UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

FABRICIA DE ARRUDA ROQUE

Efeitos de diferentes fontes de microminerais sobre o desempenho, reprodução, qualidade da progênie e qualidade espermática de reprodutores pesados

Pirassununga
2022

FABRICIA DE ARRUDA ROQUE

Efeitos de diferentes fontes de microminerais sobre o desempenho, reprodução, qualidade da progênie e qualidade espermática de reprodutores pesados

VERSÃO CORRIGIDA

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Francelino de Araújo

Pirassununga

2022

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

D786e

DE ARRUDA ROQUE, FABRICIA
Efeitos de diferentes fontes de microminerais sobre o desempenho, reprodução, qualidade da progênie e qualidade espermática de reprodutores pesados / FABRICIA DE ARRUDA ROQUE ; orientador Lúcio Francelino Araújo. -- Pirassununga, 2022.
74 f.

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

1. Inflamação intestinal. 2. Minerais quelatados. 3. Qualidade óssea. 4. Qualidade de Sêmen. 5. Suplementação maternal. I. Francelino Araújo, Lúcio , orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial desta documento, desde que citada a fonte – o autor

FABRICIA DE ARRUDA ROQUE

Efeitos de diferentes fontes de microminerais sobre o desempenho, reprodução, qualidade da progênie e qualidade espermática de reprodutores pesados

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

Data de aprovação: ____/ ____/ _____

Banca Examinadora

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição:_____Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Hermes Roque e
Marta Maria de Arruda Roque que sempre me
apoiaram e acreditaram em mim.
Ao meu marido João Paulo Vargas de Souza
que sempre está ao meu lado.
A minha filha Mirana Souza Roque
meu amor incondicional.
Aos meus amados cachorros Odin e Mel,
e a toda minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pela força e coragem durante toda esta jornada.

Aos meus pais, a minha mãe Marta Maria de Arruda Roque e ao meu pai Hermes Roque que sempre me deram força e acreditaram em mim. Nunca vou me esquecer do dia que sai de casa para estudar e do quanto eles me apoiaram, mesmo com a toda dificuldade da vida e de ficar longe de casa, sempre me deram suporte.

Ao marido João Paulo Vargas de Souza a quem não tenho palavras para expressar todo o meu agradecimento. Sempre ao meu lado, e quando digo sempre, é sempre. Em casa, na faculdade, na vida e em tudo. Para completar nossa família, ano passado, chegou nossa pequena, Mirana e agora somos uma família completa.

Aos meus cachorros Odin e Mel, onde todos os dias quando chegava da faculdade sempre me recepcionava com muita alegria, amor e lambidas.

A minha família, o meu sincero “muito obrigado” por toda a alegria, apoio incondicional e estímulo que sempre foram em minha vida.

A minha segunda família, Sandra Vargas, João Luiz de Souza, Alessandro Vargas de Souza e Daniele Hoepers Maule pelo carinho e apoio.

A todos meus amigos que me acompanham desde a graduação, com uma palavra de conforto, carinho e coragem a Marcela Gouveia, Thuanny Pereira e Lidiane Staub

Aos amigos que estão comigo desde o mestrado e que participaram incondicionalmente da realização desse experimento, onde criamos uma grande família Priscila Zorzetto, Brunna Garcia, Mylena Tückmantel, Carlos Granguelli, Paulo Pelessari, Mariana, Patrícia e Airton. A todos os estagiários que passaram no setor dos anos de 2018 – 2020 que me ajudaram em cada análise, coleta de dados, viagens de bike para levar o sêmen para análise, descarnar as tíbias, e afins.

A Raquel Araújo, André Murcio, Sandra Rodrigues e Juxing Chen que me deram suporte desde o primeiro dia do experimento até a finalização do meu experimento, meu muito obrigada!

Aos funcionários do aviário: Edinho, China e Pedro, da fábrica de ração Cláudio, Zé, Ioneo, Maicon. Aos colaboradores da secretária da pós-graduação que me ajudaram em todo o momento dessa caminhada agradeço imensamente ao Maria Cecilia, Érica e Kefilin.

À Faculdade de Zootecnia de Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo e ao departamento de Qualidade e Produtividade Animal.

À capes pela concessão da bolsa de estudo. Agradeço a todos os Professores do Departamento de Zootecnia, FZEA/FMVZ, por esses quase quatro anos de transmissão segura e paciente de conhecimento.

Ao meu orientador Prof. Lúcio Francelino Araújo e sua esposa Prof.ª Dr.ª Cristiane Araújo, que me deram a oportunidade desde o mestrado e me confiaram para a execução do trabalho, que não mediram esforços para a minha formação profissional, e além disso sempre presente nos acontecimentos da minha vida e de minha família.

À banca de avaliadores, muito prontamente e com grande entusiasmo aceitaram fazer parte desse momento tão importante em minha vida. Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Classificação dos microminerais 20
Tabela 2.1 - Composição da dieta basal de todos os periodos de desenvolvimento 34
Tabela 2.2 - Concentrações de zinco (Zn), Cobre (Cu) e Manganês (Mg) em dietas de tratamento experimental 35
Tabela 2.3 - Composição da dieta basal de todos os períodos de desenvolvimento da progênie. 37
Tabela 2.4 - A sequência de primers para qRT-PCR 419
Tabela 2.5 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho de matrizes de frangos de corte nas fases inicial, crescimento 1 e 2 e pré-reprodução 471
Tabela 2.6 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho de matrizes de frangos de corte na fase de reprodução (26 a 66 semanas) 48
Tabela 2.7 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a qualidade de ovo de matrizes de frangos de corte.....44
Tabela 2.8 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a expressão NF-κB mRNA de matrizes pesadas com 24 semanas.....47
Tabela 2.9 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a qualidade óssea nos períodos de 18, 24 e 66 semanas.....49
Tabela2.10- Dados de gordura abdominal das matrizes alimentadas com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais nos períodos de 4, 18 e 24 semanas.....51
Tabela 2.11- Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho da progênie.....52
Tabela 2.12- Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos na expressão gênica anti-inflamatória no jejuno de frangos de corte de 1, 14 e 45 dias de idade.....53
Tabela 3.1 - Composição da dieta basal.....66
Tabela 3.2 - Concentrações de zinco (Zn), Cobre (Cu) e Manganês (Mg) em dietas de tratamento experimental.....66
Tabela 3.3 - Dados médios da análise de esperma assistida por computador (CASA) dos espermatozoides de galos alimentados com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais durante o período experimental (34 a 66 semanas de idade) 69

Tabela 3.4 - Morfologia dos espermatozoides de galos alimentados com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais durante o período experimental (34 a 66 semanas de idade).....71

RESUMO

ROQUE, F. A. **Efeitos de diferentes fontes de microminerais sobre o desempenho, reprodução, qualidade da progênie e qualidade espermática de reprodutores pesados**. 2022. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

Foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito da substituição dos minerais inorgânicos por minerais orgânicos no desenvolvimento de matrizes pesadas e galos. Experimento 1, objetivou-se avaliar o efeito da substituição dos minerais inorgânicos por minerais orgânicos no desenvolvimento de matrizes. Um total de 540 matrizes, Cobb 500, (Slow feathering; 0-66 semanas de idade) foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos de 15 repetições, sendo 12 aves compondo a unidade experimental. Os tratamentos consistiam em: (MI) micromineral inorgânico, nos níveis de 100 Zn, 16 Cu e 100 Mn mg/kg. Micromineral bi-quelatado (MQ), substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de quelato Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo, nos níveis de 50 Zn, 8 Cu e 50 Mn mg/kg. Micromineral orgânico (MO), substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de complexo Zn, Cu ou Mn-aminoácido, nos níveis de 50 Zn, 8 Cu e 50 Mn mg/kg, respectivamente. Não houve diferença no desempenho de crescimento durante as fases de pré-reprodução (0-24 semanas), os reprodutores alimentados com MI tiveram maior peso corporal, ganho de peso e menor conversão quando comparado com o MQ, no período de 0 - 10 sem. A MQ tendeu (P <0,100) a melhorar a produção de ovos (%), massa de ovos e conversão alimento por massa de ovo em comparado ao MI, no período de 26 - 40 sem. A MQ melhorou significativamente a massa de ovo em 3g e a conversão alimentar em 34 pontos e melhorou numericamente a produção de ovos em 4% (P<0,100) durante o período total de reprodução (26 - 66 semanas), em comparação com a MI. MQ melhorou (P < 0,01) a cor da gema de ovo vs MI e MO às 40, 50, 58 e 65 semanas, aumentou (P < 0,01) a espessura e resistência da casca de ovo vs MO às 58 semanas, e reduziu (P<0,05) a expressão do gene NF-ƙB vs MO às 24 semanas. Houve uma redução significativa para as características de peso seco, matéria seca, índice Seedor e resistência para as matrizes que receberam a dieta com MQ e/ou MO quando comparado ao MI, às 18 semanas. Durante a fase de postura, as características tibiais não diferiram entre três tratamentos, exceto para índice Seedor. A matrizes alimentadas com MQ apresentaram menor índice Seedor e maior para circunferência tibial, numericamente, às 24 semanas. No período final do experimento, às 66 semanas, uma maior circunferência tibial, mas uma menor resistência tibial na galinha alimentada com MO. A gordura abdominal para MI foi maior em comparação com as matrizes que receberam a dieta com MQ e MO em 24 semanas. A suplementação materna de MQ em galinhas reprodutivas aumentou peso corporal vs MI e MO na eclosão, reduziu o consumo de ração vs MI em d14 e 28, e melhorou conversão alimentar e o índice de desempenho vs MO em d28, reduziu a expressão genética de NF-ƙB e aumentou a expressão genética de A20 vs MO em d0 e vs MI em d14, reduziu a expressão genética de TLR2 vs MI em d0 e vs MO em d14, aumento da expressão genética de MUC2 vs tanto MI quanto MO em d45 no jejuno da progênie. No experimento 2, foram utilizados 30 galos, Cobb MV, (Slow feathering; 28-66 semanas de idade), em que foram distribuídos aleatoriamente em três tratamentos (os mesmos das matrizes) de 10 repetições. Para a avaliação da qualidade de espermática de galos, foi coletado o sêmen fresco nos períodos de 34, 44, 54 e 64 semanas de idade para avaliação das características seminais e morfologia espermática: A motilidade total dos sêmens de galos alimentados com MO foi pior quando comparado com os demais tratamentos. Os defeitos do espermatozoide, cabeça (P = 0,2729), peça intermediária (P = 0,9172) e cauda (P=0,5440) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Embora, houve

uma tendência de aumento para células normais (P=0,0716) de galos que receberam a dieta com MO quando comparado com MQ. Estes resultados sugerem que a suplementação de níveis mais baixos de microminerais quelatados de MHA melhorou a produção de matrizes e a qualidade dos ovos e reduziu a inflamação jejunal, mantendo o desenvolvimento tibial em comparação com o MI, aumentou a motilidade de sêmen de galos e os microminerais quelatados de MHA tiveram um desempenho melhor ou similar ao do complexo de aminoácidos de minerais traços neste estudo. Mas, também proporcionou à progênie, melhora o desempenho de crescimento e reduzindo a inflamação jejunal em comparação com MI e OTM

Palavra-chave: Inflamação intestinal. Minerais quelatados. Qualidade de ovo. Qualidade óssea. Qualidade de Sêmen. Suplementação maternal.

ABSTRACT

ROQUE, F. A. **Effects of different sources of trace minerals on performance, reproduction, progeny quality and sperm quality in broiler breeders**. 2022. 77 f. Thesis (Doctor of Science) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

Two experiments were conducted to evaluate how replacing inorganic minerals with organic minerals would affect the development of broilers breeders and roosters. Experiment 1: The objective of this study was to evaluate the effect of substitution of inorganic trace minerals with organic trace minerals on the development of broiler breeders. A total of 540 broiler breeders, Cobb 500 (Slow feathering; 0-66 weeks old) were assigned to one of three treatments: ITM – inorganic trace minerals: 100, 16, 100 ppm of Zn, Cu and Mn respectively, as sulfates 2) CTM - bis-chelated trace minerals: 50, 8, 50 ppm of bis-chelated Zn, Cu and Mn-methionine hydroxy analogue 3) OTM - organic trace minerals 2: 50, 8, 50 ppm of Zn, Cu and Mn-amino acid complex. There was no difference in growth performance during overall pre-reproduction (0-24 weeks) phase, breeders fed ITM had higher body weight, weight gain and lower feed conversion when compared to birds fed CTM from 0 - 10 weeks. CTM tended (P <0.100) to improve egg production%, egg mass and FCR compared with ITM, in the period of 26 - 40 weeks. CTM significantly improved egg mass (by 3g) and FCR (by 34 points) and numerically improved egg production% by 4% (P<0.100) during the total reproduction period (26 - 66 weeks) in comparison to ITM. CTM improved (P < 0.01) egg yolk color vs ITM and OTM at 40, 50, 58 and 65 wks, increased (P < 0.01) eggshell thickness and resistance vs OTM at 58 wks, and reduced (P<0.05) jejunal NF-ƙB gene expression vs OTM at 24 wks. There was a significant or numerical reduction in tibial dry weight, dry matter, Seedor index and resistance for the breeders fed the diet with CTM and/or OTM when compared to ITM at 18 weeks. During the laying phase, there were no differences in most of the tibial parameters between the three treatments, with the exception of lower Seedor index, but there was a numerically wider tibial circumference in hens fed CTM at 24 weeks and wider tibial circumference and lower tibial resistance in hens fed OTM at 66 weeks. Abdominal fat was higher in birds fed ITM compared to the breeders that received CTM or OTM diets at 24 weeks. Maternal supplementation of CTM in breeder hens increased (P<0.0001) body weight vs ITM and OTM at hatching, reduced (P<0.05) feed intake vs ITM at d14 and d28, and improved (P<0.01) FCR and performance index vs OTM at d28, reduced (P<0.01) NF-ƙB gene expression and increased (P<0.01) A20 gene expression vs OTM on d0, reduced (P<0.01) NF-ƙB gene expression and increased (P<0.01) A20 gene expression vs ITM on d14, reduced TLR2 gene expression vs ITM on d0 and vs OTM on d14, increased MUC2 gene expression vs both ITM and OTM on d45 in progeny jejunum. Experiment 2: Thirty, 28-week-old roosters, Cobb MV, were randomly assigned to one of three treatments each comprising 10 replications. To evaluate the quality of sperm produced, fresh semen was collected at 34, 44, 54 and 64 weeks of age to evaluate seminal characteristics and spermatic morphology: The total motility of the semen of roosters fed OTM was lower when compared with the other treatments. There was no significant difference in the defects of spermatozoa, head (P = 0.2729), intermediate part (P = 0.9172) and tail (P=0.5440) between treatments. Although, normal cells there was a tendency to increase (P=0.0716) of roosters that received the OTM diet when compared to CTM and no difference CTM and ITM. These results suggest that supplementation with lower levels of MHA-chelated trace minerals improves breeder production and egg quality and reduces breeder jejunal inflammation while maintaining tibial development. The benefits are also carried over to progeny with better growth performance, less jejunal inflammation and better innate immune response and gut barrier function in comparison

to ITM and/or mineral amino acid complex. Organic mineral supplementation also increases the motility of rooster semen in comparison to higher levels of inorganic mineral supplementation in ITM.

Keyword: Bone quality. Chelated minerals. Egg quality. Intestinal inflammation. Maternal supplementation. Semen quality.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 12
1.1 Objetivo geral 14
1.1.1 Objetivo específico 14
1.2 Revisão de literatura 14
1.2.1 Aspectos nutricionais das matrizes pesadas 14
1.2.2 Aspectos nutricionais dos galos 16
1.2.3 Minerais 17
1.2.4 Microminerais orgânicos 18
1.2.5 Ação dos microminerais orgânicos 21
1.3 Referências 24
2 CAPITULO I 30
EFEITOS DOS MICROMINERAIS ORGÂNICOS NO DESEMPENHO DE MATRIZES PESADAS E SEU EFEITO NA PROGÊNIE 30
2.1 Introdução 31
2.2 Material e Métodos 33
2.2.1 Animais e manejo 33
2.2.4 Desempenho zootécnico e reprodutivo 35
2.2.5 Experimento com a progênie 36
2.2.6 Qualidade de ovo 37
2.2.7 Saúde intestinal 37
2.2.8 Qualidade óssea 38
2.2.9 Gordura abdominal 39
2.2.10 Análise estatística 39
2.3 Resultados e discussão 40
2.4 Conclusão 53
2.5 Referências 54
3 Capitulo II: Qualidade espermática de galos alimentados com diferentes fontes de microminerais 60
3.1 Introdução 61
3.2 Material e Métodos 63
3.2.1 Animais e manejo 63
3.2.2 Dieta experimental 63
3.2.3 Qualidade espermática 65
3.2.4 Análise estatística 65
3.4 Resultados e Discussão 67
3.5 Conclusão 70
3.6 Referências 71
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS 74

1 INTRODUÇÃO GERAL

Favorável e em expansão é o cenário dos reprodutores de frango de corte o que se deve ao fato do aumento da demanda de proteína animal e a pressão sobre a eficiência produtiva. O Brasil, um país referência na produtividade de carne de frango, fechou o ano de 2020, produzindo mais de 13,8 milhões de toneladas de carne de frango. No mercado mundial, se destaca por ser o 3º maior produtor, ficando atrás de grandes potências como o Estados Unidos, 1º (± 20,2 milhões de ton.) e China, 2º (14,6 milhões de ton.) e 1º maior exportador de carne de frango, mantendo a liderança do setor desde de 2013 (ABPA, 2021).

A rentabilidade da cadeia produtiva está diretamente interligada ao desempenho reprodutivo das matrizes pesadas. Portanto, proporcionar o aumento da lucratividade é aumentar a produção de ovos férteis e redução da mortalidade embrionária. Deste modo, os programas de seleção genética aplicaram tecnologias nos reprodutores para produzirem progênies de qualidade, tornando-as mais sensíveis ao processo de produção e dependentes do alinhamento das áreas de ambiência, genética, sanidade, nutrição e manejo para ter bons resultados (MACARI et al., 2013).

Já se sabe que a nutrição é um fator crucial para o crescimento e desenvolvimento das aves (GÜZ et al., 2019). Além disso, em matrizes, a nutrição impacta sobre o desenvolvimento dos pintos, uma vez que são dependentes dos nutrientes transferidos da mãe e, consequentemente, o seu tamanho, vigor e a imunidade podem ser comprometidos (RICARDS, 1997; KENNY; KEMP, 2005; EMAMVERDI et al., 2019).

O cobre, manganês e o zinco são microminerais que participam do crescimento, produção e desenvolvimento do sistema imunológico e defesa contra danos celulares e estresse oxidativo (BLANCHARD et al., 2001; RICHARDS et al., 2010). Além disso, o crescimento e desenvolvimento do embrião depende da nutrição mineral materna, sendo a gema o principal estoque dos microminerais. O cobre, manganês e o zinco são consumidos pelo embrião da gema até o 17º dia de desenvolvimento embrionário, depois o consumo é baixo (YAIR; UI, 2011).

