

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA

EXIGÊNCIA E BIODISPONIBILIDADE DE MANGANÊS PARA FRANGOS DE  
CORTE

MARIANA MASSEO SALDANHA

Belo Horizonte

Escola de Veterinária da UFMG

2019

Mariana Maseo Saldanha

**Exigência e biodisponibilidade de manganês para frangos de corte**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal/ Não-ruminantes

Orientador: Prof. Leonardo José Camargos Lara

Coorientador: Prof. Nelson Carneiro Baião

BELO HORIZONTE

2019

S162e Saldanha, Mariana Maseo, 1989-  
Exigência e biodisponibilidade de manganês para frangos de corte / Mariana Maseo  
Saldanha. – 2019.  
51 p. : il.

Orientador: Leonardo José Camargos Lara  
Co-orientador: Nelson Carneiro Baião  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

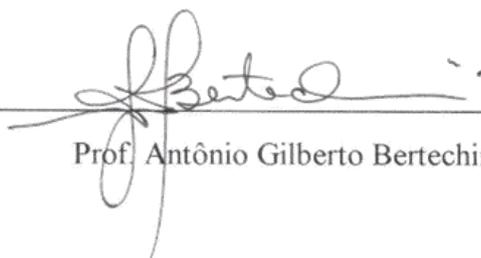
1. Frango de corte – Alimentação e rações – Teses. 2. Manganês na nutrição animal – Teses. 3. Desempenho – Avaliação – Teses. I. Lara, Leonardo José Camargos. II. Baião, Nelson Carneiro. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 636.513 085

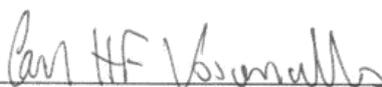
TESE defendida e aprovada em 21 de fevereiro de 2019 pela Comissão Examinadora composta pelos seguintes membros:



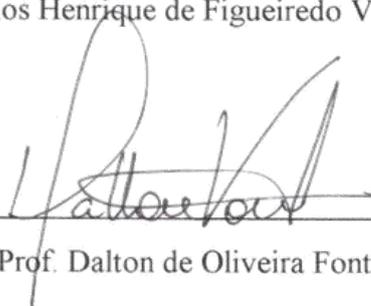
Prof. Leonardo José Camargos Lara  
(Orientador)



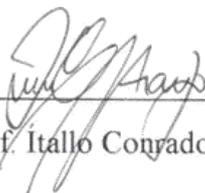
Prof. Antônio Gilberto Bertechini



Prof. Carlos Henrique de Figueiredo Vasconcellos



Prof. Dalton de Oliveira Fontes



Prof. Itallo Conrado Sousa de Araújo

*Dedico esse trabalho aos meus pais, Sueli e Sálvio, por todo o esforço despendido pela minha educação e formação.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu a vida.

Aos meus pais Sueli e Sálvio, pelo grande incentivo e amor.

Ao Leo pelo amor, companheirismo e amizade, estando sempre ao meu lado e me apoiando.

As minhas irmãs Ana Luiza e Ana Flávia, pelo carinho e incentivo.

Ao meu Orientador, Professor Leonardo Lara, pelos grandes ensinamentos, disponibilidade e orientação.

Ao meu Coorientador Professor Baião por todos os ensinamentos e por estar sempre disponível a nos ajudar.

Ao Professor Dalton por me auxiliar sempre com muita atenção e dedicação, no processo da escrita e organização dos dados.

Ao Professor Ítallo pela ajuda na correção da tese e a Paulinha pela ajuda com a tradução do trabalho e execução do experimento.

A Professora Gerluza, o técnico de laboratório Chico e ao aluno de doutorado Juliano do departamento de Biologia, por toda ajuda e atenção nas análises de histologia.

Ao Diego, Felipe e Professora Ângela pela disponibilidade e imensa ajuda nas análises de estatística.

A todos meus amigos da avicultura, que tive o grande prazer de conhecer e que tornaram a realização desse trabalho possível.

A todos os professores da pós-graduação, com os quais convive e que com certeza me ensinaram muito.

A todos meus colegas de doutorado, com os quais fiz grandes amizades.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Hélio Barbosa.

A Escola de Veterinária da UFMG, pela estrutura e apoio.

A todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
1. Minerais .....	12
2. Fontes de minerais .....	13
3. Manganês .....	17
4. Relação do manganês com a formação óssea .....	20
Referências bibliográficas.....	24
<b>CAPÍTULO II – Exigência de manganês para frangos de corte nas idades de um a 20 dias e 20 a 40 dias .....</b>	<b>30</b>
Resumo .....	30
Introdução .....	30
Material e métodos .....	31
Resultados .....	34
Discussão .....	37
Conclusão.....	39
Referências.....	39
<b>CAPÍTULO III – Biodisponibilidade relativa do manganês em relação as fontes proteínato e sulfato para frangos de corte na idade de um a 20 dias .....</b>	<b>41</b>
Resumo .....	41
Introdução .....	41
Material e métodos .....	42
Resultados .....	45
Discussão .....	47
Conclusão.....	48
Referências.....	48
<b>CAPÍTULO IV – Considerações finais .....</b>	<b>51</b>

---

## LISTA DE TABELAS

---

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Composição da dieta basal para os dois experimentos.....	32
<b>Tabela 2.</b> Concentração de Mn analisado nas rações experimentais para cada experimento .....	33
<b>Tabela 3.</b> Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) de frangos de corte machos, no período de um a 20 dias com diferentes níveis dietéticos de Mn.....	34
<b>Tabela 4.</b> Resistência óssea (Resist.), cinzas óssea (Cinzas), concentração de manganês na tíbia (MnT), concentração de manganês no fígado (MnF), concentração de cálcio na tíbia (CaT), concentração de fósforo na tíbia (PT), atividade da fosfatase alcalina (FA) em frangos de corte machos, aos 20 dias de idade com diferentes níveis dietéticos de Mn .....	35
<b>Tabela 5.</b> Equações de regressão e estimativa da exigência de Mn de acordo com o modelo de regressão para as variáveis que foram significativas ( $P \leq 0,05$ ).....	35
<b>Tabela 6.</b> Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) de frangos de corte machos, no período de 20 a 40 dias com diferentes níveis dietéticos de Mn.....	36
<b>Tabela 7.</b> Resistência óssea (Resist.), cinzas óssea (Cinzas), concentração de manganês na tíbia (MnT), concentração de manganês no fígado (MnF), concentração de cálcio na tíbia (CaT), concentração de fósforo na tíbia (PT), atividade da fosfatase alcalina (FA) em frangos de corte machos, aos 40 dias de idade com diferentes níveis dietéticos de Mn .....	36
<b>Tabela 8.</b> Equações de regressão e estimativa da exigência de Mn de acordo com o modelo de regressão para as variáveis que foram significativas ( $P \leq 0,05$ ).....	37

