeno		PC Duodeno		AV:PC Duodeno	
	CuSO4	***TBCC***	***CuSO4***	***TBCC***	***CuSO4***	***TBCC***
125ppm	383,911 A	308,790 B	372,017 D	478,913 C	1,068 E	0,649 G
200ppm	307,274 B	364,414 AB	433,217 CD	402,778 CD	0,712 FG	0,948 EF

Para os parâmetros avaliados, médias seguidas por letras maiúsculas diferentes para o mesmo tratamento diferem significativamente entre si (P < 0,05).

Fonte: Própria autoria.

Houve também interação dos fatores para a relação AV:PC, onde os animais que receberam CuSO4 a 125 ppm obtiveram melhores resultados quando comparados aos animais que receberam CuSO4 a 200ppm e TBCC a 125ppm. Quanto maior a relação entre altura de vilosidade e profundidade de cripta, maior absorção intestinal e menores as perdas energéticas com a renovação celular (ARRUDA et al. 2008), assim, mesmo com as alterações morfológicas encontradas, estas não traduziram-se em uma melhora na performance zootécnica dos animais em nenhum dos grupos experimentais, podendo indicar que a análise da morfometria intestinal não seja um bom parâmetro para indicar o efeito de diferentes níveis e fontes de cobre como melhorador de desempenho.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos conclui-se que:

- Cloreto de cobre é uma fonte efetiva de cobre quando incluída na dieta de leitões desmamados a níveis farmacológicos (125 a 200ppm). Sendo essa fonte de cobre quase tão eficaz quanto o sulfato de cobre como promotor de crescimento;
- Cloreto de cobre a um nível de inclusão de 200ppm se mostrou eficiente no controle de diarreia para leitões durante toda a fase de creche mesmo quando outras alternativas como o óxido de zinco são utilizadas;
- A morfometria intestinal não foi um bom parâmetro para avaliar os efeitos das diferentes fontes e níveis de cobre como promotor de crescimento;
- A influência como promotor de crescimento e controle de diarreia, além da maior concentração de cobre, torna o cloreto de cobre uma fonte alternativa interessante nas dietas de leitões desmamados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOYAGY, S.; BAKER, D.H. **Biovailability of copper in analytical-grade and feed-grade inorganic copper sources when fed to provide copper at levels below the chick's requeriment.** Poultry Science, v.72, p.1075-1083, 1993.

APGAR, G.A.; KORNEGAY, E.T. **Evaluation of copper Sulfate and copper lysine complex as growth promoters for weanling swine.** Journal of Animal Science, v.73, p.2640-2646, 1995.

ARMSTRONG, T. A., D. R. COOK, M. M. WARD, C. M. WILLIAMS, AND J. W. SPEARS. **Effect of dietary copper source (cupric citrate and cupric sulfate) and concentration on growth performance and fecal copper excretion in weanling pigs.** J. Anim. Sci., v.82, p.1234−1240, 2004.

ARMSTRONG, T. A., J. W. SPEARS, E. VAN HEUGTEN, T. E. ENGLE, AND C. L. WRIGHT**. Effect of copper source (cupric citrate vs cupric sulfate) and level on growth performance and copper metabolism in pigs.** Asian-Aus. J. Anim. Sci.,v.13,p.1154.–1161,2000.

BARBER, R.S.; BRAUDE, R.; MITCHELL, K.G. **Antibiotics and copper supplements for fattening pigs**. British Journal of Nutrition, v.9, p.378-386, 1955.

BRAUDE, R. **Copper as a stimulant in pig feeding (cuprum pro pecunia).** World Rev. Anim. Prod. 3:69–82, 1967.

BREMNER, I. **Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper.** Journal of Nutrition, 117: 19-29, 1987.

BREMNER, I. **Manifestations of copper excess.** Am. J. Clin. Nutr.67:1069−1073, 1998.

BUNCH, R.J.; SPEER, V.C.; HAYS, V.W. **Effects of copper sulfate, copper oxide and chlortetracycline on baby pig performance.** Journal of Animal Science, v.20, p.723-727, 1961.