No organismo das aves, a absorção dos microminerais é complexa e dependente das características físico-química do intestino (BERTECHINI, 2013). Os microminerais são encontrados na indústria nas formas inorgânica e orgânica. Os microminerais inorgânicos (MI), sulfatos e óxidos, são usados com mais frequência na suplementação de minerais devido ao seu baixo custo, embora sejam fontes propensas a antagonismos. Enquanto que os orgânicos, quelatos a aminoácido ou proteinato, têm maior

biodisponibilidade e menor propensão a antagonismos (AO et al., 2009), apesar de serem mais onerosos (LEESON; SUMMERS, 2005).

Vários estudos comprovam o efeito positivo do uso de mineral orgânico na melhora da biodisponibilidade de nutrientes, produtividade, reprodução, ação antioxidante, sistema imune, qualidade de ovo, desenvolvimento ósseo da matriz e da progênie (AKSU et al., 2010; EMAMVERDI et al., 2019; FAVERO et al., 2013; GÜZ et al., 2019; MANANGI et al., 2012; THOMAZ et al., 2015; WANG et al., 2019a, 2019b).

Diante disso, se faz necessário avaliar o potencial de uma fonte de micromineral eficiente que possibilite a transferência de nutriente da mãe para a progênie. Deste modo, o quelato metionina hidroxi análoga se destaca por ser composto pela complexação de metionina hidroxi análogo (MHA), um ácido orgânico que tem como percursor o ácido 2-hidroxi-4-(metil) butanóico, que no organismo é rapidamente convertido em L-metionina (DIBNER, 2003) com um mineral de transição (Cu, Zn e Mn). Esta configuração de micromineral orgânico é interessante, já que a metionina é o primeiro aminoácido limitante para a ave e exerce diversas funções como a síntese de proteínas, metabolismo lipídico, regulação do sistema imunológico, funções digestivas e antioxidante (WANG et al., 2019b).

Estudos mostraram que o quelato metionina hidroxi análoga melhora a produção de ovos e eclodibilidade até após a 80 semanas de idade, assim como aumento dos níveis do mineral na gema de ovo, possibilitando o melhor desenvolvimento da progênie e redução das concentrações de minerais na dieta, favorecendo redução de excretas ao meio ambiente (TORRES; KORVER, 2011). Por outro lado, os microminerais orgânicos também atuam sobre a fertilidade dos galos, aumentando as características de qualidade de espermática, volume, densidade e motilidade do sémen de galos com 31 a 35 semanas de idade (SHAN et al., 2017).

Diante do exposto é necessário elucidar o mecanismo de ação dos microminerais orgânicos e como a suplementação na dieta das matrizes pode influenciar sobre o desenvolvimento ósseo, desempenho produtivo, reprodutivo e reserva de gordura e para galos a qualidade de sêmen.

1.1 Objetivo geral

O estudo teve por objetivo avaliar se as fontes inorgânicas e orgânicas de microminerais (Cu, Mn e Zn) influenciam nas respostas produtivas e reprodutivas de matriz pesadas e galos.

1.1.1 Objetivo específico

Avaliar o efeito das fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais sobre o desempenho zootécnico (cria, recria e produção), desenvolvimento ósseo, gordura abdominal de matrizes pesadas, no período de 1 dia a 66 semanas de idade.

Avaliar o efeito da fonte, inorgânica e orgânica, de microminerais sobre a qualidade espermática de galos no período de 1 dia a 66 semanas de idade.

1.1.2 Hipótese

A substituição de micromineral orgânico irá melhorar das características zootécnicas, desenvolvimento ósseo e reprodutivo das matrizes e galos.

A utilização de micromineral orgânico na dieta de matrizes irá aumentar a disponibilidade para o galo, melhorando a capacidade antioxidante no espermatozoide.

1.2 Revisão de literatura

1.2.1 Aspectos nutricionais das matrizes pesadas

A nutrição materna tem papel fundamental na fertilidade e eclodibilidade dos ovos (VAN EMOUS et al., 2015). Portanto, o nutricionista tem a responsabilidade de assegurar a maximização de ovos férteis, boa qualidade de pinto (ARAÚJO et al., 2013, 2019) e redução do custo de produção (ALMEIDA et al., 2006). Entretanto a nutrição de reprodutores pesados é um desafio, pois deve haver um equilíbrio entre o crescimento acelerado e a maturidade precoce para que a ave tenha condições de expressar seu potencial produtivo e reprodutivo (MACARI et al, 2013).

A alimentação das matrizes é restrita para contrabalancear a correlação negativa entre a taxa de crescimento e a reprodução. A restrição alimentar é quantitativa e deve garantir a correta ingestão de nutrientes aos reprodutores, além de satisfazer às exigências da produção (GONÇALVES et al., 2015; MACARI et al., 2013a). Embora as exigências

nutricionais para as aves já sejam bem estabelecidas, há discussões frequentes devido esses animais estarem evoluindo continuamente (MORAIS et al., 2012).

Para obter uma matriz bem nutrida, é importante acompanhar as fases de desenvolvimento, desta forma, ela irá alcançar o pico de produção e ter uma boa persistência de produção de ovos. As fases de desenvolvimento de uma matriz são divididas em duas categorias: antes da produção e produção de ovos incubáveis, sendo a primeira subdividida: inicial (1 a 8 semanas), Crescimento I (9 a 12 semanas), Crescimento II (13 a 18 semanas), Pré-reprodução (19 a 24 semanas), e na segunda fase: Reprodução I, Reprodução II e Reprodução III (ROSTAGNO et al., 2017).

O período inicial da matriz é o momento que a ave necessita de nutrientes para o desenvolvimento adequado do sistema ósseo, intestinal, cardiovascular e imunológico (YAIR; UNI, 2011). A quantidade de ração ingerida nesta fase é pequena, porém o adensamento da dieta e o manejo correto de arraçoamento é indispensável para que as aves alcancem o peso e a uniformidade preconizados pela linhagem.

O período de crescimento, também conhecido como período de manutenção, é a etapa de preparação, a qual está ligada à expressão "Matar o frango de corte que está dentro da matriz”. Nesta fase, as aves apresentam maior voracidade, assim se utiliza da técnica de manejo nutricional de restrição alimentar para que não maturidade sexual precoce. O peso corporal e a reserva de gordura são pontos a considerar nesta fase. É importante que as aves tenham quantidade de carne e reservas de gordura suficientes para mantê-las durante o resto da vida, para que tenham uma boa persistência de produção.

A fase de pré-reprodução é marcada pela maturidade sexual, fase que ave está apta à reprodução. Assim, algumas estratégias são realizadas, como o aumento de cálcio para 1,2 -1,5 % de cálcio para a incremento no osso medular.

A fase de produção se inicia quando a ave bota o seu primeiro ovo. Peso corporal, produção de ovos, consumo de ração são característica devem caminhar juntas até a ave atingir seu pico de produção. Quando a taxa de produção de ovos começa a cair surge a necessidade de reduzir o fornecimento de ração, caso contrário haverá ganho de peso.

A nutrição materna pode afetar o desenvolvimento embrionário e o crescimento da progênie devido a todos os nutrientes requeridos para o desenvolvimento do embrião advirem da transferência de nutrientes pela mãe tanto como para a formação do ovo (EMAMVERDI et al., 2019; OZLU; ELIBOL; BRAKE, 2018; RICHARDS, 1997).

1.2.2 Aspectos nutricionais dos galos

Para a maximização da lucratividade da cadeia produtiva de frango de corte, deve-se também dar atenção a fertilidade e a nutrição do galo, uma vez que reprodutores machos determinam a quantidade e qualidade da progênie produzida (RUTZ et al., 2007), além de serem os maiores responsáveis por transmitir características de alto potencial genético para gerar uma progênie (BONGALHARDO, 2013).

Assim como nas matrizes, a alimentação dos galos apresenta restrições quantitativas, e caso, haja deficiências nutricionais advindas do manejo alimentar, pode ocasionar a redução da eficiência reprodutiva. Estudos relacionando nutrição e reprodução de galos são pouco explorados, entretanto são necessários pois a evolução genética é constante. A nutrição do galo influência diretamente o desenvolvimento das gônadas favorecendo o aumento do peso testicular e a produção de esperma, além de reduzir características fisiológicas indesejáveis (GONÇALVES et al., 2015).

O sistema reprodutivo de galos, quando comparado ao de mamíferos, apresenta particularidades. Ele é composto por dois testículos grande e ligeiramente assimétricos, sendo o testículo esquerdo maior que o direito. São localizados na cavidade celômica (GONÇALVES et al., 2015) e aderidos à parede corporal por uma prega derivada do peritônio e do mesórquio (MORAIS et al., 2012). Os testículos de galos permanecem a uma temperatura de 41 a 43° C sem que formação espermatogênica seja comprometida (RUTZ et al., 2007). Os galos apresentam pequenos epidídimos em forma de túbulos seminíferos, revestidos internamente por células de Sertoli e células germinativas (MORAIS et al., 2012), onde acontece o processo de espermatogênese.

Outra particularidade, é a ausência de órgãos acessórios e órgão penetrador, de forma que, quando os espermatozoides passam pelos túbulos seminíferos e segue para os ductos deferentes, fixados à parede dorsal do corpo, e desembocam no falo na região dorsolateral da cloaca. O falo entra em contato com a vagina durante a cópula e assim transferido o fluído seminal e o espermatozoide para a fêmea (RUTZ et al., 2007).

Os espermatozoides de galos apresentam alta quantidade de ácidos graxos poliinsaturados que os predispõem à peroxidação lipídica, diminuindo assim sua fertilidade (AKHLAGHI et al., 2014; BORGES et al., 2011). Os lipídeos com parte integrante desta membrana se tornam suscetíveis à peroxidação lipídica. Com isso, o processo de estresse oxidativo tende diminuir na motilidade do espermatozoide e aumentar a porcentagem de células mortas (SURAI et al., 1998). Portanto a ação da enzima peróxido dismutase é importante para proteger os espermatozoides das espécies

reativas de oxigênio, sendo os microminerais, como Se, Mn e Zn de suma importância como cofatores desta enzima (BARKER; PARKERE; MCDANIEL, 2005).

1.2.3 Minerais

Nas aves, os minerais representam aproximadamente 4% do peso vivo (; BERTECHINI et al., 2013; SAKOMURA et al., 2014; ARAÚJO; ZANETTI, 2019). Quando se compara a quantidade de nutriente adequada ao animal, os minerais representam uma parcela ínfima sobre a energia e proteína (ARAÚJO; ZANETTI, 2019) embora os minerais sejam imprescindíveis para manter o animal vivo (SAKOMURA et al., 2014).

Os minerais são divididos em duas categorias, e o que os diferenciam é a quantidade requerida pelo animal. Em grande quantidade, sete elementos químicos são necessários: cálcio (Ca), sódio (Na), fosforo (P), magnésio (Mg), potássio (K), cloro (Cl) e enxofre (S), estes chamados de macrominerais. Outros elementos, não menos importantes, mas requeridos em menores quantidades, são os microminerais (cobre (Cu), ferro (F), iodo (I), manganês (Mn), selênio (Se) e zinco (Zn)) (VIEIRA, 2008).

Na dieta das aves, a suplementação de minerais é indispensável, de modo que, não existe ingrediente que possua todos os minerais requeridos pelo animal. Essa suplementação é diferenciada de acordo com a categoria dos minerais, os macrominerais são adicionados em quantidades maiores e equivalem a mais de 100 mg/kg, já os microminerais são suplementados em quantidades menores que 100 mg/kg (ARAÚJO; ZANETTI, 2019).

Os microminerais são minerais presente nos tecidos em pequenas quantidades. No geral, os microminerais no organismo têm diferentes funções: estrutural, fisiológica, catalítica e regulatória. Estrutural: compõem as estruturas dos órgãos e tecidos, além de contribuir para a estabilidade estrutural das moléculas e de suas membranas. Fisiológica: participam da manutenção da pressão osmótica, equilíbrio ácido-básico, permeabilidade da membrana e transmissão de impulsos nervosos. Catalítica: atuam como catalisadores enzimáticos e no sistema endócrino. Regulatória: regulam a replicação e diferenciação celular (NRC, 1989).

Uma das características dos minerais, em geral, é a sua capacidade de interações que podem ser sinérgicas ou antagônicas sobre a absorção, metabolismo e excreção de minerais (ARAÚJO; ZANETTI, 2019; NRC, 1994). As eventuais interações provocadas por sinergia entre os minerais melhoram simultaneamente a absorção no trato

gastrintestinal e realizam a mesma função metabólica, já as antagônicas tanto prejudicam a absorção quanto impedem a função bioquímica, em que podem agir nos processos de absorção gastrintestinal (SAKOMURA et al., 2014).

Tal característica traz a complexidade nos estudos dos minerais. Para entender o efeito dos minerais na dieta são realizados ensaios experimentais comparativos, onde há o confronte de uma fonte contra a outra, e que aborde a biodisponibilidade do mineral. A biodisponibilidade de nutrientes, é definida pela porção ingerida sobre a porção absorvida e disponível para utilização no metabolismo. Assim, para medir a resposta do animal utiliza-se no mínimo três níveis de cada elemento mineral e avaliam-se as características zootécnicas, deposição do mineral nos tecidos, determinação de compostos, entre outros (ARAÚJO; ZANETTI, 2019).

Os microminerais, cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) impactam diretamente a saúde e desenvolvimento das aves. Os microminerais são essenciais e estão presentes na síntese e deposição de tecido conectivo e ossos, fluidos e tecidos corporais, além de ser componentes de sistemas enzimáticos e do sistema nervoso (UPADHAYA; KIM, 2020). Esses elementos atuam como catalisadores ou cofatores estruturais de enzimas e proteínas contendo metais que estão contidos nas células e membranas extraembrionárias do embrião, compostos importantes para a manter o embrião vivo (LONDERO et al., 2020).

Com o avançar da idade das aves, a produção e a qualidade dos ovos sofrem redução e concomitantemente perdas econômicas (QI et al., 2019) as quais podem estar podem estar correlacionadas ao dano celular e estresse oxidativo dos tecidos e a atividade da enzima superóxido dismutase, enzima que tem como cofator o Cu, Mn e Zn (BLANCHAR D et al., 2001; RICHARDS et al., 2010).

Os microminerais estão presentes em vários processos bioquímicos, atuando como cofator de várias enzimas e fatores de transcrição. Apresenta função no desenvolvimento imunológico e resposta, desenvolvimento e integridade de tecidos e ossos, estresse oxidativo e crescimento e divisão celular, entre outros (RICHARDS et al., 2010).

1.2.4 Microminerais orgânicos

Em aves, a biodisponibilidade dos microminerais é considerada baixa devido intemperes como: intrínsecos (sexo, idade, espécie, estado fisiológico, saúde e comportamento individual) e extrínsecos (consumo e relação entre minerais, nível de

vitaminas, proteínas, fibra, lipídeos) ao animal, fonte mineral (granulometria, concentração de outros minerais, cristalinidade, fonte matéria-prima, etc.) e processo de tratamento (peletização) da ração (MILES; HENRY, 2000).

Na dieta das matrizes, a concentração de microminerais e sua disponibilidade são correlacionados com a quantidade de minerais depositada no ovo e utilizada pelo embrião (DIBNER et al., 2007; KIDD, 2003). Desta forma, é de suma importância avaliar a disponibilidade dos microminerais para a suplementação. Existe duas fontes são elas: inorgânica e orgânica. Os microminerais inorgânicos, sulfatos e óxidos, são as fontes mais utilizadas na indústria devido seu baixo custo, embora no trato gastrointestinal das aves, em pH baixo, os sais de microminerais tendem a se associar, o que facilita a interação entre eles e dificulta a absorção (AKSU et al., 2010; UNDERWOOD; SUTTLE, 2001).

Quando a suplementação de microminerais é feita pelas formas inorgânicas, sulfato e óxidos utiliza-se dieta uma margem de segurança maior, ou seja, se adiciona a mais do que exigido pelas aves para não limitar o desempenho produtivo. Por conseguinte, o excesso de mineral que não será absorvido pelo animal será excretado e eliminado no meio ambiente (CASE; CARLSON, 2002). Além disso, os óxidos são agentes oxidantes e quando armazenados por período de tempo podem desnaturar vitaminas susceptíveis a oxidação (LEESON; SUMMERS, 2005).

Os microminerais orgânicos que, por definição são íons metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica formando estrutura única e estável (CAPUTI, 2013) tendem a apresentarem melhor absorção por estarem associados a moléculas que facilitam a passagem nas células, razão pela qual se aumenta a biodisponibilidade de nutrientes para os tecidos (LEESON; SUMMERS, 2001).

A absorção dos microminerais nas aves é complexa e dependente das característica físico-química do intestino (BERTECHINI et al., 2013). A estabilidade da quelatação é importante, já que, a complexação é influenciada tanto pelos metais quanto pelos ligantes. Assim, é interessante que o quelato seja altamente estável, para que não seja propenso à dissociação e perda no trato gastrintestinal e deve ser capaz de dissociar e permitir o uso do metal no metabolismo quando necessário (AKSU et al., 2010; CAO et al., 2000).

Estudos comprovam que a utilização da dieta materna com minerais orgânicos melhorou suas características de desempenho produtivo: produção de ovos (LONDERO et al., 2020), peso do ovo, espessura da casca e resistência da casca (ARAÚJO et al., 2019), reprodutivas: fertilidade dos ovos (LONDERO et al., 2020).

De acordo com a Associação Americana de Controle de Alimentos (AAFCO, 1998) as classificações de minerais orgânicos se devem a partir da diferenciação do ligante (Tabela 1.1). Eles podem ser: monodentados - um íon metálico com uma molécula ou um íon com um único par de elétron, de bi, tri ou tretadentados ou polidentados - quando tem dois ou mais átomos doadores, quelatos - um ou mais anéis heterocíclicos contendo um átomo metálico e aminoácidos - (bidentados) ligam-se a íons metálicos a partir de oxigênio do grupo carboxílico e do nitrogênio do grupo amino (RUTZ; MURPHY, 2009).

Os quelatos de aminoácidos são considerados ligantes ideais, já que sua composição química tem um grupo amino e carboxílico e permite a ligação com o mineral que em sua maioria, são os metais de transição, cobre, manganês e zinco, devido as características físico-químicas permitirem a formação, o que torna complexos biologicamente estáveis (RUTZ; MURPHY, 2009).

Tabela 1.1 - Classificação dos microminerais

Mineral orgânico	Definição	Exemplo
Complexo metal-aminoácido	Quelato resultante na junção de um sal metálico solúvel e com um ou + aas ou um aa específico	Complexo cobre aminoácido,
Metal aminoácido quelato	Sal metálico na forma orgânica com um aa que consiste na introdução da molécula inorgânica dentro da molécula do aa	Quelato de aminoácido de cobre
Metal complexo	Complexação de um sal metálico com um aa específico	Complexo de cobre-lisina, complexo de zinco-lisina
Complexo metal-polissacárido	Sal solúvel complexado com uma solução de polissacarídeo.	Complexo zinco polissacarídeo.
Proteinato metal	Complexação de um sal solúvel com aas e ptn a parcialmente hidrolisada.	Proteinato de manganês
Propionato de metal	Sal metálico com ácido propiônico	Propionato de zinco.
Quelato metionina hidroxil análoga	Sal metálico com ácido 2-hidroxi-4-metiltiobutanóico (HMTBa), tendo uma razão molar quelatada de um molar de metal para 2 mol de HMTBa para formar ligações covalentes coordenadas.	Quelato metionina hidroxil análoga de zinco

Fonte: Adaptado da (AAFCO, 1998).