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1.</b> Composição da dieta basal .....	43
<b>Tabela 2.</b> Concentração de Mn analisado nas rações experimentais .....	44
<b>Tabela 3.</b> Efeitos do nível de Mn e fonte dietética no ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) de um a 20 dias de idade dos frangos de corte e resistência óssea (Resist.), concentrações de Mn na tíbia (MnTíbia) e concentração de Mn no fígado (MnFígado) em frangos de corte com 20 dias de idade .....	45
<b>Tabela 4.</b> Análise quantitativa do colágeno com birrefringência vermelha, na região da epífise da tíbia dos grupos controle (sem suplementação de Mn) e com inclusão máxima de Mn para as fontes $MnSO_4$ e ProtMn (140,0 mg de Mn/kg) .....	47

---

---

## LISTA DE FIGURAS

---

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Os osteoblastos (OB) expressam o RANKL que participa da diferenciação dos osteoclastos (OC) através da ligação com o RANK que é expresso pelos progenitores de osteoclastos (OCP) (a). O OPG é um receptor solúvel para RANKL, que está envolvido na inibição competitiva da ligação RANK/RANKL, evitando assim a ativação do RANK e posterior ativação dos osteoclastos (b)..... 21

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Biodisponibilidade relativa (BR), pelo método slope-ratio, de acordo com a fonte de suplementação, sulfato de Mn ( $MnSO_4$ ) como fonte padrão (100%) e proteinato de Mn (MnProt), para as variáveis, resistência óssea, concentração de Mn no fígado e na tibia. Os valores entre parêntesis indicam o intervalo de confiança de 95% ..... 46

---

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a exigência de manganês (Mn), para frangos de corte nos períodos de um a 20 e de 20 a 40 dias de idade e a biodisponibilidade relativa (BR) do Mn suplementado na forma de sulfato de Mn ( $\text{MnSO}_4$ ) e proteinato de Mn (MnProt). Dois experimentos foram realizados para determinar a exigência de Mn de acordo com a fase de criação (um a 20 dias e 20 a 40 dias de idade). Para cada uma das fases foram utilizados 750 frangos de corte. Os tratamentos foram definidos pela suplementação de 0, 35, 70, 105 e 140 mg de Mn/kg na forma de  $\text{MnSO}_4$ . Para determinar a exigência de Mn foram analisados consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, viabilidade e concentração de Mn na tíbia e no fígado, resistência óssea, concentração de cinzas na tíbia e atividade da fosfatase alcalina. Não foi observado efeito da concentração de Mn dietético sobre as análises de desempenho em nenhuma das fases de criação. A estimativa da exigência de Mn para frangos de corte de um a 20 dias de idade foi de 81,32 mg de Mn/kg para resistência óssea, 97,9 mg de Mn/kg para cinzas óssea, 126,96 mg de Mn/kg para concentração de Mn na tíbia e 149,45 mg de Mn/kg para concentração de Mn no fígado. No período de 20 a 40 dias a estimativa da exigência foi de 73,93 mg de Mn/kg para resistência óssea e 151,4 mg de Mn/kg para concentração de Mn na tíbia. A inclusão de Mn só se justifica para melhorar a resistência óssea, com exigência de 81,32 mg de Mn/kg para o período de um a 20 dias e 73,93 mg de Mn/kg para o período de 20 a 40 dias. A BR do MnProt, em comparação com o  $\text{MnSO}_4$ , foi determinada em frangos de corte de um a 20 dias. Foram utilizados 1.350 frangos de corte, e as dietas foram suplementadas com 0, 35, 70, 105 e 140 mg de Mn/kg de ração na forma de  $\text{MnSO}_4$  e como MnProt. Foram avaliados o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, resistência óssea e concentração de Mn na tíbia e no fígado, além disso, foi avaliado a concentração de colágeno tipo I na tíbia. Não foram observadas diferenças para as variáveis de desempenho e nem para concentração de colágeno tipo I, independente da fonte e do nível de suplementação utilizado. A BR do MnProt com base na resistência óssea foi de 111%, com base na concentração de Mn no fígado foi de 128% e com base na concentração de Mn na tíbia foi de 105%. O MnProt é mais biodisponível que o  $\text{MnSO}_4$ .

**Palavras-chave:** desempenho, biodisponibilidade, mineral, sulfato de manganês, proteinato de manganês

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the manganese (Mn) requirement for broilers in the periods of one to 20 and 20 to 40 days of age and the relative bioavailability (RB) of Mn supplemented as sulphate Mn ( $\text{MnSO}_4$ ) and Mn proteinate (MnProt). Two experiments were performed to determine the Mn requirement according to the phase (one at 20 days and 20-40 days of age). For each phase, 750 broilers were used. The treatments were defined by the supplementation of 0, 35, 70, 105 and 140 mg of Mn/kg as  $\text{MnSO}_4$ . To determine the Mn requirement, feed intake, weight gain, feed conversion, viability and concentration of Mn in the tibia and liver, bone resistance, ash concentration in the tibia and alkaline phosphatase activity were analyzed. No effect of dietary Mn concentration on performance analyzes was observed in any of the production phases. The estimate of the Mn requirement for broilers from one to 20 days of age was 81.32 mg of Mn/kg for bone strength, 97.9 mg of Mn/kg for bone ash, 126.96 mg of Mn/kg for the concentration of Mn in the tibia and 149.45 mg of Mn/kg for concentration of Mn in the liver. In the period of 20 to 40 days the requirement estimate was 73.93 mg of Mn/kg for bone resistance and 151.4 mg of Mn/kg for Mn concentration in the tibia. The inclusion of Mn is only justified to improve bone strength, with a requirement of 81.32 mg of Mn/kg for the period of one to 20 days and 73.93 mg of Mn/kg for the period of 20 to 40 days. The RB of MnProt, compared to  $\text{MnSO}_4$ , was determined in broilers from one to 20 days. 1350 broilers were used, and the diets were supplemented with 0, 35, 70, 105 and 140 mg of Mn/kg of feed as  $\text{MnSO}_4$  and as MnProt. The weight gain, feed intake, feed conversion, bone resistance and Mn concentration in the tibia and liver were evaluated. In addition, the concentration of type I collagen in the tibia was evaluated. No differences were observed for the performance variables nor for the concentration of type I collagen, regardless of the source and level of supplementation used. The RB of MnProt based on bone strength was 111%, based on the Mn concentration in the liver was 128% and based on the Mn concentration in the tibia was 105%. MnProt is more bioavailable than  $\text{MnSO}_4$ .