COFFEY, R. D., G. L. CROMWELL, AND H. J. MONEGUE. Efficacy of a copper-lysine complex as a growth promotant for weanling pigs. J. Anim. Sci. 72:2880.–2886, 1994.

CROMWELL, G. L., H. J. MONEGUE AND T. S. STAHLY. **Long-term effects of feedinf high copper diet to sows during gestation and lactation.** J. Anim. Sci. 71:2996−3002, 1993.

CROMWELL, G. L., M. D. LINDEMANN, H. J. MONEGUE, D. D. HALL AND D. E. ORR, JR. **Tribasic copper chloride and copper sulfate as copper sources for weanling pigs.** J. Anim. Sci. v. 67, p. 2996−3002, 1998.

CROMWELL, G. L., T. S. STAHLY, AND H. J . MONEGUE. **Effects of source and level of copper on performance and liver copper stores in weanling pigs.** J . Anim. Sci. 67:2996−3002, 1989.

DEL CLARO, G. R. **Influence of copper and selenium supplementation on lipid metabolism in cattle.** Tese – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

DEPLANCKE, B., and H. R. Gaskins. **Microbial modulation of innate defense: Goblet cells and the intestinal mucosa.** Am. J. Clin. Nutr. v.73, p.1131–1141, 2001.

DOVE, C. R. **The effect of copper supplementation during lactation on sow and pig performance and the subsequent nursery performance of pigs.** Journal of Animal Science, v.71 (Suppl.), 173(Abstr.), 1993.

EDMONDS, M.S.; IZQUIERDO, O.A.; BAKER, D.H. **Feed additive studies with newly weaned pigs: efficacy of supplemental copper, antibiotics and organic acids**. Journal of Animal Science, v.60, p.462-469, 1985.

FORSTNER, J. F. **Intestinal mucins in health and disease**. Digestion,v.17, p.234–263, 1978.

FRY, R. S.; ASHWELL M.S, LLOYD, K.E.; O'NAN, A. T.; FLOWERS, W. L.; STEWART, K. R.; SPEARS, J.W. **Amount and source of dietary copper affects small intestine morphology, duodenal lipid peroxidation,hepatic oxidative stress, and mRNA expression of hepatic cooper regulatory proteins in weanling pigs.** J. Anim. Sci., v.90, p.3112-3119, 2012.

FULLER, R., L. G. M. NEWLAND, C. A. E. BRIGGS, R. BRAUDE, AND K. G. MITCHELL. **The normal intestinal flora of the pig. IV. The effect of dietary supplements of penicillin, chlortetracycline or copper sulphate on the faecal flora.** J. Appl. Bacteriol. 23:195–205, 1960.

HAMPSON, D. J. **Alterations in piglet small intestinal structure at weaning.** Res. Vet. Sci. v.40, p.32–40, 1986.

HAWBAKER, J.A.; SPEER, V.C.; HAYS, V.W. **Effect of copper sulfate and other chemotherapeutics in growing swine rations.** Journal of Animal Science, v.20, p.163-165, 1961.

HEDEMANN, M. S., HØJSGAARD, S. and JENSEN., B. B. **Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning.** J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 87:32–41. 2003.

HEDEMANN, M. S.; JENSEN, B.B.; POULSEN, H. D**. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs**. J. Anim. Sci., v.84, p.3310–3320, 2014.

HEDEMANN, M. S.AND JENSEN, B. B. **Variations in enzyme activity in stomach and pancreatic tissue and digesta in piglets around weaning**. Arch. Anim. Nutr. v.58,p.47–59, 2004.

HILL, G. M., and SPEARS,. J. W. **Trace and ultratrace elements in swine nutrition.** In: A. J. LEWIS and L. L. Southern, editors, Swine Nutrition. CRC Press, Boca Raton, FL. p. 229-261.

HØJBERG, O., N. CANIBE, H. D. POULSEN, M. S. HEDEMANN, AND B. B. JENSEN. **Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets.** Appl. Environ. Microbiol.,v.71,p.:2267–2277, 2005.