O quelato metionina hidroxi análoga é a complexação da metionina hidroxi análogo (MHA), que não é um aminoácido, mas um ácido orgânico que tem como percursor o ácido 2-hidroxi-4- (metil) butanóico e se difere da metionina por ter um grupo hidroxil no carbono alfa em vez de um grupo amino. No organismo é rapidamente convertido em L-metionina (DIBNER, 2003) com um mineral de transição (Cu, Zn e Mn) e exerce diversas funções como a síntese de proteínas, metabolismo lipídico, regulação do sistema imunológico, funções digestivas e antioxidantes (WANG et al., 2019b).

No trato gastrointestinal, os microminerais orgânicos em geral devem se tornar solúveis antes de alcançar os locais de absorção. No estômago das aves, o pH fica acima de 2,7 devido a ação do ácido clorídrico. Desse modo, a proteína ingerida desnatura, expondo os seus sítios onde a pepsina exerce sua ação (RUTZ et al., 2015). A maioria dos quelatos de metal de AA dissociam a um pH inferior a 3 ou superior a 9 (CAO et al., 2000). O MHA é absorvido no jejuno e íleo e geram S-adenosilmetionina (WANG et al., 2019b) que é o doador universal de metil para as reações de metilação, incluindo a histona e a metilação do ADN, sendo uma parte crucial do código epigenético que medeiam a regulação da expressão gênica (MENTCH; LOCASALE, 2016).

1.2.5 Ação dos microminerais orgânicos

1.2.5.1 Ação da suplementação de micromineral orgânicos na dieta de matrizes pesadas

Todas as necessidades nutricionais do embrião de aves dependem exclusivamente dos componentes do ovo (gema e albúmen). As aves têm uma baixa capacidade de absorver microminerais sob a forma inorgânica e assim utiliza-se uma quantidade mais do que exigido pelas aves para não limitar o desempenho produtivo. Esse excesso de mineral não será absorvido pelo animal e sim excretado e eliminado no meio ambiente (CASE; CARLSON, 2002).

Zorzetto et al. (2021), ao compararem o efeito do selenito de sódio (SS) com a hidroxisselenometionina (OH-SeMet) sobre o desempenho de matrizes de corte e sua progênie, constataram maior disponibilidade de OH-SeMet, fonte orgânica, quando comparada com SS, fonte inorganica. Os autores constataram que a concentração de Se (mg Se/kg de matéria seca) no albúmen e no ovo inteiro foram maiores quando as dietas foram suplementadas com a fonte orgânica. Favero et al. (2013) avaliaram o efeito do micromineral (Zn, Cu e Mn) nas propriedades estruturais da tíbia da progênie na fase embrionária. Observaram que as matrizes que receberam a dieta com micromineral

orgânico determinaram progênies com maior porcentagem de calcificação da tibia na fase final de incubação quando comparado aos demais tratamentos.

Araújo et al. (2019) realizaram um estudo comparativo da suplementação de fontes de microminerais (Cu, Fe, I, Mg, Se e Zn) na dieta de matrizes pesadas sobre o desempenho e as progênies. As matrizes que receberam a fonte orgânica tiveram melhores resultados para produção de ovos, peso do ovo, espessura da casca e resistência da casca. A dieta materna de fonte orgânica diminuiu o peso da progênie ao nascimento (0,93 g) quando comparado a fonte inorgânica, situação observada apenas às 35 semanas de produção. Embora, ao avaliar o período completo de produção (35, 47 e 53 semanas de idade), os frangos provenientes da dieta materna orgânica aumentaram o peso corporal, consumo de ração e ganho de peso, em todos os períodos, exceto para CR às 53 semanas e reduziu a conversão alimentar às 53 semanas.

Por outro lado, Umar Yaqoob et al. (2020) realizaram um experimento para avaliar o efeito da substituição de microminerais inorgânicos por orgânicos (Glicinatos complexados) em diferentes dosagens sobre o desempenho reprodutivo das matrizes e observaram que a substituição de glicinatos complexados níveis mais baixos reduziu a taxa de fertilização ($P < 0,01$), embora não tenha afetado a eclodibilidade. Os autores concluíram que é possível reduzir os níveis de microminerais na dieta de matrizes quando a suplementação é feita na forma de glicinatos complexados, confirmando a maior disponibilidade de nutrientes quando comparado ao uso de micromineral inorgânico.

1.2.5.4 Ação da suplementação de micromineral orgânicos na dieta de galos

A suplementação de microminerais orgânicos nas dietas dos galos melhoram as características de qualidade de sêmen (JAFARI; IRANI; REZAEIPOUR, 2021; SHAN et al., 2017).

O micromineral zinco é cofator de enzimas envolvidas na produção de hormônios sexuais. Em estudo com ratos, foi observado que a deficiência de zinco prejudica o nível de testosterona, a inibição da espermatogênese e defeitos nos espermatozoides, além disso, o zinco aumenta o tempo de vida funcional dos espermatozoides ejaculados (FAVIER, 1992). Jafari, Irani e Rezaeipour (2021) avaliaram a suplementação de diferentes fontes de Zn: uma dieta basal sem qualquer adição de zinco, dieta suplementada com 110mg Zn (sulfato)/kg, dieta com 110mg Zn (orgânico)/kg e dieta suplementada com 110mg Zn (hidróxido)/kg e observaram que para as características de motilidade espermática, integridade, morfologia, viabilidade e concentração de espermatozoides

foram ($p<0,05$) mais altos para os galos alimentados com a dieta de 110mg Zn (orgânico)/kg quando comparado ao sem a suplementação de Zn.

O cobre é um elemento essencial no sistema reprodutivo. Está presente no metabolismo dos hormônios andrógenos, estrogénio e progesterona, juntamente com as prostaglandinas (FAVIER, 1992). Devido o cobre ser o precursor da dopamina β-hidroxilase, enzima responsável pela catalisa de dopamina para norepinefrina (MCCOY; SNEDDON, 1983), a deficiência de cobre para machos pode afetar o nível de testosterona (FAVIER, 1992). Em estudo associado a suplementação de Zn e Cu orgânicos foi observado aumento na expressão de genes de enzimas de defesa antioxidantes (ARANGASAMY et al., 2018). Os microminerais atuam como cofatores das enzimas responsáveis na prevenção da peroxidação lipídica (Zn/Cu-Mn Superóxido dismutase), uma ação letal para os espermatozoides (SHAN et al., 2017).

Surai et al. (1998) estudaram o efeito da suplementação de vitamina E e do micromineral selênio na dieta de galo sobre a susceptibilidade de peroxidação lipídica nos espermatozoides e observaram que espermatozoides que apresentavam aumento da atividade de glutationa peroxidase, enzima que catalisa a degradação dos peróxidos lipídicos, e mostraram resistência à peroxidação lipídica, especialmente após armazenamento de esperma.

Shan et al. (2017), ao substituírem o micromineral (Zn, Mn, Cu, Fe e Se) inorgânico pelo micromineral orgânico na dieta de reprodutores machos, observaram um aumento os níveis de testosterona sérica, e este aumento induziu a expressão de enzimas relacionadas com a biossíntese de testosterona. Além disso, foi evidenciado um aumento significativo para as características de sêmen dos animais que receberam a dieta com mineral orgânico ($p<0,05$), tais como volume de sêmen, densidade e motilidade do sêmen de 31 a 35 semanas.

Londero et al. (2020) realizaram um estudo com suplementação de minerais orgânicos na dieta de galos e observaram um maior vigor do esperma para os galos alimentados com o a dieta basal (BD - microminerais inorgânicos) + 800 g de microminerais orgânicos em relação aos que receberam apenas a dieta basal do que os galos alimentavam o BD.

Por outro lado, o excesso do micromineral Mn na dieta de galos pode afetar o desenvolvimento dos testículos, prejudicando espermatogênese, ou seja, aumentando a quantidade de espermatozoides anormais e diminuição da motilidade do esperma (YANG et al., 2019).

1.3 Referências

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. (AAFCO) **Publicação oficial da Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos** (Ed. Paul. M. Bachman). p. 237-238. 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório anual**. 2021. Disponível em: http://abpa-br.org/mercados/. Acesso em: 13 jan. 2022.

AKHLAGHI, A.; AHANGARI, J. A.; ZHANDI, M., PEEBLES, E. D. Reproductive performance, semen quality, and fatty acid profile of spermatozoa in senescent broiler breeder roosters as enhanced by the long-term feeding of dried apple pomace. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 147, n. 1-2, p. 64-73, 2014.

AKSU, D. S.; AKSU, T.; OZSOY, B.; BAYTOK, E. The effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in Broiler Diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 23, n. 8, p.1066-1072, 2010.

ALMEIDA PAZ, I.; MENDES, A.; QUINTERIO, R.; VULCANO, L.; TAKAHASHI, S.; GARCIA, R.; KOMIYAMA, C.; BALOG, A.; PELÍCIA, K.; WESCHELER, F.; SCUDELLER, P.; PICCININ, A. Bone mineral density of tibae and femura of broiler breeders: growth, development and production. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8, p. 75-82, 2006.

AO, T.; PIERCE, J. L.; POWER, R.; PESCATORE, A. J.; CANTOR, A. H.; DAWSON, K. A.; FORD, M. J. Effects of feeding different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 10, p. 2171-5, 2009.

ARANGASAMY, A.; SHARMA, R. B.; HEMALATHA, K.; VENKATA KRISHNAIAH, M.; SELVARAJU, S.; PUSHPA RANI, G.; BINSILA, B. K.; SOREN, N. M.; REDDY, I. J.; RAVINDRA, J. P.; BHATTA, R. Relationship of organic mineral supplementation and spermatozoa/white blood cells mRNA in goats. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 197, p. 296-304, 2018.

ARAUJO, L. F.; ARAUJO, C. S. S.; MCDANIEL, D.; MCINTYRE, D. A study assessing hen and progeny performance through dam diet fortification with a Saccharomyces cerevisiae fermentation product. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 22, n. 4, p. 872-877, 2013.

ARAUJO, L. F.; ARAUJO, C. S. S.; PEREIRA, R. J. G.; BITTENCOURT, L. C.; SILVA, C. C.; CISNEROS, F.; HERMES, R. G.; SARTORE, Y. G. A.; DIAS, M. T. The dietary supplementation of canthaxanthin in combination with 25OHD3 results in reproductive, performance, and progeny quality gains in broiler breeders. **Poultry Science**, Champaign, v. 198, n. 11, p. 5801-5808, 2019.

ARAÚJO, L. F.; ZANETTI, M. A. **Nutrição animal**: minerais. Barueri-SP: Manole, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10520**: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

BARBER, S. J.; PARKER, H. M.; MCDANIEL, C. D. Broiler breeder semen quality as affected by trace minerals in vitro. **Poultry Science**, Champaign, v.84, n. 1, p. 100-5, 2005.

BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos minerais. *In*: BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2013. p. 209-239.

BLANCHARD, R. K.; MOORE, B. J.; GREEN, C. L.; COUSINS, R. J. Modulation of intestinal gene expression by dietary zinc status: Effectiveness of cDNA arrays for expression profiling of a single nutrient deficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 24, p. 13507-13513, 2001.

BONGALHARDO, D. C. Produção e preservação do sêmen de galos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 131-135, abr./jun. 2013.

BORGES, J. C.; SILVA, M. R.; GUIMARÃES, J. D.; ESPER, C. R.; FRANCESCHINI, P. H. Plasmatic membrane of bovine spermatozoa: effect of the species oxygen reactive, antioxidant and cryopreservation. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 3, p. 303-314, jul./set. 2011.

CAO, J.; HENRY, P.R.; GUO, R.; HOLWERDA, R. A.; TOTH, J. P.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 8, p. 2039-54, 2000.

CAPUTI, B. (coord.). **Compêndio brasileiro de alimentação animal**: 2013. 4. ed. São Paulo: Sindirações, 2013.

CASE, C. L.; CARSON, M. S. Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1917-1924, 2002.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D.; KITCHELL, M. L.; QUIROZ, M. A. Metabolic challenges and early bone development. **Journal of Applied Poultry Research**, v.16, p.126-137, 2007.

DIBNER, J. J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 59, p. 99-110, 2003.

EMAMVERDI, M.; ZARE-SHAHNEH, A.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; MINAI-TEHRANI, D.; KHODAEI-MOTLAGH, M. An improvement in productive and reproductive performance of aged broiler breeder hens by dietary supplementation of organic selenium. **Theriogenology**, Los Altos, v. 126, p. 279-285, 2019.

FAVERO, A.; VIEIRA, S. L.; ANGEL, C. R.; BOS-MIKICH, A.; LOTHHAMMER, N.; TASCHETTO, D.; CRUZ, R. F.; WARD, T. L. Development of bone in chick embryos from Cobb 500 breeder hens fed diets supplemented with zinc, manganese, and copper

from inorganic and amino acid-complexed sources. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 402–411, 2013.

FAVIER, A. E. The role of zinc in reproduction. Hormonal mechanisms. **Biological Trace Element Research**, London, v. 32, p. 363–382, 1992.

GONÇALVES, F.; SANTOS, V.; FARINA, G.; OLIVEIRA, C.; ANCIUTI, M.; RUTZ, F. Nutritional aspects and reproductive management of roosters in Brazil. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 7, n. 3, p. 515-522, 2015.

GÜZ, B. C.; MOLENAAR, R.; DE JONG, I. C.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H.; VAN KRIMPEN, M. Effects of dietary organic minerals, fish oil, and hydrolyzed collagen on growth performance and tibia characteristics of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 98, p. 6552-6563, 2019.

JAFARI, M.; IRANI, M.; REZAEIPOUR, V. Effect of different dietary zinc sources on the semen quality, testicular histology and sex hormone concentration in broiler breeder roosters. **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 20, p. 489–496, 2021.

KENNY, M.; KEMP, C. Breeder nutrition and chick quality. **International Hatchery Practice**, East Yorkshire, v. 19, n. 4, p. 7-11, 2005.

KIDD, M.T., A treatise on chicken dam nutrition that impacts on progeny. **World's Poultry Science Journal,** v.59, p.475–494, 2003.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Commercial poultry nutrition**. Guelph, Ont.: University Books, 2005.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. Guelph, Ont.: University Books, 2001.

LONDERO, A.; PIRES ROSA, A.; GOLIN LUIGGI, F.; OLIVEIRA FERNANDES, M.; GUTERRES, A.; MOURA, S. D.: HETTWER PEDROSO, N.; SANTOS, N. Effect of supplementation with organic and inorganic minerals on the performance, egg and sperm quality and, hatching characteristics of laying breeder hens. Animal Reproduction Science, Amsterdam, v. 215, p. 106309, 2020.

MACARI, M.; GONZALES, E.; PATRÍCIO, I. S.; NÄÄS, I. A.; MARTINS, P. C. Nutrição da matriz. *In*: MACARI, M. *et al*. **Manejo da incubação**. 3. ed. Jaboticabal: FACTA, 2013a. p. 1633-213.

MANANGI, M. K.; VAZQUEZ-AÑON, M.; RICHARDS, J. D.; CARTER, S.; BURESH, R. E.; CHRISTENSEN, K. D. Impact of feeding lower levels of chelated trace minerals versus industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance, yield, footpad health, and litter mineral concentration. **The Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 21, p. 881-890, 2012.

MCCOY, E.; SNEDDON, J. M. Cell biological aspects of Down's Syndrome. **Advances in Cellular Neurobiology**, [*s.l.*], v. 4, p. 249-266, 1983.

MENTCH, S. J.; LOCASALE, J.W. One-carbon metabolism and epigenetics: understanding the specificity. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1363, p.91-8, 2016.

MILES, R. D.; HENRY, P. R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 1, n. 2, p. 73-93, 2000.

MORAIS, M. R. P. T.; VELHO, A. L. M. C. S.; DANTAS, S. E. S.; FONTENELE-NETO, J. D. Morfofisiologia da reprodução das aves: desenvolvimento embrionário, anatomia e histologia do sistema reprodutor. **Acta Veterinária Brasílica**, Mossoró, v. 6, n. 3, p. 165-176, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Committee on Diet and Health. **Diet and health**: implications for reducing chronic disease risk. Washington (DC): National Academies Press, 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of poultry. 1994, p. 13-14.

ÖZLÜ, S.; ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of storage temperature fluctuation on embryonic development and mortality, and hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, Champaign, v. 97, p. 3878–3883, 2018.

PFAFFL, M.W.; GERSTMAYER, B.; BOSIO, A.; WINDISCH, W. Effect of zinc deficiency on the mRNA expression pattern in liver and jejunum of adult rats: Monitoring gene expression using cDNA microarrays combined with real-time RT-PCR. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stonenham, v. 14, n. 12, p. 691-702, 2003.

QI, X.; SHUXUE, M.; LIU, X.; WANG, Y.; LIU, Y.; GAO, Y.; MIN, Y. Effects of the methionine hydroxyl analogue chelate zinc on antioxidant capacity and liver metabolis musing1H-NMR-based metabolomics in aged laying hens. **Animals**, Basel, v. 9, p. 898-910, 2019.

RICHARDS, J. D; ZHAO, J.; HARRELL, R. J.; ATWELL, C. A.; DIBNER, J. J. Trace mineral metabolism in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 23, n. 11, p. 1527-1534, 2010.

RICHARDS, M. P. Trace mineral metabolism in the avian embryo. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 152-64, 1997.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017.

RUTZ, F.; ROLL, V. F. B.; XAVIER, E. G.; ANCIUTI, M. A.; LOPESS, D. C. N. **Fisiologia da digestão e da absorção em aves**. 2015. Disponível: https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/fisiologia-digestao-absorcao-aves-38668.htm. Acesso em: 12 jan. 2022.

RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL - CBNA, Campinas, SP. **Anais** [...]. Campinas, 2009. p. 21-36.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; XAVIER, E. G.; ROLL, V. F. B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.307-317, 2007.

SAKOMURA, N. K. Enzimas na nutrição de monogástricos. *In*: SAKOMURA, N. K. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2014. p. 466-484.

SHAN, T.; DAI, P.; ZHU, P.; CHEN, L.; WU, Q.; Li, Y.; LI, C. Effect of an Organic Trace Mineral Premix on the Semen Quality, Testicular Morphology and Gene Expression Related to Testosterone Synthesis of Male Broiler Breeders. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.19, n.3, p. 481-488, 2017.

SURAI, P; KOSTJUK, I; WISHART, G; MACPHERSON, A; SPEAKE, B; NOBLE, R; IONOV, I; KUTZ, E. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. **Biological Trace Element Research**, London, v. 64, n. 1-3, p. 119-132, 1998.

THOMAZ, M. C.; WATANABE, P. H.; PASCOAL, L. A. F.; ASSIS, M. M.; RUIZ, U. S.; AMORIM, A. B.; SILVA, S. Z.; ALMEIDA, V. V.; MELO, G. M. P. Inorganic and organic trace mineral supplementation in weanling pig diets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 1071-1081, 2015.

TORRES C.; KORVER D. Maternal supplementation with organic Cu, Zn and Mn form affects chick bone development at hatch. Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, France, 2011.

UNDERWOOD, E.; N. SUTTLE. **The Mineral nutrition of livestock**. London, UK: CABI Publishing, 2001.