**Key words:** performance, bioavailability, mineral, manganese sulphate, manganese proteinate

## INTRODUÇÃO

A avicultura de corte é um dos segmentos da agropecuária que apresenta os maiores avanços tecnológicos entre as criações animais. Atualmente, fornece grande parte da proteína animal consumida em vários países, levando a um aumento considerável na produção de carne de frango nas últimas décadas, cerca de 13,05 milhões de toneladas produzidas no Brasil, segundo o relatório anual da ABPA (2018), o que se deve em grande parte aos avanços na área de genética, nutrição, sanidade e manejo, elevando assim, os níveis de produtividade e desempenho desses animais (Ribeiro et al., 2008).

Em virtude do contínuo melhoramento genético das aves que altera sua produtividade, assim como sua velocidade de crescimento, a atualização das exigências nutricionais na formulação das rações se torna necessária (Namazu et al., 2008).

Apesar dos avanços nos últimos anos em relação a pesquisas sobre suplementação mineral na dieta, a literatura sobre esse tema ainda é escassa, principalmente em relação a fonte de suplementação dos microminerais. A suplementação com microminerais na forma inorgânica, resulta em altos níveis de excreção desses minerais, que causam desperdício e poluição do meio ambiente (Bao e Choct, 2009), uma vez que essa suplementação, frequentemente é feita em quantidades superiores às exigências das aves como forma de assegurar o bom desempenho dessas. Geralmente, essa prática está relacionada ao desconhecimento do nutricionista quanto a real exigência das aves, e ao baixo custo da suplementação mineral, ocasionando, mesmo assim, em aumento do custo da ração e possíveis competições dos minerais por sítios de absorção (Gomes et al., 2008).

A maioria dos estudos com microminerais foram realizados com dietas purificadas ou semipurificadas, onde a possibilidade de interações com outros nutrientes era diminuída, não havendo preocupações com as fontes. Atualmente, com o uso de dietas práticas, normalmente à base de milho e farelo de soja, é possível uma maior aproximação do que acontece no campo (Bertechini, 2012), podendo assim, considerar para formulação a quantidade de minerais presente nos ingredientes.

Antigamente as informações obtidas de minerais eram baseadas em métodos menos sensíveis e não muito confiáveis, atualmente os elementos minerais são determinados por procedimento colorimétrico ou por meio da espectrofotometria de absorção atômica, que são métodos aprovados internacionalmente para verificar a composição mineral de plantas, ingredientes e dos animais (Richards et al., 2010), possibilitando uma melhor determinação das exigências dos animais e da composição mineral dos alimentos.

Outro aspecto importante, é que os valores de disponibilidade dos minerais encontrados nos ingredientes e nas fontes minerais atualmente utilizadas na nutrição de aves foram obtidos ou estimados com animais que não representam mais a genética utilizada atualmente, muito mais exigente, com maior velocidade de crescimento e altos índices de produção (Sakomura et al., 2014).

Com esses avanços no melhoramento genético, tem sido constante a necessidade de pesquisas visando à adequação das exigências nutricionais das aves para as diferentes fases de criação, uma vez que as exigências de minerais, assim como as exigências nutricionais,

variam de acordo com a fase de criação em que as aves se encontram, normalmente reduzindo com o avançar da idade dos frangos de corte (Cupertino et al., 2005).

Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar a exigência de manganês para frangos de corte, em duas fases de criação (um a 20 dias e 20 a 40 dias) e avaliar a biodisponibilidade relativa de manganês de uma fonte de suplementação quelatada (proteinato) em relação a fonte inorgânica (sulfato) frequentemente utilizada na ração de frangos de corte.

## CAPÍTULO I

### REVISÃO DE LITERATURA

#### 1. Minerais

Os minerais são definidos como elementos químicos sólidos ou cristalinos que devem ser suplementados na dieta do animal, pois não são sintetizados por eles e nem podem ser originados de reações químicas metabólicas (Macari et al., 2002).

Além dos compostos químicos orgânicos formados por: nitrogênio, carbono, hidrogênio, oxigênio e enxofre, que compõem o corpo dos frangos de corte, eles necessitam de pelo menos 14 microminerais para sua adequada nutrição (Scott et al., 1982). Para serem considerados essenciais, os minerais devem existir em uma quantidade constante e esperada no organismo animal, e sua deficiência deve resultar em prejuízo ou perda nas funções orgânicas, dessa forma, nem todo mineral encontrado nos tecidos animais é considerado essencial (Uderwood, 1977).

Os minerais estão presentes em todos os tecidos de animais e plantas, e de modo geral, estão envolvidos em quase todas as vias metabólicas do organismo animal, tendo funções importantes na reprodução, no crescimento, no sistema imunológico, no metabolismo energético, entre outras funções fisiológicas vitais à manutenção da vida e também ao aumento da produtividade animal (Uderwood, 1977; Suttle, 2010).