HUANG, Y. L., ASHWELL, M. S., FRY, R. S., LLOYD, K. E., FLOWERS, W. L., SPEARS, J. W. **Effect of dietary copper amount and source on copper metabolism and oxidative stress of wealing pigs in short-therm feeding.** Journal of Animal Science. v.93, p.22948–2955, 2015.

JENSEN, B. B. **The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs.** J. Anim. Feed Sci. v.7, p.45–64, 1998.

JENSEN, L. S.; PETERSON, R.P.; FLEN, L**. Inducement of enlorged hearts and muscular dystrophy in turkey poult with dietary silver.** Poultry Science, v. 53, n. 1,p.57-64, 1974.

JONDREVILLE, C., P. S. REVY, A. JAFFREZIC, AND J. Y. DOURMAD. **Le cuivre dans l'alimentation du porc: oligo-element essential, facteur de croissance et risque potentiel pour l'homme et l'environement.** INRA Prod. Anim. v.15, p. 247–265. 2002.

KATOULI, M., L. MELIN, M. JENSEN-WAERN, P. WALLGREN, R. MOLLBY. **The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs.** J. Appl. Microbiol. v.87, p.564–573. 1999.

KELLOGG, T. F., V. W. HAYS, D. V. CATRON, L. Y. QUINN, AND V. C. SPEER. **Effect of dietary chemotherapeutics on the performance and fecal flora of baby pigs.** J. Anim. Sci., v.25, p.1102–1106, 1964.

KIM, B. E., T. NEVITT, AND D. J. Thiele. **Mechanisms for copper acquisition, distribution, and regulation.** Nat. Chem. Biol. v.4, p.176−185, 2008.

KOH, T.S.; PENG, R. K.; KLASING, K.C. **Dietary Cooper level affects cooper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks.** Poulty Science,v. 1 ,n.75, p.867-872, 1996.

KOUTSOS, E. A.; ALLEE, G.L.; PRINCE, T. J. **Effect of feeding tribasic copper chloride or copper sulfate on growth and efficiencyof nursey pigs**. J.Anim Sci,v.88, p.188,2011.

LEE, S. H. et al. **Evaluation metal-amino acid chelates and complexes at various levels of copper and zinc in weanling pigs and broiler chicks**. Asian-Australian Journal of Animal Science, Seoul, v. 14, n. 12, p. 1734-1740, 2001.

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

LIMA, I. A. V.; MIYADA, V. S. **Cobre orgânico e inorgânico como promotor crescimento de leitões recém - desmamados**. Reunião Brasileira de Zootecnia, v.32, n. 6, p. 1657-1662, 2003.

LINDER, M. C., M. HAZEGH-AZAM. **Copper biochemistry and molecular biology**. Am. J. Clin. Nutr. v.63, p.797−811, 1996.

MAYNARD, L. A. **Nutrição animal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos. p.260-280, 1984.

MCDOWELL, L. R. **Copper and molybdenum – minerals in animal and human nutrition.** San Diego: Academy Press, p.178-204, 1992.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in Animal and Human Nutrition,** 2nd edition. Elsevier Health Sciences, Oxford, UK. 2003.

McNAUGHTON, J.L.; DAY, E. **Effect of dietary Fe to Cu ratios on hematological and growth responses of broiler chickens.** Journal of Nutrition, v.109, p.559-564, 1979.

MENTEN, J. F. M. Eficácia**, efeito sinérgico e modo de ação de agentes antimicrobianos como promotores de crescimento**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1995. 106p. (Tese de livre docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / Universidade de São Paulo, 1995.

MILES, R. D., S. F. O'KEEFE, P. R. HENRY, C. B. AMMERMAN, AND X. G. LUO. **The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and prooxidant activity.** Poult. Sci., v.77, p.416–425, 1998.

MILLER, E. R.; H. D. STOWE, P. K. KU; G.M. HILL. **Copper and zinc in swine nutrition.** National Feed Ingredients Association Literature Review on Copper and Zinc in Animal Nutrition. West Des Moines, Iowa: National Feed Ingredients association, 1979.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of swine**. 10.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 189p, 1998.