UPADHAYA, S.D.; KIM, I.H. Importance of micronutrients in bone health of monogastric animals and techniques to improve the bioavailability of micronutrient supplements — A review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v.33, p. 1885–1895, 2020. doi:10.5713/ajas.19.0945

VAN EMOUS, R. A.; KWAKKEL, R. P.; VAN KRIMPEN, M.M.; VAN DEN BRAND, H.; HENDRIKS, W.H. Effects of growth patterns and dietary protein levels during rearing of broiler breeders on fertility, hatchability, embryonic mortality, and offspring performance. **Poultry Science**, Champaign, v. 94, p. 681-691, 2015.

VIEIRA, S. L. Chelated minerals for poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 73-79, 2008.

WANG, G.; LIU, L.; WANG, Z.; PEI, X.; TAO, W.; XIAO, Z.; LIU, B.; WANG M, LIN, G.; AO, T. Comparison of inorganic and organically bound trace minerals on tissue mineral deposition and fecal excretion in broiler breeders. **Biological Trace Element Research**, London, v. 189, p. 224–232, 2019a.

WANG, Y.; YIN, X.; YIN, D.; LEI, Z.; MAHMOOD, T.; YUAN, J. Antioxidant response and bioavailability of methionine hydroxy analog relative to DL-methionine in broiler chickens. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 5, p. 241-247, 2019b.

YAIR, R.; UNI, Z. Content and uptake of minerals in the yolk of broiler embryos during incubation and effect of nutrient enrichment. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, n. 7, p. 1523-31, 2011.

ZHAO, X.; YANG, Z. B.; YANG, W. R.; WANG, Y.; JIANG, S. Z.; ZHANG, G. G. Effects of ginger root (Zingiber officinale) on laying performance and antioxidant status of laying hens and on dietary oxidation stability. **Poultry Science**, Champaign, v. 90, p. 1720-1727, 2011.

ZORZETTO, P. S.; ARAÚJO, C. S. S.; ARAÚJO, L. F.; ROQUE, F. A.; GRANGHELLI, C. A.; LEITE, B. G. C.; GONÇALVES, J. G.; CECCANTINI, M. L; FAGUNDES, N. S.; FONTINHAS-NETTO, G. V.; DE MARCO, M.; SURAI, P. F. Replacing dietary sodium selenite with a lower level of hydroxy-selenomethionine improves the performance of broiler breeders and their progeny, Italian Journal of Animal Science, Bologna, v. 20, n. 1, p. 1749-1758, 2021.

2 CAPITULO I
EFEITOS DOS MICROMINERAIS ORGÂNICOS NO DESEMPENHO DE MATRIZES PESADAS E SEU EFEITO NA PROGÊNIE

2.1 Introdução

Os microminerais, Cobre (Cu), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) são cofatores essenciais de centenas de enzimas celulares e fatores de transição que participam de uma grande variedade de processos bioquímicos e fisiológicos. O Zn desempenha um papel significativo em muitos processos biológicos, tais como proliferação celular e crescimento animal, desenvolvimento e resposta imunológica, reprodução, regulação gênica e defesa contra o estresse e dano oxidativo (ZHAO et al., 2016; LONDERO et al., 2020; QI et al., 2019). Como Zn, o cobre é essencial para uma grande variedade de funções relacionadas à saúde e ao desempenho dos animais, por exemplo, Cu regula a reticulação do colágeno, promovendo assim a força da pele, ossos, tendões e intestinos. (RATH et al., 1999). Mn é essencial para o crescimento e fertilidade dos animais e desempenha um papel muito importante no desenvolvimento ósseo no embrião e após o nascimento ou eclosão (FAWCETT, 1994; GALLUP; NORRIS, 1939; UNDERWOOD; SUTTLE, 2001).

Historicamente, as formas inorgânicas de Zn, Cu e Mn, tais como óxidos e sulfatos, têm sido suplementadas em dietas para animais devido ao baixo custo. Os sais inorgânicos tendem a se dissociar no ambiente de baixo pH do trato gastrointestinal superior, deixando os minerais suscetíveis a vários antagonismos de nutrientes, consequentemente, prejudicam a absorção, diminuindo assim a biodisponibilidade e aumentando a excreção de minerais e o estresse oxidativo (UNDERWOOD; SUTTLE, 2001). Por outro lado, as formas orgânicas de microminerais estão ligadas ao ligante(s) orgânico, o que proporciona estabilidade do complexo no sistema gastrointestinal superior, minimizando assim as perdas minerais aos antagonistas e permitindo que o complexo seja eficientemente entregue ao epitélio absorvente do intestino delgado para absorção mineral (LEESON; SUMMERS, 2001).

Deve-se notar que diferentes formas de minerais traços orgânicos não são igualmente estáveis a pH baixo e, portanto, sua biodisponibilidade poderia ser bem diferente (BROWN; ZERINGUE, 1994; CAO et al., 2000; GUO et al., 2001). Devido à maior biodisponibilidade dos microminerais orgânicos do que os microminerais inorgânicos, os microminerais bi-quelatados (MQ) são quelato de metionina hidroxi análogo (MHA), que não é um aminoácido, mas um ácido orgânico e difere precursor da metionina e difere da metionina por ter um grupo hidroxila em carbono alfa, ao invés de um grupo amino. Os MQ formam 2 anéis estruturais, que proporcionam uma maior proteção do metal, em condição de desafio, no trato gastrintestinal superior, resultando

em uma taxa de dissociação muito menor em relação a outras estruturas, como os complexos de aminoácidos metálicos orgânicos ou proteinatos. O MQ demonstram ser altamente biodisponível com maior síntese de metalotionina nos enterócitos e/ou uma quantidade maior de deposição de metal nos ossos que os microminerais inorgânicos (MIN et al., 2019; RICHARDS et al., 2015; YAN; WALDROUP, 2006). Numerosos estudos mostraram a melhoria dos microminerais orgânicos no desempenho produtivo, qualidade dos ovos, reprodução, status antioxidante, biodisponibilidade mineral e excreção de minerais fecais, reprodutores e, desenvolvimento ósseo em frangos de corte (ARAÚJO et al., 2019; GÜZ et al., 2019; WANG et al., 2019b; LONDERO et al., 2020). Entretanto, há estudos limitados avaliando os efeitos da dieta com menores níveis de microminerais orgânicos sobre o desenvolvimento de matrizes e o seu efeito na progênie. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar se dois microminerais orgânicos em níveis baixos e microminerais inorgânicos em níveis altos influenciam desempenho (inicial, crescimento e pré-reprodução e reprodução), qualidade dos ovos, saúde intestinal, desenvolvimento ósseo e gordura abdominal das matrizes de frangos de corte de 1 dia a 66 semanas de idade e o crescimento e desenvolvimento da progênie.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Animais e manejo

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo. O experimento foi conduzido no decorrer de abril de 2019 a setembro de 2020, por um período total foi de 66 semanas no Laboratório de Pesquisa em Aves do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), campus Fernando Costa, Pirassununga, São Paulo - Brasil.

Um total de 540 matrizes pesadas, Cobb 500 (Slow feathering), com um dia de idade foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos de 15 repetições com 12 aves cada, com um peso corporal uniforme (47,35 g ± 0,013 g). O experimento consistia de três tratamentos 1) MI: nível 1 de Zn, Cu e Mn via sulfatos 2) MQ - substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de quelato Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo 3) MO- substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de complexo Zn, Cu ou Mn-aminoácido.

Programa de alimentação, água e iluminação foram realizadas conforme as recomendações da empresa de genética. A alimentação dos animais foi à vontade até o 7º dia de idade e após esse período, a ingestão de ração foi controlada para que os animais não excedessem o peso, atingissem a maturidade sexual na idade adequada, para que o lote se mantivesse homogêneo. Da 1 a 24ª semana, semanalmente, foi realizado o ajuste de fornecimento de ração. A partir dos pesos, foi realizado a adequação na quantidade de ração a ser ofertada por tratamento de acordo com o manual da linhagem. A partir da 24ª a pesagem foi realizada quinzenalmente, para minimizar o estresse das matrizes na fase de postura.

Para que as matrizes tenham uma boa uniformidade, é importante garantir que todas as aves tenham o mesmo peso. No presente estudo, a seleção do lote reprodutor foi realizada duas vezes. Uma maneira de conseguir isso é separar os animais com sobrepeso e abaixo do peso médio, peso ideal às 4 semanas de idade e classificar e monitorar o peso corporal durante o período de crescimento. Isto foi seguido por uma triagem repetida com 10 semanas de idade, manuseando todos os machos e removendo machos subótimos com defeitos visuais, incluindo dedos tortos e dobrados, anormalidades e dedos dobrados, anormalidades na coluna vertebral, anormalidades nos olhos e no bico. Com 4 semanas, 3 aves por caixa foram retiradas do estudo e com 18 semanas outras 2 aves por caixa

foram retiradas do estudo, de acordo com seu peso corporal (± 10% do peso médio de referência).

Dietas basais que continham milho, farelo de soja e farelo de trigo (Tabela 1 e 2) foram formuladas de acordo com os requisitos nutricionais recomendados pelo guia da empresa genética (Cobb, 2020). O programa de alimentação foi dividido em 6 fases: inicial (0 a 4 semanas), crescimento (5 a 18 semanas), pré-reprodução (19 a 22 semanas), reprodução I (23 a 40 semanas), reprodução II (41 a 50 semanas) e reprodução III (51 a 66 semanas).

Tabela 2.1 - Composição da dieta basal de todos os períodos de desenvolvimento

Ingredientes	**Cria**	**Recria**	**PréRepr.**	**Repr. I**	**Repr. II**	**Repr. III**
Milho, 8,8 % CP	58,680	59,320	64,740	73,57	73,84	73,79
Farelo de Soja, 45% CP	28,380	14,250	17,760	19,340	19,000	19,020
Óleo de Soja	3,210	0	0	0	0	0
Farelo de Trigo	5,000	21,860	10,840	0	0	0
Premix*	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Fosfato Bicálcico	1,810	1,430	1,750	1,760	1,550	1,390
Calcário[1]	0,190	0,530	2,510	2,630	2,960	3,150
Sal	0,410	0,370	0,270	0,260	0,270	0,270
Bicarbonato de Na	0	0	0	0,150	0,150	0,150
Metionina MHA[2]	0,190	0,120	0,110	0,150	0,120	0,120
L-Lisina HCl, 78%	0,110	0,060	0	0,030	0,010	0,010
Treonina, 98%	0,020	0,060	0,020	0,010	0	0
Bacitracina Zn, 15%	0	0	0	0,100	0,100	0,100
Total	100	100	100	100	100	100
Níveis Calculados						
EM[3] (Kcal/kg)	2950	2763	2820	2820	2800	2780
Proteína bruta (%)	19,000	15,360	15,500	15,000	14,500	14,000
Lisina disp. (%)	0,920	0,640	0,630	0,660	0,630	0,630
AAS disp. (%)	0,690	0,540	0,540	0,570	0,542	0,542
Metionina disp. (%)	0,490	0,290	0,280	0,310	0,380	0,380
Treonina disp. (%)	0,640	0,520	0,520	0,500	0,473	0,473
Isoleucina (%)	0,720	0,510	0,520	0,500	0,549	0,549
Leucina (%)	1,510	0,820	0,820	0,740	0,730	1,297
Triptofano (%)	0,210	0,150	0,160	0,170	0,157	0,157
Valina (%)	0,770	0,470	0,490	0,530	0,504	0,504
Calcio (%)	1,000	1,000	1,500	2,900	3,100	3,200
Fósforo disp. (%)	0,450	0,400	0,440	0,420	0,380	0,350
Fosforo Total (%)	0,790	0,800	0,670	0,610	0,670	0,670
Cloro (%)	0,280	0,260	0,200	0,190	0,196	0,196
Potássio (%)	0,740	0,630	0,640	0,640	0,563	0,563
Sódio (%)	0,200	0,180	0,180	0,180	0,180	0,180
Ac. Linolênico	3,130	1,570	1,720	1,500	1,492	1,630

*Níveis de vitaminas fornecidos na ração através dos premixes (considerando inclusão de 20kg/Ton): Vit A – 12 000.000 UI; Vit D3 3 000.000 UI; Vit E 75 000 UI; Vit K 6 000 mg/ton; Tiamina 2500 mg/ton; Riboflavina 10 000 mg/ton; Ácido. Pantatênico 25 000 mg/ton; Niacina 40 000mg/ton; Piroxidina 6 000 mg/ton; Ácido Fólico 4 000 mg/ton; Vit B12 35mg/ton;
Biotina 300 mg/ton; Vit C 50 000mg/ton ; Colina 300 000 mg/ton.
[1]Calcario calcitíco: 50% granulometria fina /50% granulometria grossa
[2]MHA (84% metionina, 12% Ca, PB 49,3%, EM 4.014kcal/kg)
[3]Energia metabolizável

Tabela 2.2 - Concentrações de zinco (Zn), Cobre (Cu) e Manganês (Mg) em dietas de tratamento experimental

		Analizado			**Formulado**		
		MI	MQ	MO	MQ	MQ	MO
Zn	mg/kg	225,8	141,45	130,7	250	125	125
Cu	mg/kg	38,95	22,55	23,7	40	20	20
Mn	mg/kg	285,1	136,75	135,15	250	125	125

MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-amino ácido.

2.2.4 Desempenho zootécnico e reprodutivo

O crescimento e desenvolvimento das matrizes pesadas foram avaliados durante 66 semanas, compreendidas entre as fases de cria, recria, pré-reprodução, reprodução (I, II e III). No final de cada fase, as aves foram avaliadas individualmente para as características: peso médio corporal (kg), ganho de peso médio (kg), ganho de peso médio diário (g/ave/dia) consumo médio de ração (g), consumo médio de ração diário (g/dia), conversão alimentar corrigida e viabilidade (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Com 24 semanas de idade, as aves iniciaram a fase de produção, onde foi avaliado o desempenho produtivo das aves a partir do momento que as aves estabilizaram a produção (26 semanas). As características avaliadas foram: produção diária de ovos (número de ovos e porcentagem), massa de ovos (g) e conversão alimentar por massa de ovos. Os dados obtidos foram corrigidos, se houvesse mortalidade.

Com 28 semanas, as galinhas reprodutoras foram inseminadas com 0,5ml de sêmen fresco, que foi coletado por meio de massagem abdominal. Os ovos foram coletados do 3º dia até o 10º dia após a inseminação e colocados temporariamente em uma sala de armazenamento de ovos com a temperatura de 18ºC. Posteriormente, os ovos provenientes das matrizes foram incubados em uma incubadora comercial com viragem automática. A incubação foi realizada a uma temperatura de 37,7ºC e com umidade relativa do ar de 55-60%. O ovo era virado automaticamente a cada hora por um ângulo de 45º.

2.2.5 Experimento com a progênie

Dos ovos incubados provenientes das matrizes, foram utilizados 360 pintos, 180 machos e 180 fêmeas. Eles foram distribuídos de acordo com a dieta materna em 10 repetições e 12 aves (6 machos e 6 fêmeas) por um período de 45 dias de idade. A prole recebeu uma dieta basal (Tabela 2.3), para investigar o efeito da transferência de nutrientes da matriz para seus descendentes.

Tabela 2.3 - Composição da dieta basal de todos os períodos de desenvolvimento da progênie

Ingredientes (g/kg)	**Inicial** (1-14 dias)	**Crescimento** (15-28 dias)	**Final** (29-45 dias)
Milho, 8.8% PB	61,911	68,546	69,857
Farelo de Soja, 45% PB	33,410	27,200	25,420
Óleo de soja	0,947	0,874	1,384
Premix*	0,500	0,500	0,500
Fosfato bicálcico	1,169	0,972	0,990
Calcario[1]	0,952	0,857	0,861
Sal Comum	0,281	0,268	0,249
Bicarbonato de sódio	0,201	0,186	0,177
MHA-Metionina [2]	0,306	0,265	0,248
L-Lisina HCl, 78%	0,223	0,249	0,238
L-Treonina, 98%	0,042	0,025	0,018
Salinomicina, 12%	0,055	0,055	0,055
Phytaverse	0,003	0,003	0,003
Total	100	100	100
Composição calculada, %			
EMA[3], Kcal/kg	2965	3050	3100
Proteína bruta (PB)	19,000	15,360	17,793
Lisina disp.	0,920	0,640	0,630
AAS disp.	0,690	0,540	0,540
Metionina disp.	0,490	0,290	0,280
Treonina disp.	0,640	0,520	0,520
Isoleucina	0,720	0,510	0,520
Leucina	1,510	0,820	0,820
Triptofano	0,210	0,150	0,160
Valina	0,770	0,470	0,490
Calcio	1,000	1,000	1,500
Fósforo disp,	0,450	0,400	0,440
Fósforo Total	0,790	0,800	0,670
Cloro	0,280	0,260	0,200
Potássio	0,740	0,630	0,640
Sódio	0,200	0,180	0,180
Ac. Linoleico	3,130	1,570	1,720

*Níveis de vitaminas fornecidos na ração através dos premixes (considerando inclusão de 20kg/Ton): Vit A – 12 000.000 UI; Vit D3 3 000.000 UI; Vit E 75 000 UI; Vit K 6 000 mg/ton; Tiamina 2500 mg/ton;

Riboflavina 10 000 mg/ton; Ácido. Pantatênico 25 000 mg/ton; Niacina 40 000mg/ton; Piroxidina 6 000 mg/ton; Ácido Fólico 4 000 mg/ton; Vit B12 35mg/ton;
Biotina 300 mg/ton; Vit C 50 000mg/ton ; Colina 300 000 mg/ton.
[1]calcário calcitíco: 100% granulometria fina
[2]MHA (84% metionina, 12% Ca, PB 49,3%, EM 4.014kcal/kg)
[3]Energia metabolizável

As dietas dos frangos de corte foram baseadas em milho e farelo de soja com suplementação de MI - minerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos. O programa de alimentação foi dividido em 3 fases: inicial (1 a 14 dias); crescimento (1 a 28 dias) e final (1 a 45 dias). Água e ração foram fornecidas ad libitum. Ao final de cada fase, foram medidas as seguintes avaliações de desempenho: peso corporal (PC), ganho médio de peso corporal (GPM), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e índice de desempenho (ID).

2.2.6 Qualidade de ovo

A qualidade de ovos de matrizes pesadas foi avaliada às 28, 40, 50, 58 e 65 semanas de idade, por dois dias consecutivos, em que foram coletados todos os ovos para a avaliação. Os ovos foram identificados e, posteriormente, realizado as mensurações de peso do ovo (g), coloração de gema, espessura de casca (mm) e resistência da casca (kgf), por meio da máquina Digital Egg Tester (DET6000, Nabel Co.).

2.2.7 Saúde intestinal

Para determinar se os microminerais afetam a saúde intestinal, a expressão NF-B mRNA foi medida no jejuno de matrizes com 24 semanas de idade e nos seus descendentes com 1, 14 e 45 dias de idade. Para a extração do material genético do jejuno, foram cortados os cinco segmentos de jejuno de dois centímetros até o divertículo de Meckel, em seguida foi aberto o tecido cuidadosamente com uma tesoura esterilizada (álcool 70%) e limpo muito suavemente com PBS esterilizado a frio. Posteriormente, foi colocado em uma folha de alumínio, que foi fechada rápida e imediatamente e colocada dentro de nitrogênio líquido por, no mínimo, 24 horas e mantido em freezer (- 80ºC) até a análise.