Eles podem ser divididos em macrominerais ou microminerais de acordo com a quantidade presente no corpo do animal. Os macrominerais (enxofre (S), cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl) e magnésio (Mg)) estão envolvidos, em sua grande maioria, em funções estruturais ou fisiológicas. Já os microminerais ou elementos traço (ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), cobalto (Co), molibdênio (Mo), selênio (Se), cromo (Cr), iodo (I), flúor (F)) possuem funções metabólicas incluindo a resposta imune, reprodução e crescimento, sendo muitas vezes catalisadores ou constituintes dos sistemas enzimáticos de muitas células (Kiefer, 2005). Além disso, os minerais representam cerca de 3 a 4% do peso vivo das aves (Bertechini, 2012).

Os macrominerais são exigidos em quantidades maiores e frequentemente são mencionados como porcentagem da dieta, enquanto os microminerais são exigidos em quantidades menores, sendo normalmente mencionados em mg/kg, ppm ou ppb (McDowell, 2003).

A absorção dos minerais geralmente ocorre por transporte ativo ou passivo na camada serosa do intestino delgado, sendo transportados para o fígado em sua forma livre ou complexada por meio da corrente sanguínea. Do fígado, eles são transportados pela corrente sanguínea periférica para diferentes órgãos e tecidos, onde vão desempenhar suas funções de acordo com suas exigências (Suttle, 2010).

Existem vários fatores que influenciam a absorção dos minerais no sistema gastrointestinal, sendo o intestino um local importante onde ocorre a maioria das interações entre os minerais. Os íons metálicos competem pelo sítio de ligação das proteínas transportadoras encontradas no duodeno, influenciando assim, na sua absorção (Lopez et al., 2002). Além disso, a absorção dos minerais também pode ser influenciada pelo pH

intestinal, tendo em geral, uma taxa de absorção decrescente a medida que atravessa o intestino: duodeno (pH: 5-6) > jejuno (pH: 6,5-7) > íleo (pH: 7-7,5), uma vez que para a maioria dos minerais quanto mais alcalino o lúmen, menor a taxa de absorção (Lopez et al., 2002).

Quando a quantidade do mineral absorvido é maior que os requisitos imediatos, o excesso é armazenado no corpo (ex: Fe no fígado), excretado na urina (ex: Ca) ou excretado através de secreções gastrointestinais ou pelas células da mucosa intestinal (ex: Zn, Cu) (Fairweather-Tait e Hurrell, 1996).

De acordo com Underwood e Suttle (1999), a concentração e as formas de armazenamento dos minerais nos tecidos e fluidos do organismo podem ser alteradas com a ingestão de dietas deficientes, desbalanceadas ou com o excesso de minerais. Sendo que em alguns casos, as funções fisiológicas são alteradas, acarretando lesões e desordens estruturais, as quais variam de acordo com o elemento mineral, a duração da deficiência, a toxicidade da dieta e os fatores intrínsecos dos animais, como idade, sexo e espécie. A falta ou quantidades insuficientes dos minerais resultam em sintomas de deficiência, reduzindo o desempenho dos animais, da mesma forma, quantidades em excesso levam a redução do desempenho devido à toxidez.

Na avicultura moderna, os problemas ósseos representam grandes perdas no processo de produção, e os minerais, por estarem diretamente relacionados com a formação esquelética das aves, têm sido negligenciados quanto a sua adequação dietética, principalmente no que se refere à suplementação dos microminerais, por representarem baixo custo na ração (Sakomura et al., 2014).

Apesar da grande importância que possuem os microminerais no organismo animal e da recomendação que eles sejam suplementados na dieta, alguns trabalhos mostram que essa suplementação em determinadas condições não seria necessária, sendo a dieta basal a base de milho e farelo de soja, suficiente para manter o nível adequado desses minerais para o desempenho animal (Sunder et al., 2006; Li et al., 2011).

Collins e Moran (1999) testaram diferentes níveis de suplementação de sulfato de Zn e Mn e não observaram diferença no desempenho dos frangos de corte. Da mesma forma Yang et al. (2011) avaliaram diferentes níveis de suplementação de Cu, Fe, Zn e Mn em dietas para frangos de corte e observaram que não houve diferença entre os tratamentos sobre o desempenho das aves, o que indica que a dieta basal, sem suplementação dos minerais foi suficiente para garantir um adequado crescimento dos frangos de corte.

## **2. Fontes de minerais**

Para frangos de corte as fontes de microminerais utilizadas na ração são normalmente oriundas de compostos inorgânicos, como os cloretos, óxidos, sulfatos, carbonatos e fosfatos, apresentando variação na sua biodisponibilidade ou valor biológico, sendo que os sulfatos e cloretos são mais biodisponíveis que os óxidos e os carbonatos (Araújo et al., 2008).

Os óxidos são as fontes mais concentradas de minerais, se for levado em consideração o manganês, os óxidos apresentam em média 77,0% desse mineral, enquanto o sulfato apresenta 32,5% e o carbonato 47,0%. No entanto, os óxidos são agentes

oxidantes potentes e não devem ser armazenados com vitaminas, pois pode causar oxidação e, conseqüentemente, destruição de grande parte delas. Além disso, os óxidos são considerados menos biodisponíveis que os outros sais (Leeson e Summers, 2005).

Watson et al. (1970) realizaram um experimento para avaliar três formas de suplementação de Mn em dieta para frangos de corte, sendo um sulfato e dois óxidos com níveis de inclusão de 10, 20 e 30 ppm. Observaram que 10 ppm de Mn na forma de sulfato e de apenas um dos óxidos foi suficiente para apresentar os melhores resultados de crescimento, cinzas óssea e evitar a ocorrência de perose. Além disso, a concentração de Mn no osso aumentou com níveis alimentares crescentes de Mn, o que sugere que esse parâmetro pode ser um critério de resposta suficientemente sensível para avaliações desse mineral.

Da mesma forma Gajula et al. (2008), ao avaliarem três fontes de inclusão de Mn na dieta (cloreto, óxido e sulfato), não observaram diferença no ganho de peso e nem em anormalidades nas pernas dos frangos de corte, no entanto, aves suplementadas com óxido e sulfato apresentaram melhor conversão alimentar. Já em relação à deposição de Mn na tíbia, fígado e rim, as aves que receberam cloreto de Mn na dieta apresentam maior deposição nesses órgãos, sugerindo assim, que o cloreto teve maior biodisponibilidade em relação ao óxido e ao sulfato.