NOBRE, P. T. C.; BUTOLO, E. A. F.; BUTOLO, J. E. **Biodisponibilidade do cobre no sulfato de cobre pentahidratado (P.A.) e no sulfato de cobre pentahidratado**

(comercial). Conferência APINCO de ciências e tecnologia avícola – Curitiba, p. 53- 54, 1995.

PONTES, P. M.; LLOBET, J.A.C. **Alimentación de las aves**. Real escuela de avicultura, 1ª Ed., p. 113-115, Barcelona, 1995.

POULSEN, H. D. **Zinc and copper as feed additives, growth factors or unwanted environmental factors.** J. Anim. Feed Sci., v.7, p.135–142, 1998.

RICHARDS, M. P. **The role of metalothionein in coper and zinc metabolism**. Nutr. v.19, p. 1062-1070, 1989.

ROOF, M. D., e MAHAN, D. C. **Effect of carbadox and various dietary copper levels for weanling swine.** Journal of Animal Science, v.55, p. 1109-1117, 1982.

RUCKER, R. B., T. KOSONEN, M. S. CLEGG, A. E. MITCHELL, B. R. RUCKER, J. Y. URIU-HARE e C. L. KEEN. **Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking**. Am. J. Clin. Nutr., v.67(Suppl) p. 996S-1002S, 1998.

SILVA, I. J. O. **Qualidade do ambiente e instalações na produção industrial de suínos.** In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 4., 1999, São Paulo. Anais... Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, p.108-325, 1999.

STAHLY, T. S.; C. L. CROMWELL e H. J. MONEGUE. **Effects of the dietary inclusion of copper and (or) antibiotics on the performance of weanling pigs.** Journal of Animal Science, v.51, p. 1347-1351, 1980.

SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4th ed. CABI Publishing, Wallingford, UK. 2010.

THACKER, P. A. **Effect of high levels of copper or dichlorvos during late gestation and lactation on sow productivity**. Can. J. Nutri. Sci. v.71, p. 227-248, 1991.

THIERS, R. E.; VALEE, B. L. **Distribution of matels in subscelular fractions of rot liver.** Journal of Biological Chemetry, v. 2, n. 226, p. 911-918, 1957.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock.** 3. ed. New York: CABI, 624p.1999.

UNDERWOOD, E.J. **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**, 4th edn. Academic Press, London, 1977.

UNI, Z. **Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chicken small intestine.** British Poultry Science, London, v.41, n.4, p.410-415, 2000.

USDA/USEPA. **Unified National Strategy for Animal Feeding Operations.** Washington, 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov/npdes/pubs/finafost.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2014

VAREL, V. H., I. M. ROBINSON, AND W. G. POND. **Effect of dietary copper sulfate, aureo SP250, or clinoptilolite on ureolytic bacteria found in the pig large intestine**. Appl. Environ. Microbiol.v. 53, p.2009–2012,1987.

VEUM, T.L.; CARLSON, M.S.; WU, C.W. et al. **Copper proteinate in weanling pig diets for enhancing growth performance and reducing fecal copper excretion compared with copper sulfate.** Journal of Animal Science, v.82, n.4, p.1062-1070, 2004.

YAGÜE, A. P. **Normatização do uso de minerais na alimentação suína**. Suínos & Cia, vol. VI, n. 32, 2009.

ZHAO, J. R. B., SHIRLEY, T. R.; HAMPTON, J. D.; RICHARDS, R. J.; HARRELL, J. J.; DIBNER, C. D.; KNIGHT; M. VAZQUEZ-ANON. **Benefits of an organic trace mineral on performance with dietary Cu antagonism in broilers.** Poultry Scienc Association 97th Annual Meeting, Niagara Falls, Canada, 2008.

ZHOU, W.; KORNEGAY, E.; LAAR, V. H. et al. **The role of feed consumption and feed efficiency in copper-stimulated growth.** Journal of Animal Science, v.72, p.2385-2394, 1994a.

ZHOU, W.; KORNEGAY, E.T.; LINDEMANN, M. D. **Stimulation of growth by intravenous injection of copper in weanling pigs.** Journal of Animal Science, v.72, p.2395-2403, 1994b.