O RNA foi extraído do tecido do jejuno usando o método Trizol® (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) de acordo com as instruções do fabricante e depois quantificado em um espectrofotômetro (NanoVue, GE Healthcare Life Sciences, Chicago, Illinois, EUA). As amostras foram tratadas com DNaseI (Invitrogen - Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) e a transcrição

reversa foi realizada com kits de transcrição reversa cDNA de alta capacidade (Applied Biosystems - Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). A análise RT-qPCR foi realizada utilizando o SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems-Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) de PCR em Tempo Real (Applied Biosystems- Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). As cartilhas adquiridas da Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) foram projetadas utilizando o OligoAnalyzer 3.1 (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, EUA) e estão listadas na Tabela 2.4. A concentração dos primers foi otimizada antes da reação da curva de eficiência e sua eficiência variou de 95%-105% e linearidade de amplificação r^2 maior que 0,99. A mudança relativa de dobra na quantidade de mRNA foi calculada de acordo com 2-ΔΔCT (Livak; Schmittgen, 2001).

Tabela 2.4 - A sequência de primers para qRT-PCR

Gene	Forward primer sequence (5'-3')	Reverse primer sequence (5'-3')	Accession number
β-actin	CAACACAGTGCTGTCTGGTGGTA	ATCGTACTCCTGCTTGCTGATCC	L08165
IL6	GAGGGCCGTTCGCTATTTG	ATTGTGCCCGAACTAAAACATTC	AJ309540
A20	AGGCTCCTCCTGTGGTAAAGC	GAAAAGGCTGGGAGCAGTTG	XM_003640919.2
NF-κB	GTGTGAAGAAACGGGAACTG	GGCACGGTTGTCATAGATGG	NM_205129
MUC2	GCCTGCCCAGGAAATCAAG	CGACAAGTTTGCTGGCACAT	BX930545
IL-1β	CAGCCCGTGGGCATCA	CTTAGCTTGTAGGTGGCGATGTT	NM_204524
TLR2	CGCTTAGGAGAGACAATCTGTGAA	GCCTGTTTTAGGGATTTCAGAGAATTT	NM_001161650.3

2.2.8 Qualidade óssea

A avaliação da qualidade óssea das matrizes foi realizada as 4, 18, 24 e 66 semanas de idade. A mesma ave que foi abatida para avaliação da gordura abdominal foi utilizada para a retirada da tíbia direita para tal avaliação. Foram mensuradas as características de matéria seca, comprimento, circunferência e resistência da tíbia. Para a densidade óssea foi calculado o índice Seedor, em que representa o peso do osso sobre o comprimento do osso (SEEDOR; QUARRUCCIO; THOMPSON, 1991).

As tíbias foram dessecadas para determinação da resistência óssea. Para tanto, foi utilizado uma máquina universal de ensaio EMIC®, modelo DL 3000, com carga aplicada à velocidade de 5 mm/min e a célula de carga de 2000 N. Mediante a análise foi

determinada a força máxima admitida pela tíbia e sua rigidez, variáveis que expressam a resistência óssea. No ensaio de flexão em três pontos, as tíbias ficaram apoiadas em aparato que as mantiveram na posição horizontal, com distância de vão de apoio em 3/4 do tamanho do osso, e a força foi aplicada da meia distância em vão.

A avaliação da matéria seca da tíbia foi realizada com base metodologia descrita pela Associação de Análises Químicas (AOAC, 2007). Para determinação da matéria seca foi calculado a diferença entre o peso do cadinho com a cinzas (g) pelo peso do cadinho limpo (g), o resto foi divido pelo peso da amostra original (g). O quociente foi multiplicado por 1000 para a conversão entre as unidades de massa (g e kg).

2.2.9 Gordura abdominal

A avaliação da gordura abdominal das matrizes pesadas foi realizada às 4, 18 e 24 semanas de idade. Para esta medida, 1 ave/caixa foi eutanasiada e pesada em uma balança analítica para a obtenção do peso corporal antes da remoção da gordura abdominal. O percentual de gordura abdominal foi calculado dividindo o peso da gordura abdominal pelo peso da ave e, em seguida, multiplicado o resultado em 100.

2.2.10 Análise estatística

Os resultados foram analisados e testados quanto ao atendimento aos pressupostos de homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos. A observação com um resíduo studentizado maior que três (em valor absoluto) foi considerada em alguns casos como um outlier.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey. Contrastes entre as médias de tratamento foram previamente estabelecidos e testados pelo teste T.

As características de produção foram analisadas ao longo do tempo sendo o critério de Akaike utilizado para determinar a melhor estrutura de variáveis e covariância. Foram considerados o efeito dos tratamentos e semanas, e a interação entre eles.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o PROC MIXED do software Statistical Analysis System (SAS, Versão 9.4), ao nível de significância de 5%.

2.3 Resultados e discussão

O peso médio corporal (PC), o ganho de peso médio (GP) e a conversão de ração (CA) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos nos períodos avaliados (Tabela 2.5), exceto no período de 0 a 10 semanas (fase inicial). Isso mostrou que as matrizes de frangos de corte na fase inicial, crescimento e pré-reprodução suplementadas com níveis mais baixos de duas formas diferentes de minerais de traço orgânico (Zn, e Mn) não apresentaram efeitos deletérios em seu desenvolvimento em comparação com altos níveis de minerais de traço inorgânico.

Tabela 2.5 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho de matrizes de frangos de corte nas fases inicial, crescimento 1 e 2 e pré-reprodução

Fonte de micromineral	PC, kg	GP, g	CR, g	CA
Inicial (0 – 4 semanas)				
MI	0,5551	0,5077	0,9436	18,510
MQ	0,5542	0,5068	0,9442	18,651
MO	0,5535	0,5064	0,9434	18,565
EPM	0,0091	0,0091	0,0065	0,0514
P valor	0,8860	0,9141	0,9359	0,7518
Crescimento 1 (0 – 10 semanas)				
MI	1,1780[a]	1,1306[a]	30,646	2,545[b]
MQ	1,1507[b]	1,1033[b]	30,652	2,6078[a]
MO	1,1607[ab]	1,1136[ab]	30,644	2,596[ab]
EPM	0,0242	0,0242	0,0065	0,0645
P valor	0,0130	0,0132	0,9359	0,0372
Crescimento 2 (0 – 18 semanas)				
MI	19,725	19,251	68,166	33,399
MQ	19,698	19,224	68,172	33,536
MO	19,829	19,357	68,165	33,220
EPM	0,0469	0,0469	0,0066	0,080
P valor	0,7330	0,7245	0,9402	0,5710
Pré- reprodução (0 -24 semanas)				
MI	31,003	30,529	114,296	35,433
MQ	30,829	30,355	114,302	35,749
MO	30,954	30,483	114,294	35,397
EPM	0,0760	00760	0,0065	0,0821
P valor	0,8198	0,8172	0,9359	0,4645

Diferentes letras minúsculas diferem significativamente ($P \leq 0,05$)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-amino ácido.
PC- Peso médio corporal; GP- ganho de peso médio; CR- consumo de ração; CA- conversão alimentar; EPM- erro padrão da média

Durante a fase inicial, PC e GP foi menor e o CA foi pior para as matrizes que receberam a dieta com MQ do que MI, mas não diferente do MO. CA foi melhor para o tratamento MI do que MQ e não diferente do MO. O consumo de ração (CR) não apresentou diferenças significativas nos tratamentos nos períodos avaliados. O desempenho de crescimento das matrizes alimentadas com baixos níveis de MQ se equiparou ao das aves que receberam MI nas fases posteriores, e o peso médio das matrizes com MQ foi semelhante ao peso de referência da linhagem da matriz, indicando que níveis mais baixos de MO poderiam substituir altos níveis de microminerais inorgânico sem comprometer o desempenho da matriz.

Durante todo o período de produção não ocorreu interação significativa entre semanas e tratamentos para as características de desempenho, enquanto as semanas determinaram diferenças (P<0,001), indicando que o efeito do tratamento é o mesmo ao longo do tempo.

Para a massa de ovos, observou-se diferença significativa para as semanas (P<0,0001) em todos os períodos avaliados (Tabela 2.6). Quanto ao tratamento, observou-se diferença significativa (P=0,0262) no período de 26-66 semanas.

Para produção de ovos e conversão alimentar por massa de ovos não houve diferença significativa, -já para massa de ovos, durante toda a fase de produção de ovos de 26 a 66 semanas, o MQ melhorou significativamente a massa de ovos em 3 gramas (P=0,0262) em comparação com o MI e MO.

Tabela 2.6 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho de matrizes de frangos de corte na fase de reprodução (26 a 66 semanas)

Fonte de micromineral		Produção de ovos, %	Massa de ovo, g	CA/ massa de ovos
26 - 66 semanas				
	MI	63,912	41,946[b]	3,964
	MQ	67,861	44,869[a]	3,617
	MO	66,250	44,039[ab]	3,762
	EPM	1,600	1,200	0,1400
P valor	Tratamento	0,2036	0,0262	0,0987

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem (P ≤ 0,05)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-amino ácido.
Trat.- tratamento; CA: conversão alimentar; EPM: erro padrão da média.

Não houve diferença significativa no peso do ovo em todos os períodos avaliados (Tabela 2.6). A coloração da gema teve diferença significativa (P<0,009) em comparação com MI e MO em todos os períodos avaliados, exceto na semana 28. Sendo que o MQ

melhorou a cor da gema vs MI e MO. Houve uma melhora na resistência da casca de ovo vs MO (P=0,0027). Para espessura de casca, o MQ reduziu (P=0,0196) a espessura da casca na semana 28 aumentou (P=0,002) vs MI (Tabela 2.7). Esses benefícios provavelmente se devem à maior biodisponibilidade do quelato de Zn, Cu e Mn-metionina análoga do que os microminerais inorgânico, como relatado anteriormente (YAN; WALDROUP, 2006; RICHARDS et. al., 2015; MIN et. al. 2019).

Tabela 2.7 - Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a qualidade de ovo de matrizes de frangos de corte

Fonte micromineral	Peso ovo (g)	Cor da gema	Resistencia (kgf)	Espessura (mm)
28 semanas				
MI	57,178	8,617	4,103	0,393[a]
MQ	57,944	8,523	3,974	0,383[b]
MO	58,152	8,52	4,093	0,379[b]
P valor	0,2916	0,6191	0,4498	0,0196
Contraste				
40 semanas				
MI	66,708	6,550[b]	4,058	0,398
MQ	67,404	6,922[a]	3,85	0,398
MO	67,484	6,598[b]	3,784	0,39
P valor	0,5225	0,0036	0,1535	0,3271
Contraste				
50 semanas				
MI	68,028	5,905[b]	3,767	0,369
MQ	69,058	6,182[a]	3,764	0,375
MO	70,178	6,000[b]	3,52	0,377
P valor	0,1835	0,0082	0,0913	0,5045
Contraste				
58 semanas				
MI	70,707	6,595[b]	3,594[a]	0,398[a]
MQ	72,372	7,161[a]	3,593[a]	0,394[a]
MO	73,005	6,479[b]	3,030[b]	0,372[b]
P valor	0,2044	<0,0001	0,0027	0,002
Contraste				
65 semanas				
MI	72,146	7,991[b]	3,293	0,379
MQ	73,604	8,331[a]	3,512	0,374
MO	73,155	7,548[c]	3,408	0,375
P valor	0,3674	<0,0001	0,4357	0,7839
Contraste				

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem (P ≤ 0,05)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.

Resultados confirmam, os achados em outros estudos, os benéficos do Zn-MHA quelatado e da quelato de Zn, e Mn-MHA no desempenho reprodutivo de matrizes e na

qualidade dos ovos. Por exemplo, no estudo sobre a suplementação de 0,5 e 1 g/kg de Zn, e Mn-metionina hidroxi análogo e selênio orgânico foi observado uma melhora significativa na produção de ovos em 8,4-9,3%, massa de ovos em 6,28-7,23 gramas de ovo/galinha/dia e a conversão de ração em 28-32 pontos em comparação com MI em poedeiras comerciais criadas sob alta temperatura ambiente. E para as características da de qualidade de ovo, houve um aumento na espessura da casca de ovo e a altura do albúmen, além de reduzir o colesterol total no soro, na gema de ovo e malonaldeído na gema do ovo, adicionalmente melhorou os de anticorpos contra a gripe aviária H9N1, o que indica que a suplementação de Zn, e Mn-metionina hidróxi analóga melhorou a produção de ovos, qualidade da casca, perfil de plasma, concentração mineral de gema, oxidação lipídica de gema, e resposta imune em galinhas poedeiras sob alta temperatura ambiente (SALEH et al., 2020).

Min et al. (2018) descobriram que a suplementação de 40 ou 80 mg/kg quelato Zn-metionina hidroxi análogo aumentou significativamente a espessura da casca de ovo e a resistência da casca de ovo, promovendo a deposição de Ca e a atividade de anidrase carbônica e reduziu a taxa de ovos quebrados em comparação com 80 mg/kg ZnSO4. Da mesma forma, Li et al. (2019) relataram que a suplementação de 80 mg/kg quelatados Zn-metionina hidroxi análogo em poedeiras da linhagem Hyline Grey aumentaram significativamente o peso dos ovos e a resistência da casca de ovo, este aumento da resistência da casca ovo foi provavelmente causado pelo maior peso atômico de cálcio (Ca) e o Ca mais uniformemente distribuído na superfície transversal da casca de ovo, afirmando que a resistência da casca estava principalmente relacionada a largura da camada mamilar na ultraestrutura causada pelo padrão de deposição de cálcio na formação da casca do ovo.

Araújo et al. (2019) observaram que baixos níveis de microminerais orgânico Zn: Cu: Mn: Fe em forma de carbo-amino-fosfatos aumentaram a produção de ovos, espessura e resistência da casca de ovo das matrizes de frangos de corte aos 34, 46 e 52 semanas de idade quando comparados aos altos níveis de micromineral inorgânico. Wang et al. (2019) relataram que os microminerais orgânico Zn, Mn, Fe, Se na forma de proteinato aumentaram a taxa de produção de ovos em 9,56% em comparação aos mesmos níveis de MI, mas não diferente dos altos níveis de MI e não melhoraram o peso dos ovos e a qualidade dos ovos em comparação com os mesmos níveis ou mais elevados de MI. Embora, Umar Yaqoob et al. (2020) não tenham observado diferença significativa no desempenho produtivo, constataram maior espessura da casca de ovo quando as matrizes de frangos de corte durante as semanas 23-37 foram alimentadas com baixos

níveis de microminerais orgânico Zn, Cu, Mn, Fe na forma de complexo glicinatos em comparação com os altos níveis recomendados comercialmente de MI.

A influência dos níveis de suplementação de Zn nos índices produtivos de galinhas poedeiras parece pouco consistente. Uma meta-análise de 11 estudos mostrou que a suplementação de Zn orgânica e/ou inorgânica reduziu a CA e aumentou o peso dos ovos e a massa de ovos em comparação com os controles sem suplementação de Zn. Os resultados da meta-análise foram afetados pela idade e linhagem/raça da galinha, e níveis de suplementação e duração (OGBUEWU; MBAJIORGU, 2022). Nesta meta-análise, a fonte Zn (orgânico versus inorgânico) não influenciou o consumo de ração, mas Zn orgânico melhorou significativamente CA, produção de ovos, qualidade do ovo incluindo peso de ovo, massa de ovos, unidade Haugh, espessura da casca de ovo, peso da casca de ovo e concentrações de Zn sangue em galinhas poedeiras, sugerindo maior biodisponibilidade de Zn, e levando a uma melhor digestibilidade e absorção de nutrientes no trato gastrointestinal. Por exemplo, a suplementação de 25, 50, 75 ou 100 ppm de quelato de metionina de zinco (Zn-metionina) não teve efeito sobre o PMC, GPM e CA em comparação com o controle negativo sem suplementação de Zn em galinhas poedeiras Hisex Brown de 22 a 34 semanas de idade, e 100 ppm de Zn-metionina aumentou significativamente para o número de ovos, o peso de ovo e a massa de ovos em comparação com outros grupos (ABD EL-HACK et al., 2018).

As diferentes respostas da produtividade das matrizes a diferentes formas de microminerais orgânico podem estar relacionadas ao tipo de ligante ao mineral. No presente estudo, cada molécula de Zn, Cu e Mn são quelatadas a 2 moléculas de metionina hidroxi análogo por ligações covalentes, que é muito mais estável do que as ligações iônicas (KRATZER, 2017). A estrutura de bi-quelato da MQ protege os minerais enquanto em trânsito pelo trato gastrointestinal e garante que o mineral seja entregue ao local de absorção no intestino delgado. O ligante, metionina hidroxi análogo, não é um aminoácido, mas um ácido orgânico, 2-hidroxi-4-metiliobutanoico, que é o precursor do metionina sendo rapidamente absorvido e convertido em L-metionina no animal (DIBNER, 2003). O Zn bi-quelato mostrou ter maior biodisponibilidade com maior expressão de metalotioneína nos enterócitos ou uma maior quantidade de deposição de Zn em ossos do que outras formas de Zn orgânico, como Zn-Met, Zn proteinato e Zn aminoácido complexo (RICHARDS et al., 2008). A maior produção numérica de ovos, massa de ovos, qualidade dos ovos e melhor CA por massa de ovo no tratamento MQ é provavelmente resultado da maior biodisponibilidade do MQ do que o MO testado no estudo.

Como esperado, a produção de ovos e a massa de ovos das matrizes diminuem e a conversão de ração aumenta à medida que aumenta a idade. É bem reconhecido que os microminerais Zn, Cu e Mn poderiam potencialmente impactar a saúde intestinal ideal de animais monogástricos jovens (SHANNON; HILL, 2019). O Zn é conhecido por ser essencial em muitas funções biológicas de mamíferos, como anti-inflamatório, antidiarreico e na manutenção da integridade da barreira epitelial (PATEL et al., 2010; ROSELLI et al., 2003). Suplementação de óxido de Zn (ZnO) com tamanho de partícula menor (<100nm) melhorou a morfologia e barreira intestinal em matrizes de frangos de corte Ross 308 (BARZEGAR et al., 2021) e aumentou o anticorpo de glóbulos vermelhos de ovelha (SRBC), IgM, o número total de leucócitos, e a porcentagem de linfócitos em galinhas matrizes de Cobb500 (SHARIDEH et al., 2019).

A suplementação adequada do Zn para as matrizes não só melhorou o desempenho produtivo com taxa de postura 4-7% maior, mas também melhorou a resposta imune da progênie e a capacidade antioxidante através de mecanismos epigenéticos (HUANG et al., 2019). Por exemplo, a suplementação de Zn-MHA bi quelato em matrizes melhorou a imunidade da progênie por desregulação da inflamação intestinal mediada pela NF-κB (LI et al., 2015). A via de sinalização NF-κB é uma das principais vias para regular a inflamação induzida por estímulos externos, como bactérias, infecção e inflamação (NEURATH et al., 1998). Neste estudo, para determinar se os microminerais afetam a saúde intestinal, a expressão de RNAm de NF-κB foi medida em jejuno de matrizes com 24 semanas de idade (Tabela 2.8). A suplementação MQ reduziu significativamente a expressão de RNAm de NF-κB v*ersus* MO e reduziu numericamente a expressão de RNAm de NF-κB comparado ao MI, que destaca o papel benéfico da MQ na regulação da inflamação intestinal tanto em matrizes quando na progênie.