Os sais inorgânicos de microminerais possuem baixa biodisponibilidade, o que segundo Mabe (2001) pode estar relacionado com a formação de complexos com outras substâncias no trato digestivo, reduzindo a solubilidade desses elementos e sua absorção, uma vez que os minerais ao entrarem no trato gastrointestinal são solubilizados, para liberarem os íons que serão absorvidos, principalmente, no intestino delgado.

No entanto, na forma de íons eles podem se complexar com outros nutrientes da dieta, dificultando ou até impedindo sua absorção. Isso acontece, por exemplo, com o ácido fítico, que é capaz de formar complexos com microminerais muito estáveis e altamente insolúveis, tornando esses minerais indisponíveis para absorção (Leeson e Summers, 2001). Por esse motivo, normalmente as fontes inorgânicas de microminerais são suplementadas em excesso, para garantir sua adequada absorção.

No entanto, essa elevada suplementação resulta em alta concentração dos microminerais nas excretas das aves e, conseqüentemente, acúmulo no meio ambiente. De acordo com trabalho realizado por Mohanna e Nys (1998), cerca de 90% a 99% do Zn, Fe, Mn e Cu que são ingeridos pelos frangos de corte, podem ser excretados, e além disso, o Zn e o Cu excretados podem representar uma fonte de fitotoxicidade do solo. Segundo esses autores, uma forma de reduzir os riscos ao meio ambiente, seria a adequação dos níveis de suplementação desses microminerais na dieta, reduzindo assim, as largas margens de segurança que são utilizadas.

Esse fato justifica o interesse crescente em explorar fatores que aumentem a absorção ou metabolização dos microminerais. Neste sentido, fontes quelatadas de minerais têm sido estudadas e comercializadas devido principalmente, a sua maior biodisponibilidade.

Minerais quelatados são formados por minerais ligados a algum tipo de veículo, como aminoácidos ou polissacarídeos através de ligações covalentes no grupo amino ou no

oxigênio. O quelato formado, normalmente é uma estrutura de anel com o mineral bivalente ou multivalente mantido forte ou fracamente através das ligações covalentes e que não apresenta carga elétrica, um exemplo clássico de quelato é o Fe presente na hemoglobina (Leeson e Summers, 2005).

Esses minerais são normalmente produzidos após a hidrólise de uma fonte proteica, resultando na formação de hidrolisado contendo uma mistura de aminoácidos e peptídeos ligados aos minerais (Bertechini, 2012). São componentes naturais dos organismos animais e vegetais que circulam na forma complexada e não como íons inorgânicos livres, reduzindo a solubilização e as perdas por excreção antes dos processos de absorção. Na forma de quelato podem ser absorvidos pelos carreadores intestinais de aminoácidos e peptídeos e/ou por transportadores intestinais clássicos de minerais. Portanto, não só a biodisponibilidade aumenta, como também os minerais nessa forma são prontamente transportados para os tecidos (Vieira et al., 2011).

Uma das principais características e proposta da utilização dos minerais quelatados é aumentar a biodisponibilidade desses minerais, que pode ser entendido como a quantidade do mineral que é ingerido, absorvido, transferido para o seu sítio de ação e transformado na sua forma fisiologicamente ativa, suprindo sua demanda nos tecidos alvos (Cozzolino, 1997).

Na forma de quelato os minerais não fazem ligações indesejáveis como, por exemplo, com fitato ou fibra. Wedekind et al. (1992) realizaram um trabalho para provar como os minerais quelatados quando em dietas práticas são mais biodisponíveis para os frangos de corte, por não formarem complexos com outros nutrientes. Eles avaliaram a inclusão de Zn quelatado com metionina e sulfato de Zn em três tipos de dieta, uma purificada, outra semi-purificada e outra prática a base de milho e farelo de soja e observaram que a estimativa da biodisponibilidade do Zn- metionina em relação ao sulfato de Zn para as dietas purificada, semi-purificada e prática foram respectivamente 117, 177 e 206%, provando assim, que em uma dieta prática que possui fitatos e fibras o Zn-metionina é mais biodisponível.

Normalmente os quelatos industriais utilizam aminoácidos livres para se complexarem com os minerais bivalentes. O objetivo de utilizar os minerais na forma de quelato é modificar o sítio de absorção de maneira que o mineral seja absorvido por transporte ativo nos vários segmentos do intestino delgado, ao contrário do que acontece com os microminerais na forma iônica, que são absorvidos por proteínas específicas ou por transporte passivo (Sakomura et al., 2014).

Segundo Kratzer e Vohra (1996), a absorção dos minerais quelatados pode ocorrer sob duas formas: o mineral pode ser ligado à borda em escova sendo absorvido pela célula epitelial ou como ocorre na maioria das vezes onde o agente quelante é absorvido levando junto a si o metal. Além disso, o mecanismo pelo qual o agente quelante melhora a utilização do mineral, depende da capacidade do ligante em sequestrar esse mineral, ou de sua habilidade em competir com outros ligantes, formando complexos solúveis com o mineral, aumentando assim sua absorção.

Segundo a AAFCO (Association of American Feed Control Officials, 1999) existem cinco tipos de quelatos disponíveis no mercado: o complexo metal com aminoácido

específico, que é o produto resultante da complexação de um sal de metal solúvel com um aminoácido específico, em que o teor mínimo de metal deve ser declarado. O complexo metal com aminoácido, que é resultante da complexação de um sal de metal com uma mistura de aminoácidos livres, semelhante ao anterior, mas que não especifica o aminoácido utilizado. O quelato metal com aminoácido, que é resultante da reação de um íon metálico de um sal solúvel com aminoácidos em uma reação molar de um mol de metal para preferencialmente dois mols de aminoácidos, formando uma ligação covalente. O metal proteinato que é resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteínas parcialmente hidrolisadas, e o complexo metal com polissacarídeo, que é resultante da complexação de um sal solúvel com um polissacarídeo, em que a matriz de polissacarídeo somente envolve o micromineral e promove uma proteção física contra a degradação intestinal, não havendo ligações químicas entre o metal e o polissacarídeo.