Tabela 2.8 – Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a expressão NF-κB mRNA de matrizes pesadas com 24 semanas

Fonte de micromineral	24 semanas
MI	1,000[ab]
MQ	0,540[b]
MO	1,162[a]
P valor	0,0380

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($P \leq 0.05$)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.

O desenvolvimento ósseo ocorre no início da vida, o crescimento longitudinal em ossos longos ocorre pela ossificação endocondral, os ossos longos se ampliam por um

processo envolvendo ossificação intramembranosa. No início da maturidade sexual, os osteoblastos sofrem uma mudança dramática da formação de osso cortical lamelar para a produção de osso medular, que é uma fonte lábil, de fácil liberação, de cálcio para a formação de casca de ovo. O osso medular se acumula rapidamente nas superfícies do osso estrutural, especialmente o osso da perna, em espículas dentro das cavidades medulares durante a fase inicial de formação e continuam a acumular-se lentamente durante o período restante de colocação (WHITEHEAD, 2004). O osso medular é estrategicamente mais fraco que o osso estrutural, mas seu teor ósseo está positivamente correlacionado com a força do úmero (FLEMING et al., 1998).

Os microminerais desempenham papéis importantes no desenvolvimento ósseo. O zinco regula a síntese de colágeno (STARCHER et al., 1980), a invasão celular associada ao osteoblasto da matriz de cartilagem (DIBNER et al., 2007) e a ossificação endocondral (FRAKER, 2005; HATORI et al., 1995; HO; COURTEMANCHE; AMES, 2003). Regula a ligação cruzada de colágeno e elastina, que fornece resistência à tração e elasticidade para osso (CARLTON; HENDERSON, 1964). O uso de formas orgânicas de microminerais na dieta tem como intuito aumentar a sua biodisponibilidade consequentemente melhorar a mineralização e o desenvolvimento ósseo. Por exemplo, a suplementação de quelato de metionina hidroxi análogo de Zn para poedeiras aumentou a concentração de Zn e Ca e a resistência da tíbia (MIN et al., 2019). A suplementação de quelato de metionina hidroxi análogo de Zn, Cu e Mn para perus aumentou a resistência da tíbia e largura cortical óssea (FERKET et al., 2009).

No entanto, no presente estudo, às 18 semanas de idade, o comprimento e a circunferência da tíbia (Tabela 2.9) não foram significativamente diferentes entre os tratamentos. Indicando que a suplementação em baixos níveis de micromineral orgânico não afetam o desenvolvimento da formação do osso medular. Matéria seca, índice de Seedor e resistência foram significativamente reduzidos na dieta com MQ quando comparados ao MI, mas não diferente do MO. Às 24 semanas de idade, a MQ reduziu significativamente o índice de Seedor e numericamente (P=0,077) aumentou a circunferência tibial em comparação com MI e MO. Outros parâmetros tibiais não foram diferentes entre os tratamentos.

Tabela 2.9 – Efeito da suplementação de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre a qualidade óssea nos períodos de 18, 24 e 66 semanas

Fonte de micromineral	MS (%)	Comp. (cm)	Índice Seedor	Circunf. (mm)	Resist. (kg)
18 semanas					
MI	65,790[a]	12,561	8,476[a]	7,865	7,284[a]
MQ	61,490[b]	12,504	7,636[b]	7,872	4,857[b]
MO	62,790[ab]	12,600	7,960[b]	8,110	5,540[b]
EPM	1,020	0,12	0,140	0,090	0,380
P valor	0,014	0,855	0,001	0,117	<0,0001
24 semanas					
MI	63,24	12,63	9,94[a]	8,17	12,94
MQ	61,17	12,73	9,41b	8,41	11,73
MO	63,36	12,63	9,97[a]	8,18	13,62
EPM	0,850	0,090	0,170	0,080	0,720
P valor	0,132	0,636	0,040	0,09	0,179
66 semanas					
MI	60,93	12,56	12,96	8,34[b]	11,20[a]
MQ	63,14	12,35	13,45	8,10[b]	9,19[ab]
MO	61,03	12,55	12,82	8,81[a]	8,79[b]
EPM	0,940	0,120	0,290	0,090	0,590
P valor	0,180	0,357	0,241	<0,0001	0,013

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($P \leq 0.05$)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido; EPM: erro padrão da média.

Ao final do experimento, 66 semanas, a suplementação MQ não alterou significativamente parâmetros característicos ósseos em comparação com MI e MO, exceto para circunferência tibial menor (P<0,0001) do que a MO. Embora o tratamento MO tenha maior circunferência tibial do que o ITM e OTM, ele apresentou resistência tibial menor (P=0,0133) do que o ITM.

No geral, a maioria das características tibiais não foram diferentes entre três tratamentos nos períodos avaliados, exceto às 18 semanas, o início da maturidade sexual. Isso provavelmente porque os níveis Zn, Cu e Mn em tratamentos com os microminerais orgânicos eram apenas metade do MI, embora o micromineral orgânico seja mais biodisponível que o MI, pode levar algum tempo para as galinhas depositarem os microminerais para promover o desenvolvimento e o crescimento ósseo durante o período de criação. Durante o período de reprodução, precoce e tardia, os microminerais foram capazes de fornecer microminerais suficientes para a deposição óssea medular e para a formação de casca de ovo. A qualidade da casca de ovo não foi medida neste estudo, no entanto, um estudo anterior mostrou que a suplementação de 40 e 80 ppm de metionina hidroxi análogo de Zn (MHA-Zn) em poedeiras comerciais Hyline Grey, 57 semanas de

idade, aumentou o peso e a densidade da casca de ovo na semana 62-72, espessura e força da casca de ovo na semana 66-72 quando comparado a 80 ppm ZnSO4 (MIN et al., 2018), o que sugere que quelato de Zn é altamente biodisponivel e melhorou a qualidade da casca de ovo em galinhas poedeiras mais velhas.

A fim de iniciar a produção de ovos e apoiar o desempenho reprodutivo adequado nas matrizes de frangos de corte se faz necessário um percentual mínimo de gordura corporal e que a iluminação vai sendo elevada no início do postura (DE BEER; COON, 2009; SUN; COON, 2005; VAN EMOUS et al., 2013).

Nas condições deste estudo, não houve diferença de gordura abdominal às 4 e 18 semanas de idade, mas às 24 semanas, na fase inicial de produção, a gordura abdominal foi aumentada para as aves que receberam a dieta MI em comparação com aquelas que receberam as dietas MO. A gordura abdominal é apenas parte da gordura corporal, razão pela qual eram muito inferiores à mínima gordura corporal exigida% de 8 e 15% do total de PC na maturidade sexual (AFROUZIYEH et al., 2021; JOSEPH et al., 2000; RENEMA; ROBINSON; ZUIDHOF, 2007). Uma vez que as galinhas alimentadas com dietas MI tiveram menor desempenho de produção de ovos do que a MQ durante a fase de produção inicial 26-40 semanas, as galinhas com maior gordura abdominal (tabela 2.10) no tratamento de MI podem ter reservado maior quantidade de gordura para manter seu metabolismo homeostase em vez de produção de ovos.

Tabela 2.10 - Dados de gordura abdominal das matrizes alimentadas com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais nos períodos de 4, 18 e 24 semanas

Fonte de micromineral	Semanas		
	4	18	24
MI	0,36	0,29	1,59a
MQ	0,35	0,42	1,17b
MO	0,35	0,28	1,16b
P valor:	0,9526	0,241	0,0402

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($P \leq 0.05$)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.

A nutrição materna pode afetar o desenvolvimento embrionário e o crescimento da prole, uma vez que todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento embrionário são adquiridos por transferência de nutrientes das matrizes (RICHARDS, 1997; OZLU, ELIBOL e BRAKE, 2018; EMAMVERDI et al., 2019). Na prova de descendência, a suplementação de MQ em galinhas reprodutoras aumentou ($P<0,0001$) o peso corporal em comparação com MI e OTM na eclosão. Na fase inicial, durante o

período de 0 a 14 dias, não teve diferença significativa entre os tratamentos, com a exceção do consumo de ração (CR) (Tabela 11). O CR foi reduzido (P = 0,0231) para as aves provenientes das matrizes alimentadas com MQ quando comparada ao MI, mas não diferente da MO.

Durante a fase de crescimento, a CR foi menor (P = 0,0118) menor para as aves provenientes das matrizes suplementados com MQ do que as do MI e MO e não houve diferença entre MI e MQ. Conversão alimentar (CA) foi (P = 0,0051) menor para os frangos de corte provenientes matrizes alimentadas com MQ do que com MO e não diferente entre MI e MQ. Os frangos de corte descendentes de matrizes suplementadas com MQ tiveram maior (P = 0,0262) índice de desempenho (ID) em comparação com o MO, mas não diferente do MI (Tabela 2.11).

Considerando as características de desempenho durante todo o período, de 0 a 45 dias, apenas o CR foi diferente para a suplementação de MQ em comparação com MI e MO. MQ e MO tendeu a reduzir (P = 0. 0665) o consumo de ração em comparação com MI. Estes resultados sugerem que os nutrientes foram transferidos da matriz para a progênie e que a suplementação MQ promoveu uma maior biodisponibilidade de nutrientes, de modo que, os frangos de corte consumiram menos ração enquanto mantinham pesos corporais similares. Confirmando os resultados, a suplementação de metionina hidroxi análogo de Zn:Cu:Mn e Se orgânico para matrizes aumentou o peso corporal e CA das aves de 42 dias de idade em comparação com os mesmos níveis de suplementação (50:8:60:0.3 ppm de Zn:Cu:Mn:Se) de MI, na forma de sulfato e Se de Na2SeO3 (Sun et al., 2012). Essas descobertas sugerem que a suplementação de MQ de microminerais bi-quelatados na dieta das matrizes melhorou o desempenho de crescimento da progênie em comparação com o MI e o complexo de aminoácidos minerais.

O efeito da suplementação de microminerais orgânicos da dieta materna pode ser sentido além do estágio embrionário (Zorzetto et al., 2021). Assim, no presente estudo foi investigado se os microminerais fornecidos na dieta materna poderiam afetar a saúde intestinal da prole. Desta forma, foi avaliado a expressão gênica da progênie, a partir do jejuno, com o intuito identificar os genes ligados à resposta inflamatória MUC2, IL6, NF-κB, IL1, A20 βe TLR2, nos períodos de eclosão (1 dia), fase de crescimento (14 dias) e final do experimento (45 dias) (Tabela 2.12).

Tabela 2.11 Efeito de microminerais inorgânicos ou orgânicos sobre o desempenho da progênie

Fonte de micromineral	PC, kg	GP, g	CR, g	CA	ID
Eclosão (dia 1)					
MI	42,00[c]				
MQ	43,86[a]				
MO	42,94[b]				
EPM	0,066				
P valor	<0,0001				
Inicial (1 – 14 dias)					
MI	408,929	366,929	536,250[a]	1,401	181,072
MQ	390,231	346,374	488,651[b]	1,435	170,482
MO	398,507	355,564	483,291[b]	1,385	175,413
EPM	13,4061	13,3872	13,9889	0,0229	9,7383
P valor	0,6188	0,5604	0,0231	0,2854	0,746
Crescimento (1 - 28 dias)					
MI	1269,47	1227,47	1926,667[a]	1,541[ab]	279,697[a]
MQ	1215,125	1171,268	1726,170[b]	1,484[b]	277,041[a]
MO	1181,795	1138,852	1832,942[ab]	1,612[a]	239,674[b]
EPM	30,7205	30,7034	43,8028	0,0283	11,0561
P valor	0,145	0,138	0,0118	0,0051	0,0262
Final (1 – 45 dias)					
MI	2853,488	2811,488	4877,947	1,728	357,521
MQ	2807,759	2763,902	4615,985	1,695	352,832
MO	2767,417	2724,474	4678,027	1,720	334,144
EPM	43,9008	43,8905	79,0128	0,0207	8,4198
P valor	0,3947	0,3862	0,0665	0,5047	0,1351

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($P \leq 0.05$)
[xy] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($0,05<P \leq 0,10$).
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.
PC- Peso médio corporal; GP- ganho de peso médio; CR-consumo de ração; CA- conversão alimentar; ID-índice de desempenho

A expressão TLR2 e MUC2 mRNA foi significativamente menor para a progênie provenientes da suplementação materna com MQ do que MI, mas não houve diferença em relação à MO, indicando que a suplementação com micromineral orgânico reduziu a inflamação no jejuno. Na progênie com dietas maternas suplementadas com MQ, a expressão de NF-κB foi significativamente inferior à MO, mas não difere do MI, a expressão genética A20 foi inferior ao MI e superior ao MO.

Tabela 2.12 Efeito de microminerais inorgânicos ou orgânicos na expressão gênica anti-inflamatória no jejuno de frangos de corte de 1, 14 e 45 dias de idade

Fonte de micromineral	MUC2	IL6	NF-κB	IL1β	A20	TLR2
1 dia						
MI	1.000[a]	1.000	1.000 [b]	1.000 [a]	1.000 [a]	1.000 [a]
MQ	0.588 [b]	0.537	0.952 [b]	0.471 [ab]	0.612 [b]	0.485 [b]
MO	0.575 [b]	0.514	1.916 [a]	0.135 [b]	0.201 [c]	0.218 [b]
EPM	0.0823	0.1837	0.1897	0.2424	0.1119	0.1609
P valor	0.0017	0.1351	0.0013	0.0483	0.0001	0.0081
14 dias						
MI	1.000	1.000 [a]	1.000 [a]	1.000 [a]	1.000 [b]	1.000 [b]
MQ	0.752	0.200 [b]	0.114 [b]	1.056 [a]	1.680 [a]	1.333 [b]
MO	0.733	0.286 [b]	0.364 [b]	0.543 [b]	1.267 [ab]	2.958 [a]
EPM	0.0984	0.0913	0.0945	0.1029	0.1787	0.4005
P valor	0.1174	<0.0001	<0.0001	0.0066	0.032	0.0047
45 dias						
MI	1.000 [b]	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
MQ	1.652[a]	1.493	1.256	0.998	1.05	0.659
MO	0.600 [b]	1.317	0.97	1.518	1.02	0.883
EPM	0.1639	0.3004	0.383	0.3039	0.1606	0.123
P valor	0.0005	0.524	0.8508	0.4068	0.9751	0.1594

[ab] Significa dentro de uma coluna sem um sobrescrito comum diferem ($P \leq 0.05$)
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.
MUC2 – Mucina 2; IL6- interleucina 6; NF-KB- fator nuclear kappa B; IL1β- Interleucina 1 beta; TLR2- Receptores tipo Toll; EPM: erro médio padrão.

Durante a fase de crescimento, aos 14 dias de idade, a suplementação materna com MQ resultou em expressões gênicas (P<0,0001) inferior de IL6 e NF-κB para a progênie em comparação com MI, mas não houve diferença de MO. Progênie de matrizes suplementadas com MQ também apresentaram expressão gênica de TLR2 mais alta e inferior do que MO, e expressão A20 maior que ITM.

Ao final do experimento, aos 45 dias de idade, o único parâmetro de saúde intestinal alterado significamente pela suplementação materna de MQ em comparação com MI e MO foi a expressão genica de MUC2. Aves provenientes da suplementação materna de MQ tiveram aumento (P=0,0005) para a expressão MUC2 em comparação com MI e MO.

O caminho de sinalização NF-κB é um dos principais caminhos para a regulação da inflamação induzida por estímulos externos, como o caso da infecção e inflamação (Neurath et al., 1998). A proteína A20 de zinco é uma molécula de sinalização que bloqueia a fosforilação e ativação da NF-κB, inibindo assim a translocação da NF-κB e suprimindo a cascata inflamatória e reduzindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias

(Ma e Malynn, 2012; Catrysse et al., 2014). Portanto, o aumento da regulamentação do A20 regularia para baixo o caminho da NF-κB e reduziria a inflamação.

Estes resultados sugerem que a desregulamentação da via NF-κB poderia ser causada pelo aumento da expressão do gene A20. Isto é consistente com o estudo de Li et al. (2015), no qual a suplementação quelatada de Zn para galinhas reprodutoras exibiu maiores efeitos do que ZnSO4 na redução da expressão gênica de NF-κB p65 e de seus concorrentes de IL6 pelo aumento da expressão gênica A20 pela modificação epigenética no jejuno da progênie. MUC2 é a principal mucina intestinal da camada mucosa que protege a integridade das células epiteliais intestinais e um aumento da expressão do gene MUC2 indica uma melhor função da barreira intestinal. TLR2 é um dos receptores de Toll que desempenha um papel importante na identificação de padrões moleculares distintos de patógenos invasores, incluindo bactérias, fungos, parasitas e vírus (Mukherjee et al., 2016).

Como o intestino é a barreira de primeira linha para patógenos, a maior redução da expressão de TLR2 no jejuno na prole de reprodutores alimentados com MQ do que os reprodutores alimentados com MI ou MO sugere que a suplementação materna de MQ provavelmente diminuiu o desafio patogênico nas aves progenitoras. Em conjunto, esses achados sugerem que a suplementação da dieta de matrizes com microminerais bi-quelatados, especialmente MQ, reduz a inflamação no jejuno e melhora a resposta imune inata e a função da barreira intestinal em comparação com a MI e/ou o complexo de aminoácidos minerais.

2.4 Conclusão

Sob as condições do experimento, a suplementação com níveis mais baixos de microminerais quelatados de MHA melhorou a produção de ovos e a qualidade dos ovos e reduziu a inflamação intestinal, mantendo o desenvolvimento tibial em comparação com o MI. O efeito sobre a progênie a partir da suplementação materna de microminerais orgânicos, especialmente MQ, na dieta da matriz melhorou o desempenho e reduziu a inflamação no jejuno em comparação com a MI e o complexo de aminoácidos minerais. Assim, pode afirmar que, os microminerais bi-quelatados promoveram melhor desempenho, ou similar, ao microminerais orgânicos na forma de complexo-aminoácido na dieta de matrizes e sobre o efeito da progênie.

2.5 Referências

AAFCO. Publicação oficial da Associação de Funcionários americanos de Controle de Feed incorporado. Publicação oficial da Associação Americana Oficial de Controle de Alimentos (Ed. Paul. M. Bachman). p. 237-238. 1998.

ABD EL-HACK, M. E.; ALAGAWANY, M.; AMER, S. A.; ARIF, M.; WAHDAN, K. M. M.; EL-KHOLY, M. S. Effect of dietary supplementation of organic zinc on laying performance, egg quality and some biochemical parameters of laying hens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 102, n. 2, p. 542-549, April. 2018.

AFROUZIYEH, M.; ZUKIWSKY, N. M.; ZUIDHOF, M. J. Timing of growth affected broiler breeder feeding motivation and reproductive traits. **Poultry Science**, Champaign, v. 100, n. 9, p. 101375, Sept. 2021.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Método de análise. 18ed., Gaithersburg, 2007.

ARAÚJO, C. S. S.; HERMES, R. G.; BITTENCOURT, L. C.; SILVA, C. C.; ARAÚJO, L. F.; GRANGHELLI, C. A.; PELISSARI, P. H.; ROQUE, F. A.; LEITE, B. G. S. Different dietary trace mineral sources for broiler breeders and their progenies, **Poultry Science**, Champaign, v. 98, p. 4716-4721, 2019.

BARZEGAR, M.; ZAGHARIM, M.; ZHANDI, M.; SADEGHI, M. Effects of zinc dosage and particle size on gut morphology, tight junctions and TNF-α expression in broiler breeder hens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, 2021. Ahead of print.

BROWN, T. F.; ZERINGUE, L. K. Laboratory evaluations of solubility and structural integrity of complexed and chelated trace mineral supplements. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 181-189, 1994.

CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R. A.; HOLWERDA, J. P.; TOTH, R. C.; LITTELL, R.; MILES, D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavialability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 8, p. 2039-2054, 2000.

CARLTON, W. W.; HENDERSON, W. Skeletal lesions in experimental copper-deficiency in chickens. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 8, n. 1, p. 48–55, 1964.

CATRYSSE, L.; VEREECKE, L.; BEYAERT, R.; VAN LOO, G. 'A20 in inflammation and autoimmunity', Trends in Immunology, 35(1) Trends in Immunology, pp. 22–31, 2014.

DE BEER, M.; COON, C. N. The effect of feed restriction programs and growth curves on reproductive performance, in vitro lipogenesis and heterophil to lymphocyte ratios in broiler breeder hens. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 8, p. 373-388, 2009.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D.; KITCHELL, M. L.; QUIROZ, M. A. Metabolic challenges and early bone development. **Journal of Applied Poultry Research**, v.16, p.126-137, 2007.

DIBNER, J. J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid. **World's Poultry Science Journal**, London, v. 59, p. 99-110, 2003.

EMAMVERDI, M.; ZARE-SHAHNEH, A.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; MINAI-TEHRANI, D.: KHODAEI-MOTLAGH, M. An improvement in productive and reproductive performance of aged broiler breeder hens by dietary supplementation of organic selenium. **Theriogenology**, v. 126, p. 279-285, 2019.

FAWCETT, D. W. **Bloom and Fawcett**: A textbook of histology. New York: Chapman & Hall, 1994.

FERKET, P. R.; OVIEDO-RONDÓN, E. O.; MENTE, P. L.; BOHÓRQUEZ, D. V.; SANTOS JR, A. A.; GRIMES, J. L.; RICHARDS, J. D.; DIBNER, J. J.; FELTS, V. Organic trace minerals and 25-hydroxycholecalciferol affect performance characteristics, leg abnormalities, and biomechanical properties of leg bones of turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 118-31, Jan. 2009.

FLEMING, R. H.; McCORMACK, H. A.; McTEIR, L.; WHITEHEAD, C. C.; Medullary bone and humeral breaking strength in laying hens. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 64, p. 63-67, 1998.

FRAKER, P. J. Roles for cell death in zinc deficiency. **The Journal of Nutrition**, United States, v. 135, p. 359–362, 2005.

GALLUP, W.; NORRIS, L. The effect of a deficiency of manganese in the diet of the hen. **Poultry Science**, Champaign, v.18, p.83-88, 1939.

GUO, R.; HENRY, P. R.; HOLWERDA, R. A.; CAO, J.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p.1132-1141, 2001.

GÜZ, B. C.; MOLENAAR, R.; DE JONG, I. C.; KEMP, B.; VAN DEN BRAND, H.; VAN KRIMPEN, M. Effects of dietary organic minerals. fish oil. and hydrolyzed collagen on growth performance and tibia characteristics of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 98, p. 6552-6563, 2019.

HATORI, M.; KLATTE, K. J.; TEIXEIRA, C. C; SHAPIRO, I. M. End labeling studies of fragmented DNA in the avian growth plate: Evidence of apoptosis in terminally differentiated chondrocytes. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 10, p. 1960-1968, 1995.

HO, E.; COURTEMANCHE, C.; AMES, B. Zinc deficiency induces oxidative DNA damage and increases p53 expression in human lung fibroblasts. **The Journal of Nutrition**, United States, v. 133, p. 2543–2548, 2003.

HUANG, L.; LI, X.; WANG, W.; YANG, L.; ZHU, Y. The Role of Zinc in Poultry Breeder and Hen Nutrition: an Update. **Biological Trace Element Research**, London, v. 192, p. 308-318, 2019.

JOSEPH, N. S.; ROBINSON, F. E.; KORVER, D. R.; RENEMA, R. A. Effect of dietary protein intake during the pullet-to-breeder transition period on early egg weight and production in broiler breeders. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 1790-1796, 2000.

KRATZER, F. H. **Chelates in nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2017.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. Ontario, Canada: University Books, 2001.

LI, C.; GUO, S.; GAO, J.; GUO, Y.; DU, E.; LV, Z; ZHANG, B. Maternal high-zinc diet attenuates intestinal inflammation by reducing DNA methylation and elevating H3K9 acetylation in the A20 promoter of offspring chicks. **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 26, p. 173-183, 2015.

LI, L.; MIAO, L.; ZHU, M.; WANG, L.; ZOU, X. Dietary addition of zinc-methionine influenced eggshell quality by affecting calcium deposition in eggshell formation of laying hens. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 14, n. 122, p. 961-973, 2019.

LIVAK K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) **Method. Methods**, v. 25, n. 4, p.402-8, 2001.

LONDERO, A.; PIRES ROSA, A.; GOLIN LUIGGI, F.; OLIVEIRA FERNANDES, M.; GUTERRES, A.; MOURA, S. D.: HETTWER PEDROSO, N.; SANTOS, N. Effect of supplementation with organic and inorganic minerals on the performance, egg and sperm quality and, hatching characteristics of laying breeder hens. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 215, p. 106309, 2020.

Ma, A.; Malynn, B.A. ‘A20: linking a complex regulator of ubiquitylation to immunity and human disease’, Nature Reviews Immunology, 12(11) Nature Reviews Immunology, pp. 774–785, 2012. doi:10.1038/nri3313

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**, Champaign, v. 98, n. 1, p. 366-372, Jan. 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**, Champaign, v. 97, p. 3587-3593, 2018.

MUKHERJEE, S.; S. KARMAKAR, S.; BABU, S.P. TLR2 and TLR4 mediated host immune responses in major infectious diseases: a review. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 20, p. 193-204, 2016.

NEURATH, M. F.; BECKER, C.; BARBULESCU, K. Role of NF-kappaB in immune and inflammatory responses in the gut. **Gut**, London, v. 43, p. 856-860, 1998.

OGBUEWU, I. P.; MBAJIORGU, C. A. Meta-analysis of zinc supplementation on laying performance, egg quality characteristics, and blood zinc concentrations in laying hens. **Biological Trace Element Research**, London, 2022. Ahead of print.

ÖZLÜ, S.; ELIBOL, O.; BRAKE, J. Effect of storage temperature fluctuation on embryonic development and mortality, and hatchability of broiler hatching eggs. **Poultry Science**, v.97, p.3878–3883, 2018. doi:10.3382/ps/pey253

PARKER, D. Benefits of trace minerals, chelated with methionine hydroxy analogue, on breeder performance and chick development. **Feed Compounder**, p.22-25, 2013.

PATEL, A.; MAMTANI, M.; DIBLEY, M.J.; BADHONIYA, N.; KULKARNI, H. Therapeutic value of zinc supplementation in acute and persistent diarrhea: a systemic review. **Plos One**, San Francisco, v. 5, art. e10386, 2010.

QI, X.; SHUXUE, M.; LIU, X.; WANG, Y.; LIU, Y.; GAO, Y.; MIN, Y. Effects of the methionine hydroxyl analogue chelate zinc on antioxidant capacity and liver metabolismusing1h-nmr-based metabolomics in aged laying hens. **Animals**, Basel, v. 9, p. 898-910, 2019.

RATH, N. C.; BALOG, J. M.; HUFF, W. E.; HUFF, G. R.; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. 1999. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, p.1232-1239, 1999.

RENEMA, R. A.; ROBINSON, F. E.; ZUIDHOF, M. J. Reproductive efficiency and metabolism of female broiler breeders as affected by genotype, feed allocation, and age at photostimulation. 2. Sexual maturation. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, p. 2267-2277, 2007.

RICHARDS, J. D.; ATWELL, C. A.; WINKELBAUER, P.; WUELLING, C.W.; WEHMEYER, M.E; DIBNER, J.J. MINTREX Organic Trace Minerals are more bioavailable and support the antioxidant response more than other trace mineral forms. **Anais.** Poultry Science Assn. Annual meeting, Niagara Falls, Ontario, Canada, 2008a.

RICHARDS, J. D.; DIBNER, J. J.; WINKELBAUER, P.; ATWELL, C. A.; QUIROZ, M. A.; YORK, T.; ZHAO, J.; RICHARDS, J. D.; ATWELL, C. A.; WINKELBAUER, P.; WUELLING, C. W.; WEHMEYER, M.E; DIBNER, J. J. Organic trace minerals are more bioavailable and support the antioxidant response more than other trace mineral forms. **Poultry Science Association Annual Meeting**, Niagara Falls, Ontario, Canada, 2008b.

RICHARDS, J. D.; ZHAO, J.; HARRELL, R. J.; ATWELL, C. A.; DIBNER, J. J. Trace mineral metabolism in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.23, n. 11, p.1527 – 153, 2010.

RICHARDS, J. D.; FISHER, P. M.; EVANS, J. L.; WEDEKIND K. J. Greater bioavailability of chelated compared with inorganic zinc in broiler chicks in the presence or absence of elevated calcium and phosphorus. **Open Access Animal Physiology**, [*s.l.*], v. 7, p. 97-110, 2015.

ROSELLI, M.; FINAMORE, A.; GARAGUSO, I.; BRITTI, M.S.; MANGHERI, E. Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by Escherichia coli. **Journal of Nutrition**, v. 133, p.4077–82, 2003.

RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: CBNA: Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal. Campinas. SP. **Anais** ... Campinas. p.21-36. 2009.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2016. p. 1-30.

SALEH, A. A.; ELTANTAWY, M. S.; GAWISH, E. M.; YOUNIS, H. H.; AMBER, K. A.; ABD EL-MONEIM, A. E. E.; EBEID, T. A. Impact of dietary organic mineral supplementation on reproductive performance, egg quality characteristics, lipid oxidation, ovarian follicular development, and immune response in laying hens under high ambient temperature. **Biological Trace Element Research**, London, v. 195, n. 2, p. 506-514, June. 2020

SEEDOR, J. G.; QUARRUCCIO, H. A.; THOMPSON, D. D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 6, p. 339-346, 1991.

SHANNON, M. C.; HILL, G. M. Trace mineral supplementation for the intestinal health of young monogastric animals. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, v. 6, art. 73, p. 1-7, 2019.

SHARIDEH, H.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; AKHLAGHI, A.; HUSSAINI, S. M. H.; YOUSEFI, A. R. Changes in broiler breeder hen's immunity by zinc oxide and phytase. **Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz**, v. 20, n. 2, p.120-125, 2019.

STARCHER, B. C.; HILL, C. H.; MADARAS, J. G. Effect of zinc deficiency on bone collagenase and collagen turnover. **Journal of Nutrition**, United States, v. 110, p. 2095-2102, 1980.

SUN, J.; COON, C. N. The effects of body weight, dietary fat, and feed withdrawal rate on the performance of broiler breeders. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 14, p. 728-739, 2005.

SUN, Q.; Y. GUO, S. MA, J. YUAN, S. AN, J. LI. Dietary mineral sources altered lipid and antioxidant profiles in broiler breeders and posthatch growth of their offsprings. **Biological Trace Element Research**, v. 145, p. 318-324, 2012.

UMAR YAQOOB, M.; WANG, G.; SUN, W.; PEI, X.; LIU, L.; TAO, W.; XIAO, Z.; WANG, M.; HUAI, M.; LI, L.; PELLETIER, W. Effects of inorganic trace minerals replaced by complexed glycinates on reproductive performance, blood profiles, and antioxidant status in broiler breeders. **Poultry Science**, Champaign, v. 99, p. 2718-2726, 2020.

UNDERWOOD, E.; N. SUTTLE. The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing. London. UK, 2001.

UNDERWOOD, E.; N. SUTTLE. **The mineral nutrition of livestock**. London, UK: CABI Publishing, 1999.

VAN EMOUS, R. A.; KWAKKEL, R. P.; VAN KRIMPEN, M. M.; HENDRIKS, W. H. Effects of growth patterns and dietary crude protein levels during rearing on body composition and performance in broiler breeder females during the rearing and laying period. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, p. 2091–2100, 2013.

WANG, G.; LIU, L. J.; TAO, W. J.; XIAO, Z. P.; PEI, X.; LIU, B. J.; WANG, M. Q.; LIN, G.; AO, T.Y. Effects of replacing inorganic trace minerals with organic trace minerals on the production performance, blood profiles, and antioxidant status of broiler breeders. **Poultry Science**, Champaign, v. 98, p. 2888-2895, 2019.

WANG, G.; LIU, L.; WANG, Z.; PEI, X.; TAO, W.; XIAO, Z.; LIU, B.; WANG M, LIN, G.; AO, T. Comparison of inorganic and organically bound trace minerals on tissue mineral deposition and fecal excretion in broiler breeders. **Biological Trace Element Research**, London, v. 189, p. 224-232, 2019b.

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

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D. H.; FARQUHARSON, C. Bone strength during growth: influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. **Calcified Tissue International**, Berlin, v. 74, N. 3, p. 236-245, 2004

YAN, F.; WALDROUP, P.W. Evaluation of Mintrex manganese as a source of manganese for young broilers. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 5, p. 708-713, 2006.

ZHAO, J.; SHIRLEY, R.B.; DIBNER, J.J.; WEDEKIND, K.J.; YAN, F.; FISHER, P.; HAMPTON, T.R.; EVANS, J.L.; VAZQUEZ-AÑON, M. Superior growth performance in broiler chicks fed chelated compared to inorganic zinc in presence of elevated dietary copper. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.7, 2016.

ZORZETTO, P. S.; ARAÚJO, C. S. S.; ARAÚJO, L. F.; ROQUE, F. A.; GRANGHELLI, C. A.; LEITE, B. G. C.; GONÇALVES, J. G.; CECCANTINI, M. L; FAGUNDES, N. S.; FONTINHAS-NETTO, G. V.; DE MARCO, M.; SURAI, P. F. Replacing dietary sodium selenite with a lower level of hydroxy-selenomethionine improves the performance of broiler breeders and their progeny, **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 20, n. 1, p. 1749-1758, 2021.

3 Capitulo II: Qualidade espermática de galos alimentados com diferentes fontes de microminerais

3.1 Introdução

Cobre, manganês e zinco são microminerais essenciais para o desenvolvimento e funcionamento dos sistemas fisiológicos e metabólicos do organismo (RICHARDS et al., 2010; SWIĄTKIEWICZ et al., 2014). Tais microminerais quando estão em deficiência na dieta causam desordem no sistema reprodutor dos galos. A deficiência de cobre reduz o nível de testosterona (FAVIER, 1992), de manganês e causa degeneração testicular (ARAÚJO; ZANETTI, 2019) enquanto a de zinco causa

defeitos nos espermatozoides (FAVIER, 1992).

O potencial de fertilização do galo reprodutor de frangos de carne depende de três características principais para determinar a qualidade do sémen, sendo elas: concentração espermática, viabilidade e motilidade (MCDANIEL et al., 1998; PARKER et al., 2000). No entanto, pode ser influenciada pelo nível de estresse que eles são expostos e podem melhorar através da suplementação de antioxidante e reduzir o efeito do estresse oxidativo, favorecendo o aumento da taxa de fertilidade nos galos (ZORZETTO et al., 2021).

Tendo em vista, o impacto da deficiência desses microminerais na dieta de reprodutores é importante avaliar como esses nutrientes serão disponibilizados para os galos e o seu impacto sobre a qualidade espermática. No mercado, são usadas duas fontes de micromineral para suprir as necessidades do animal, inorgânica e orgânica. Os microminerais inorgânicos, sulfatos e óxidos, são a fonte mais utilizada na suplementação de minerais devido ao seu baixo custo, embora sejam fontes propensas a antagonismos, enquanto os MO que, por definição são íons metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica formando estrutura única e estável (CAPUTI, 2013).

No organismo das aves, a absorção dos microminerais é complexa e dependente das característica físico-química do intestino (BERTECHINI, 2013). Diante disso, os microminerais orgânicos tende a apresentarem melhor absorção por estarem associados a moléculas que facilitam a passagem nas células, razão pela qual se aumenta a biodisponibilidade de nutrientes para os tecidos (LEESON; SUMMERS, 2001). A partir desse pressuposto, a possibilidade de reduzir a quantidade de minerais fornecido ao animal e consequentemente reduzir a excreção ao meio ambiente (Qiu et al., 2020).

Na literatura há estudos que comprovam o efeito positivo da suplementação de MO sobre a qualidade espermática: viabilidade dos espermatozoides (LONDERO et al., 2020), concentração de sêmen e motilidade (KHALIL-KHALILI et al., 2020). Entretanto,

há poucos estudos que avaliem a qualidade de sêmen de galos alimentados em níveis reduzidos de microminerais orgânicos (Cu, Mn e Zn).

Diante disso, o objetivo do experimento foi avaliar se a fonte de microminerais interfere na qualidade de sêmen, no período de 28 a 66 semanas de idade.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais e manejo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Aves do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), campus Fernando Costa, Pirassununga. A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo aprovou todos os procedimentos no presente estudo. O experimento foi conduzido entre outubro de 2019 a setembro de 2020, cujo período total foi de 44 semanas.

Um total de 30 galos, linhagem Cobb 500 (28 semanas de idade no início do experimento) foram distribuídos em três tratamentos, sendo: MI: nível 1 de Zn, Cu e Mn via sulfatos, MQ: substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de quelato Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo, MO: substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de complexo Zn, Cu ou Mn-aminoácido. Cada tratamento contou com 10 repetições, sendo a unidade experimental representada por 1 galo.

Para uniformizar as unidades experimentais, foi realizado um ranqueamento a partir da avaliação espermática dos galos (25 semanas de idade), em que foi considerado o somatório de defeitos dos espermatozoides (defeitos no acrossomo, cabeça, peça intermediária e cauda) e o inverso da motilidade total, de modo que, quanto maior, pior é a qualidade espermática. O ranqueamento médio entre os tratamentos foi de 450,1596 ± 53,2260.

3.2.2 Dieta experimental

As rações foram formuladas com base de milho, farelo de soja e farelo de trigo e os níveis nutricionais foram de acordo com os recomendados pelo manual da linhagem Cobb 500. Na dieta controle foram suplementados com fonte de microminerais inorgânicos em 100% os níveis de Zn, Cu e Mn, sendo 100, 16 e 100 ppm, respectivamente. Nas duas outras dietas a suplementação de microminerais foi reduzida em 50% (50, 8 e 50 ppm de Zn, Cu e MN, respectivamente, porém as fontes de micromonerais foram orgânicas, Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo, nos níveis de e complexo Zn, Cu ou Mn-aminoácido.