Segundo Ji et al. (2006), a glicina tem o menor peso molecular de todos os aminoácidos, o que poderia indicar uma maior facilidade de absorção quando quelatada ao Mn, do que em relação a outros quelatos com aminoácidos. No entanto, a metionina é o primeiro aminoácido limitante para frangos de corte, e por isso, o quelato Mn-metionina é comumente utilizado, além disso, em trabalho realizado por esses autores eles observaram que o Mn quelatado com a metionina foi mais absorvido no intestino da ave do que o quelatado com a glicina, contrariando assim, o que eles supunham. Em relação à fonte inorgânica (sulfato de Mn), ambos quelatos (Mn-glicina e Mn-metionina) tiveram maior absorção.

Leeson (2008) conduziu um trabalho com frangos de corte, recebendo dietas contendo minerais na forma inorgânica (100 ppm Zn, 90 ppm Mn, 30 ppm Fe e 5 ppm Cu), como sulfato. O nível de inclusão de minerais quelatados foi determinado e reduzido para 80%, 60%, 40% ou 20% em relação a fonte inorgânica. O autor concluiu que mesmo as aves recebendo 20% de minerais quelatados apresentaram desempenho semelhante ao do grupo controle, o que significa que a redução dos níveis de minerais quelatados na dieta resultou em diminuição dos níveis de minerais excretados e a manutenção do desempenho das aves.

Por outro lado, Ao et al. (2009), ao compararem fontes quelatas com proteína e inorgânicas na forma de sulfato dos minerais Zn e Cu, não observaram diferença entre as fontes para o desempenho dos frangos de corte. No entanto a fonte de Zn quelatada resultou em maior concentração desse mineral na tíbia.

Vieira et al. (2011), ao avaliarem a suplementação de minerais na forma quelatada para frangos de corte, observaram que a suplementação de Zn, Mn, Fe e Cu nas formas de quelato e de Se na forma de Se levedura em níveis de 21,3%, 26,26%, 24%, 28,8% e 22,5% das respectivas suplementações nas formas inorgânicas, proporcionaram o crescimento adequado dos animais e a manutenção das reservas de microminerais nos tecidos, além da redução da excreção desses minerais.

Por outro lado, Wang et al. (2012) avaliaram a biodisponibilidade do proteinato de Mn comparado ao sulfato de Mn para frangos de corte, alimentados com uma dieta basal à base de milho e farelo de soja, e não encontraram diferença significativa entre as duas

fontes testadas para atividade da Mn-superóxido dismutase (MnSOD) e nível de mRNA MnSOD em tecido cardíaco.

Ao avaliarem a suplementação dos microminerais Zn, Mn e Cu na forma inorgânica (100, 120 e 16 mg/kg respectivamente) e na forma quelatada com inclusão de 100% e 50% em relação ao inorgânico, El-Husseiny et al. (2012) concluíram que é possível reduzir para 50% a inclusão desses minerais na forma quelatada, sem comprometer o desempenho, as características da carcaça e a qualidade da tibia dos frangos de corte, além de reduzir a excreção desses minerais para o ambiente.

Da mesma forma, Sirri et al. (2016) observaram melhor eficiência dos microminerais (Cu, Zn e Mn) na forma quelatada, quando comparado com a forma inorgânica. Os frangos aos 51 dias apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar quando utilizada a fonte quelatada.

Embora produzidos desde a década de 70 pelas indústrias brasileiras, a utilização dos minerais quelatados na nutrição animal é recente, e a discussão de sua importância está baseada em suas ações específicas a nível celular e sua maior biodisponibilidade em relação aos minerais inorgânicos (Kiefer, 2005).

### **3. Manganês**

O Mn é o quinto elemento mais abundante no planeta Terra e é conhecido por ser essencial para os animais (Suttle, 2010). Ele participa de funções importantes no organismo animal, sobretudo na matriz óssea, e sua deficiência pode provocar anormalidades nas pernas e nos dedos, além de incidência de perose, que é caracterizada pelo engrossamento e má formação da junta tíbio-tarsal, que provoca a saída do tendão Aquiles de sua posição normal (Cupertino et al., 2005). Isso se deve ao Mn ter efeito direto sobre a formação do tecido conjuntivo.

Além disso, ele possui função essencial na reprodução, sistema imune, mecanismo de defesa contra radicais livres, hemostasia e coagulação sanguínea juntamente com a vitamina K (Aschner e Aschner, 2005), e em diversos processos bioquímicos como ativador de algumas metaloenzimas como a piruvato carboxilase, superóxido dismutase e a glicosiltransferase (Suttle, 2010). Estando envolvido também, na síntese dos proteoglicanos, presentes na placa de crescimento ósseo, e sendo essencial para manutenção da mineralização óssea (Liu et al., 1994).

A metaloenzima Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD) é um importante antioxidante na maioria das células expostas ao oxigênio, e é significativamente expressa em diversos órgãos que possuem muitas mitocôndrias, como é o caso do coração, fígado e rins (Conly et al., 2012; Zhu et al., 2016), sendo que o coração apresenta a maior expressão de mRNA e é mais sensível as alterações de Mn na dieta (Xugang et al., 1991).

O Mn é acumulado principalmente no fígado, estando presente também em diversos órgãos, na pele, no músculo e nos ossos. Nas células, o maior conteúdo de Mn é encontrado no interior das mitocôndrias, já nos ossos, a tibia é o local com maior capacidade de deposição desse mineral, em função dos níveis ingeridos (Bertechini, 2012).

Os ingredientes comumente utilizados em rações de aves são relativamente ricos em Mn, no entanto, a absorção desse mineral no intestino delgado é baixa, principalmente

devido à formação de complexos com fitatos e com as fibras (Halpin et al., 1986). Além disso, outros minerais como Ca, P e Fe podem inibir a absorção de Mn, por reduzirem a solubilidade desse mineral e competirem por sítio de absorção (Macari et al., 2002). Por outro lado, níveis elevados de Mn na dieta podem reduzir a absorção de Cu, reduzindo sua concentração na tíbia e no fígado (Gajula et al., 2011).