Tabela 3.1 - Composição da dieta basal

Ingredientes	**Galos (%)**
Milho	57,88
Farelo de Soja	6,02
Farelo de Trigo	31,94
Premix*	2,00
Fosfato Bicálcico	1,35
Calcário Fino 36%	0,38
Sal Comum	0,26
Bicarbonato de Na	0,17
Bacitracina Zn 15%	0,10
Total	100
Níveis Calculados (%)	
Energia metabolizável, Kcal/kg	2.700
Proteína bruta	13
Lisina disponível	0,42
Aminoácidos sulfurados disponível	0,38
Metionina disponível	0,21
Treonina disponível	0,39
Isoleucina	0,35
Leucina	0,5
Triptofano	0,12
Valina	0,32
Calcio	0,9
Fósforo disponível	0,4
Fosforo Total	0,82
Cloro	0,18
Potássio	0,6
Sódio	0,18
Ácido Linoleico	1,63
Fibra Bruta	4

*Níveis de vitaminas fornecidos na ração através dos premixes (considerando inclusão de 20kg/Ton): Vit A – 12 000.000 UI; Vit D3 3 000.000 UI; Vit E 75 000 UI; Vit K 6 000 mg/ton; Tiamina 2500 mg/ton; Riboflavina 10 000 mg/ton; Ácido. Pantatênico 25 000 mg/ton; Niacina 40 000mg/ton; Piroxidina 6 000 mg/ton; Ácido Fólico 4 000 mg/ton; Vit B12 35mg/ton;
Biotina 300 mg/ton; Vit C 50 000mg/ton ; Colina 300 000 mg/ton.

Tabela 3.2 - Concentrações de zinco (Zn), Cobre (Cu) e Manganês (Mg) em dietas de tratamento experimental na inclusão de 20kg/T

		Analizado			**Formulado**		
		MI	MQ	MO	MI	MQ	MO
Zn	mg/kg	4516	2829	2614	5000	2500	2500
Cu	mg/kg	779	451	474	800	400	400
Mn	mg/kg	5702	2735	2703	5000	2500	2500

Valor baseado em determinações em duplicata;
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado 1: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.

3.2.3 Qualidade espermática

Para a avaliação da qualidade espermática de galos, foi coletado o sêmen fresco nos períodos de 34, 44, 54 e 64 semanas de idade para analisar as características seminais: volume espermático (ml), motilidade total espermática (%) e concentração espermática (106 sptz/ml), através da análise de esperma assistida por computador (CASA) e morfologia espermática (defeitos dos espermatozoides no acrossomo, cabeça, peça intermediária e cauda e células normais).

O sêmen foi coletado, pelo método de massagem cloacal descrito por Burrows e Quinn (1937), cuja técnica consiste em uma massagem simultânea do abdômen e da parte lombar em movimentos rítmicos. Com essa massagem a ave eriça as penas caudais e neste momento é quando a tumescência fálica é atingida, assim as mãos do técnico devem seguir para o redor da cloaca e o polegar e dedo indicador deverão pressionar levemente a cloaca para baixo, enquanto a mão inferior exerce suave pressão para cima. Assim, o sêmen é ejaculado pelo do ducto deferente e, com o auxílio de um tubo de ensaio estéril e identificado, o sêmen é coletado e levado para análise no laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

No momento da coleta, o sêmen pode ser contaminado por fezes ou sangue provenientes da cloaca, caso ocorrido, o coletado foi descartado e realizado novamente a coleta.

Características físicas do sêmen: volume - representa a quantidade do ejaculado a partir da realização da massagem cloacal. O volume é expresso em mililitros (ml). Motilidade total espermática - representa a porcentagem total de espermatozoides móveis. A análise foi realizada com o auxílio de um microscópio, com objetiva de 1000x, utilizando uma lâmina coberta por uma lamínula, aquecida e mantida a 37º C durante a avaliação. A motilidade total espermática é expressa em porcentagem. Concentração espermática - representa o número de espermatozoide por centímetro cúbico (cm^3 = ml). Foi utilizado a contagem por câmara de Newbauer.

Características morfológica do sêmen foram expressas em porcentagem. As características morfológicas consideradas foram os defeitos dos espermatozoides sendo as principais anormalidades no acrossomo, cabeça, peça intermediária e cauda (CELEGHINI et al., 2001; LONDERO et al., 2020).

3.2.4 Análise estatística

Os resultados foram analisados e testados quanto ao atendimento aos pressupostos de homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos. A observação com um resíduo studentizado maior que três (em valor absoluto) foi considerada em alguns casos como um outlier.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey. Contrastes entre as médias foram previamente estabelecidos e testados pelo teste T.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o PROC MIXED do software Statistical Analysis System (SAS, Versão 9.4), ao nível de significância de 5%.

3.4 Resultados e Discussão

Os dados do sistema de análise de esperma assistida por computador (CASA) estão apresentados na tabela 3. Não há interação entre tratamento e semanas indicando que o efeito do tratamento é o mesmo ao longo do tempo. O volume, concentração e motilidade de espermatozoides de galos alimentados com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais apresentaram diferenças (P=0,0008; 0,0016; 0,0019, respectivamente) durante as semanas. Os sêmens de galos alimentados com micromineral orgânico na forma de complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido (MO -nos níveis de 50 Zn, 8 Cu e 50 Mn mg/kg, respectivamente) apresentaram pior motilidade total quando comparado com o micromineral orgânico na foram de bi-quelatado: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo (mesma dosagem) e micromineral inorgânico com o dobro da dosagem.

Tabela 3.3 - Dados médios da análise de esperma assistida por computador (CASA) dos espermatozoides de galos suplementados com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais durante o período experimental (34 a 66 semanas de idade)

Tratamento	**Volume** (mL)	**Conc. (**106sptz/mL)	**Motilidade Total** (%)
MI	0,27 ± 0,04	1836,76 ± 157,20	96,91 a ± 0,74
MQ	0,37 ± 0,04	1963,24 ± 172,03	94,62 a ± 1,46
MO	0,28 ± 0,02	1821,63 ± 152,32	90,15 b ± 1,89
P valor			
Tratamento	0,2298	0,7751	0,0021
Semanas	0,0008	0,0016	0,0019
Tratamento*Semanas	0,6020	0,8727	0,5927

Letras minúsculas diferentes se diferem significativamente (P ≤ 0,010);
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.
Conc.= Concentração espermática

O espermatozoide é envolto por uma membrana plasmática, constituída por fosfolipídios e proteínas (BORGES et al., 2011). Os lipídeos com parte integrante desta membrana se tornam suscetíveis à peroxidação lipídica. Com isso, o processo de estresse oxidativo tende a diminui a motilidade do esperma e aumentar a porcentagem de células mortas em aves (SURAI et al., 1998). Sob as condições do experimento, os animais que receberam a dieta MI e MQ obtiveram maior motilidade espermática (P=0,0171) quando comparado ao MO. Amem e Al-Daraji (2011), ao avaliarem o efeito de diferentes níveis de Zn (0, 50, 75, 100 mg/kg diet) sobre a qualidade de sêmen, observaram que a

suplementação de Zn tinha aumentado significativamente a concentração, o volume de ejaculação, motilidade em massa e individual, e a porcentagem anormal de esperma e deformidades no acrossomo foram reduzidas. Assim pode-se afirmar que, a substituição completa de minerais inorgânicos por menores níveis de quelato Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo pode ter atuado na oxidação lipídica, a partir das enzimas antioxidantes (Cu/Zn superóxido dismutase) no sêmen de galos, portanto protegendo a membrana plasmática do espermatozoide e assim aumentando a ME (HUANG et al., 2019).

Por outro lado, a fonte e dosagem dos microminerais orgânico é determinante para a qualidade do sêmen. De modo que, a fonte de Zn, Cu e Mn-metionina hidroxi análogo foram mais eficientes que o complexo-aminoácido. Isso pode ser justificado devido a metionina hidroxi análogo, que não é um aminoácido, mas sim um ácido orgânico que tem percursor o ácido 2-hidroxi-4- (metil) butanóico (HMTBA) organismo é rapidamente convertido em L-metionina (DIBNER, 2003) e sua absorção é por concentração (KNIGHT; DIBNER, 1984). Com isso, a passagem de nutrientes para a célula é facilitada, o que torna uma fonte de microminerais orgânicos mais eficiente quando comparado às demais. Além disso, a metionina, para aves, é o primeiro aminoácido e exerce diversas funções como a síntese de proteínas, metabolismo lipídico, regulação do sistema imunológico, funções digestivas e antioxidante (WANG et al., 2019).

Para o VOL e a CE de sêmen dos galos analisados no presente estudo não houve diferença significativa. Londero et al. (2020) também não observaram diferença significativa ao avaliar a qualidade espermática de galos, Red Rhode Island, sobre diferentes níveis de microminerais orgânicos (Cu, Fe, Mg e Zn). Ao contrário, Shan et al. (2017) encontraram um aumento significativo no volume de sêmen, densidade e motilidade do espermatozoíde de galos alimentos com MO, no período de 31 a 35 semanas.

Não há interação entre tratamento e semanas indicando que o efeito do tratamento é o mesmo ao longo do tempo (Tabela 3.4). Os defeitos do espermatozoide, cabeça (P = 0,2729), peça intermediária (P = 0,9172) e cauda (P=0,5440) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Embora, houve uma tendência de aumento para células normais (P=0,0716) em galos que receberam a dieta com MO quando comparado com MQ.

Os resultados do presente estudo sugerem que a morfologia espermática, análise de defeitos dos espermatozoides, não foi influenciada com a redução dos níveis de microminerais orgânicos, isso mostra a maior biodisponidade de nutrientes, a partir das fontes orgânicas. Além disso, tendeu ao aumento de células normais do sêmen de galos

alimentados com MO. Os resultados sugerem que os microminerais atuam no tecido reprodutivo durante a espermatogênese, em que a sua presença favorece a qualidade do sêmen (BARBER; PARKER; MCDANIEL, 2005).

Tabela 3.4 - Morfologia dos espermatozoides de galos alimentados com fontes, inorgânica e orgânica, de microminerais durante o período experimental (34 a 66 semanas de idade)

Tratamento	**Cabeça**	**Peça Intermediária**	**Cauda**	**C. Normais[1]**
MI	26,42 ± 3,55	2,29 ± 0,54	25,67 ± 5,28	41,79ab ± 4,80
MQ	32,27 ± 4,30	2,41 ± 0,57	21,17 ± 4,64	34,82b ± 4,71
MO	33,18 ± 3,77	2,03 ± 0,54	18,19 ± 4,40	43,67a ± 4,12
P valor				
Tratamento	0,2729	0,9172	0,5440	0,0716
Semana	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tratamento*semana	0,6869	0,5948	0,0716	0,1287

Letras minúsculas diferentes se diferem significativamente (P ≤ 0,010); [1]Celulas Normais
MI – microminerais inorgânicos: 100, 16 e 100 ppm de Zn, Cu e Mn, respectivamente, como sulfatos; MQ – microminerais bi-quelatado: 50, 8, 50 ppm de quelato de Zn, Cu e Mn – metionina hidroxi análogo; MO – microminerais orgânicos 2: 50, 8, 50 ppm de Complexo de Zn, Cu e Mn-aminoácido.
P valor = 0,05 de significância

Com o avançar da idade, a qualidade espermática e a morfologia espermática sofrem redução (CELEGHINI et al., 2001; ROSENSTRAUCH; DEGEN; FRIEDLANDER, 1994). Devido ao desgaste natural do galo, a quantidade de ejaculado se reduz, e os defeitos reduzem, porque o aparelho reprodutivo está totalmente desenvolvido. A partir dos dados apresentados, isso se confirma, devido a diferença significativa sobre as semanas para as características físicas do sêmen e morfológicas dos espermatozoídes. Shanmugam et al. (2014) avaliaram a qualidade de sêmen de galos em diferentes idades em condições de altas temperaturas, observaram que a idade influência sobre o volume de sêmen e a integridade do DNA do sêmen de galos. De modo que, as fases críticas da qualidade de sêmen são início e final da vida produtiva (23 e 65 semanas, respectivamente) quando os galos produzem um menor volume e maior fragmentação do DNA do esperma, indicando a menor fertilidade geralmente observada pelo uso de sêmen.

3.5 Conclusão

Sob as condições do experimento, a substituição em níveis menores de microminerais orgânicos na dieta de galos não prejudica a qualidade espermática de galos. Adicionalmente, a fonte de quelato Zn, Cu ou Mn-metionina hidroxi análogo apresentou um aumento de 4,47% a mais de motilidade espermática quando comparado ao complexo Zn, Cu ou Mn-aminoácido.

3.6 Referências

AMEM, M. H. M.; AL-DARAJI H. J. Effect of dietary zinc on semen quality of Cobb 500 broiler breeder males. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 10, n. 6, p. 477-482, 2011.

ARAÚJO, L. F.; ZANETTI, M. A. **Nutrição animal**: minerais. Barueri-SP: Manole, 2019.

BARBER, S. J.; PARKER, H. M.; MCDANIEL, C. D. Broiler breeder semen quality as affected by trace minerals in vitro. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 1, p. 100-5, 2005.

BERTECHINI, A. G. Metabolismo dos minerais. *In*: BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2013. p. 209-239.

BORGES, J. C.; SILVA, M. R.; GUIMARÃES, J. D.; ESPER, C. R.; FRANCESCHINI, P. H. Plasmatic membrane of bovine spermatozoa: effect of the species oxygen reactive, antioxidant and cryopreservation. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 3, p. 303-314, jul./set. 2011.

CAPUTI, B. (coord.). **Compêndio brasileiro de alimentação animal**: 2013. 4. ed. São Paulo: Sindirações, 2013.

CELEGHINI, E. C. C.; ALBUQUERQUE, R.; ARRUDA, R. P.; LIMA, C. C. Avaliação das características seminais de galos selecionados para a reprodução pelo desenvolvimento da crista. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 177-183, 2001.

DIBNER, J. J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 59, p. 99–110, 2003.

FAVIER, A. E. The role of zinc in reproduction. **Biological Trace Element Research**, London, v. 32, p. 363-382, 1992.

HUANG, L.; LI, X.; WANG, W.; YANG, L.; ZHU, Y. The Role of Zinc in Poultry Breeder and Hen Nutrition: an Update. **Biological Trace Element Research**, London, v. 192, p. 308-318, 2019.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. Ontario, Canada: University Books, 2001.

LONDERO, A.; PIRES ROSA, A.; GOLIN LUIGGI, F.; OLIVEIRA FERNANDES, M.; GUTERRES, A.; MOURA, S. D.; HETTWER PEDROSO; N., SANTOS, N. Effect of supplementation with organic and inorganic minerals on the performance, egg and sperm quality and, hatching characteristics of laying breeder hens. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 215, p. 106309, 2020.

KNIGHT, C. D.; DIBNER, J. J. Comparative absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid and L-methionine in the broiler chick. **Journal of Nutrition**, United States, v. 114, n. 11, p. 2179-86, 1984.

KHALIL-KHALILI, A. A.; ZHANDI, M.; ZAGHARI, M.; MEHRABANI-YEGANEH, H.; YOUSEFI, A. R.; TAVAKOLI-ALAMOOTI, M. The effect of dietary organic selenium on reproductive performance of broiler breeder roosters under dexamethasone induced stress. **Theriogenology**, Los Altos, v. 161, p. 16–25, 2020.

MCDANIEL, C. D.; HANNAH, J. L.; PARKER, H. M.; SMITH, T. W.; SCHULTZ, C. D.; ZUMWALT, C. D. Use of a sperm analyzer for evaluating broiler breeder males. 1. Effects of altering sperm quality and quantity on the sperm motility index. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 6, p. 888-93, 1998.

PARKER, H. M.; YEATMAN, J. B.; SCHULTZ, C. D.; ZUMWALT, C. D.; MCDANIEL, C. D. Use of a sperm analyzer for evaluating broiler breeder males. 2. Selection of young broiler breeder roosters for the sperm quality index increases fertile egg production. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 5, p. 771-7, 2000.

Qiu, J.; Lu, X.; Ma, L.; Hou, C.; He, J.; Liu, B.; Yu, D.; Lin, G.; Xu, J. Low-dose of organic trace minerals reduced fecal mineral excretion without compromising performance of laying hens. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 33, n. 4, p.588–596, 2020.

RICHARDS, J. D.; ZHAO, J.; ROBERT, J.; HARRELL, C. A.; ATWELL AND JULIA J. DIBNER. Trace mineral metabolism in poultry and swine. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 23, n. 11, p.1527-1534, Nov. 2010.

ROSENSTRAUCH, A.V. I.; ALLAN DEGEN, A. A.; MICHAEL FRIEDLANDER, M. Spermatozoa retention by sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. **Biology of Reproduction**, New York, v. 50, p. 129-136, 1994.

SHAN, T.; DAI, P.; ZHU, P.; CHEN, L.; WU, Q.; Li, Y.; LI, C. Effect of an Organic Trace Mineral Premix on the Semen Quality, Testicular Morphology and Gene Expression Related to Testosterone Synthesis of Male Broiler Breeders. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.19, n.3, p. 481-488, 2017.

SHANMUGAM, M.; VINOTH, A.; RAJARAVINDRA, K.S.; RAJKUMAR, U. Evaluation of semen quality in roosters of different age during hot climatic condition. **Animal Reproduction Science** v.145, p. 81–85. 2014.

ŚWIĄTKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; JÓZEFIAK, D. The efficacy of organic minerals in poultry nutrition: Review and implications of recent studies. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 70, n. 3, p. 475-486, 2014.

SURAI, P.; KOSTJUK, I.; WISHART, G.; MACPHERSON, A.; SPEAKE, B.; NOBLE, R.; IONOV, I.; KUTZ, E. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. **Biological Trace Element Research**, London, v. 64, p. 119-132, 1998.

ZORZETTO, P. S.; ARAÚJO, C. S. S.; ARAÚJO, L. F.; ROQUE, F. A.; GRANGHELLI, C. A.; LEITE, B. G. C.; GONÇALVES, J. G.; CECCANTINI, M. L; FAGUNDES, N. S.; FONTINHAS-NETTO, G. V.; DE MARCO, M.; SURAI, P. F. Replacing dietary sodium selenite with a lower level of hydroxy-selenomethionine improves the

performance of broiler breeders and their progeny, **Italian Journal of Animal Science**, Bologna, v. 20, n. 1, p. 1749-1758, 2021.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, o estudo mostra que, a redução de microminerais e sua suplementação com fonte orgânica de microminerais orgânicos tende a melhorar a produção sustentável. As dietas comerciais são geralmente suplementadas com os fortes inorgânicos, já que são mais baratas, embora a biodisponibilidade seja reduzida comparada com as fontes orgânicas.

É bem sabido que, o embrião da ave depende exclusivamente dos componentes do ovo para todas as suas necessidades nutricionais. Assim, a suplementação de microminerais orgânicos pode aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes e melhorar as características da progênie. Este estudo mostrou que a suplementação com níveis mais baixos de minerais traços quelatados de MHA melhorou a produção de reprodutores, a qualidade dos ovos, qualidade de sêmen e reduziu a inflamação jejunal dos reprodutores, mantendo o desenvolvimento tibial em comparação à suplementação com níveis mais altos de microminerais inorgânicos. Os benefícios também foram levados à progênie com melhor desempenho de crescimento, menos inflamação jejunal e melhor resposta imune inata e função da barreira intestinal em comparação com os minerais inorgânicos e/ou complexo de aminoácidos.