Schaible e Bandemer (1942) avaliaram a influência do excesso de suplementação de Ca e P sobre a biodisponibilidade do Mn, e observaram que devido à capacidade adsortiva desses minerais, rações com excesso de Ca e P, reduzem a absorção de Mn aumentando a incidência de perose nos frangos de corte. Da mesma forma Wedekind e Baker (1990), também observaram antagonismo entre o excesso dos minerais Ca e P em relação ao Mn, no entanto, eles descreveram que o excesso de P na dieta é mais antagônico ao Mn do que o excesso de Ca.

O Mn é absorvido nas células da mucosa ao longo do intestino delgado, principalmente no íleo (Ji et al., 2006; Bai et al., 2008), provavelmente como um íon  $Mn^{+2}$ , pelos transportadores de íons metálicos divalentes (Tufarelli e Laudadio, 2017), em quantidades proporcionais a existente na dieta, sendo removido do sangue facilmente pelo fígado. Uma pequena proporção desse mineral é oxidado à  $Mn^{+3}$ , ligando-se a transferrina e sendo transportado para os tecidos (Gibbons et al., 1976). Dentro da célula o Mn é sequestrado pelas mitocôndrias, e por esse motivo ele é muito presente em tecidos ricos em mitocôndrias, como o fígado, rim e pâncreas (Kato, 1963). O excesso de Mn pode ser excretado parcialmente pela bile, que é a principal via reguladora desse mineral, sendo que em condições de sobrecarga as rotas gastrointestinais auxiliares também participam da sua excreção, auxiliando nessa regulação (Suttle, 2010).

De acordo com trabalho realizado por Bai et al. (2008) a absorção do Mn nos segmentos intestinais duodeno e jejuno, é mediada por transportadores, já no íleo, onde ocorre a maior absorção, ela ocorre por difusão insaturável.

Os principais parâmetros utilizados para medir a biodisponibilidade desse mineral, são avaliações do desempenho das aves, avaliações ósseas, do fígado, por ser o órgão com maior concentração desse mineral, avaliações sanguíneas e a incidência do aparecimento de animais com perose, que é causada muitas vezes, devido à deficiência de Mn (Sakomura et al., 2014).

Brooks et al. (2012) não observaram diferença para o desempenho de frangos de corte quando utilizaram duas fontes distintas de Mn, sendo uma quelatada (propionato de Mn) e uma inorgânica (sulfato de Mn), no entanto, quando foi utilizado o parâmetro de concentração de Mn no osso, que é mais sensível a alteração de Mn na dieta, eles observaram uma biodisponibilidade relativa de 139% para o propionato de Mn em relação ao sulfato (100%), quando utilizado uma dieta a base de milho e farelo de soja com níveis elevados de Ca e P.

A exigência nutricional de Mn suplementar para frangos de corte, segundo o NRC (National Research Council, 1994), é de 60 mg/kg, segundo Rostagno et al. (2017) varia de 74,0 mg/kg na fase inicial, 53,0 mg/kg na fase de crescimento e 43,0 mg/kg na fase final para fontes inorgânicas e 33,0 mg/kg na fase inicial, 23,5 mg/kg na fase de crescimento e

19,0 mg/kg na fase final para as fontes orgânicas e segundo Leeson e Summers (2005) é de 70 mg/kg.

Sabe-se na prática, que níveis elevados de Mn têm sido utilizados, com a justificativa da alta velocidade de crescimento do frango de corte, dos maiores problemas com a formação óssea e devido ao baixo custo. Por outro lado, não houve modificações fisiológicas no processo absorvivo do Mn pela ave, que justifique os altos níveis utilizados (Sakomura et al., 2014).

Além disso, acredita-se que a exigência de Mn pelos frangos reduziu ao longo dos anos devido a melhor adequação e conseqüentemente redução nos níveis de suplementação de Ca e P, o que provoca maior absorção do Mn, devido ao efeito antagônico desses minerais (Suttle, 2010).

Cupertino et al. (2005) realizaram um experimento para determinar as exigências de Mn para frangos de corte nas fases de crescimento (22 a 42 dias) e final (43 a 54 dias) e observaram que a exigência para machos e fêmeas foi de 90 ppm na fase de crescimento e que os níveis de 30 a 40 ppm de Mn foram suficientes para o desenvolvimento das aves na fase final, não havendo necessidade de sua suplementação em dietas práticas a base de milho e farelo de soja.

Da mesma forma, Sunder et al. (2006) avaliaram a influência de diferentes níveis de Mn (0, 100, 400, 800, 1600 ou 3200 mg/kg) na dieta de frangos de corte dos 8 a 28 dias de idade e relataram que a suplementação até o nível de 100 mg/kg de Mn melhorou a retenção de Ca, P e Zn nos ossos. Os resultados indicaram que a suplementação de Mn de 0 a 800 mg/kg não influenciou o ganho de peso e o consumo de ração, no entanto houve piora em ambos parâmetros nos níveis de 1600 e 3200 mg/kg de ração. Além disso, níveis acima de 1600 mg/kg ou a não suplementação com Mn aumentou a contagem de anomalias nas pernas.

Li et al. (2011), após avaliarem diferentes níveis de suplementação de Mn na dieta na fase de um a 21 dias, também concluíram que o Mn presente na ração a base de milho e farelo de soja já é suficiente para manter o adequado desenvolvimento dos frangos de corte. No entanto, ao avaliarem a concentração de Mn na MnSOD o nível adequado de suplementação desse mineral foi de 130 mg/kg.

Pacheco (2012) também avaliou diferentes níveis dietéticos de Mn sobre o desempenho de frangos de corte de um a 42 dias e observou que o tratamento controle, sem a adição de Mn, atendeu as exigências para o desempenho dos frangos de corte, além disso, ele observou que o grau de mineralização óssea aumentou conforme elevação da concentração de Mn na dieta, independente da fonte em que o micromineral foi estudado (quelatada ou inorgânica).

Resultados semelhantes foram observados por Lu et al. (2016), quando avaliaram diferentes níveis de suplementação de Mn na dieta (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 140 mg Mn/kg) para frangos de corte na fase de 22 a 42 dias e não observaram diferença significativa entre os tratamentos. O que sugere que o Mn presente na ração basal à base de milho e farelo de soja já foi suficiente para suprir a exigência das aves nesse período. No entanto, eles observaram maior deposição de Mn no coração e conseqüentemente maior expressão da MnSOD nesse órgão, com a suplementação de Mn na dieta.

A variação observada na recomendação de suplementação de Mn nas diversas pesquisas e tabelas nutricionais pode ser devido a diferenças de idade, sexo, manejo e linhagem das aves (Olgun, 2017).

De acordo com os trabalhos, é possível observar que muitas vezes o desempenho do animal não é um bom indicador da exigência de Mn. Sendo mais interessante utilizar parâmetros como, a concentração desse mineral no fígado e tíbia, além da atividade de algumas metaloenzimas como a MnSOD ou parâmetros ósseos, pois esses são mais sensíveis as alterações do Mn na dieta.

#### **4. Relação do manganês com a formação óssea**

O osso é um tecido dinâmico e metabolicamente muito ativo que constantemente é remodelado e é influenciado por fatores fisiológicos, físicos e nutricionais (Biewener e Bertram, 1994). Ele é constituído de aproximadamente 70% de mineral, 22% de proteína e 8% de água (Macari et al., 2002), sendo sua matriz orgânica (principalmente colágeno, lipídeos, proteoglicanos e outras proteínas estruturais) responsável pela elasticidade e a fração inorgânica (principalmente cristais de hidroxiapatita-  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) pela sua rigidez (Johnsson et al., 2015). Os minerais Ca e P, na forma de hidroxiapatita, são os principais componentes da fração inorgânica do osso, representando entre 60 e 70% do seu peso, e são responsáveis por conferir a ele, dureza e força de compressão (Rath et al., 2000).

A morfogênese e a remodelação óssea são processos fisiológicos que envolvem a síntese da matriz óssea pelos osteoblastos e a reabsorção óssea pelos osteoclastos, sendo os osteoblastos e osteoclastos os dois tipos principais de células características do tecido ósseo, além dos osteócitos que são células derivadas dos osteoblastos, menos ativas e as células osteoprogenitoras que são precursoras dos osteoblastos e dos osteócitos. O equilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea é mantido ao longo do tempo por diversos fatores hormonais, físicos e humorais (Vieira, 1999).

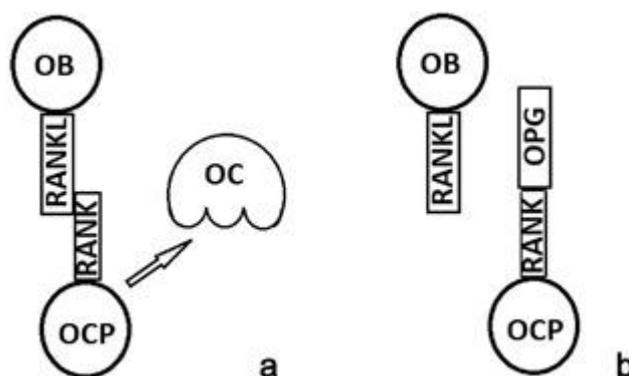
Durante o início da vida, a formação óssea excede sua reabsorção, promovendo aumento líquido da massa óssea, enquanto que no final da vida, a reabsorção óssea excede sua formação, tendo assim, perda líquida de osso (Roodman, 1996). Quando a reabsorção óssea por osteoclastos excede a formação óssea pelos osteoblastos, normalmente ocorre redução da massa óssea, fragilidade esquelética e fratura dos ossos, que podem estar relacionados com distúrbios esqueléticos como a osteoporose (Bruzzaniti e Baron, 2006).

Os osteoblastos são células especializadas mononucleares, derivadas de células mesenquimais (Caplan, 1991) e os osteoclastos são células grandes, multinucleadas e sua diferenciação é desencadeada principalmente pelo ativador de receptor nuclear fator kB ligante (RANKL), também conhecido como fator de diferenciação de osteoclastos, que é expresso nos osteoblastos (Wang et al., 2008).

Durante muitos anos não se sabia exatamente como era regulado o processo de reabsorção óssea. Após os anos 90, foi descoberto o sistema RANKL/RANK/OPG que proporcionou grandes avanços nos estudos da modelação e remodelação óssea, através dos osteoclastos (Boyce e Xing, 2008).

O gene RANKL é uma citosina, essencial para a diferenciação dos osteoclastos e inibição de sua apoptose (Kong et al., 1999). Apresenta maior expressão nos ossos e na medula óssea, sendo secretado pelas células do estroma da medula óssea e pelos osteoblastos (Udagawa et al., 1990). Além disso, essas células também produzem um fator chamado osteoprotegerina (OPG), que tem como principal ação biológica a inibição da diferenciação dos osteoclastos e de sua atividade (Yasuda et al., 1998), sendo que a interação OPG-RANKL proporciona um conhecimento sobre o estado normal da regulação óssea e possíveis alterações patológicas (Wang et al., 2008).

Os osteoblastos estão envolvidos na regulação da osteoclastogênese por meio da modificação da razão RANKL/OPG. Essas células sintetizam OPG, que é um receptor solúvel para RANKL e que está envolvido na inibição competitiva da ligação RANK-RANKL, evitando assim a ativação do RANK e consequentemente a ativação dos osteoclastos (figura 1) (Maruotti et al., 2017). Dessa forma, o aumento da proporção de RANKL em relação ao OPG, promove a osteoclastogênese, acelerando a reabsorção óssea e induzindo a perda óssea e o OPG atua como inibidor solúvel da maturação e ativação dos osteoclastos (Hofbauer e Schoppet, 2004).



**Figura 1.** Os osteoblastos (OB) expressam o RANKL que participa da diferenciação dos osteoclastos (OC) através da ligação com o RANK que é expresso pelos progenitores de osteoclastos (OCP) (a). O OPG é um receptor solúvel para RANKL, que está envolvido na inibição competitiva da ligação RANK/RANKL, evitando assim a ativação do RANK e posterior ativação dos osteoclastos (b) (Maruotti et al., 2017).

Diversos hormônios, como o paratormônio, além da vitamina D, calcitonina, estrogênio, serotonina, lecitina e até alguns minerais podem estar envolvidos na regulação da expressão de RANKL e OPG nos osteoblastos (Neve et al., 2011).

Em um experimento para avaliar o efeito da deficiência de Mn sobre a expressão do RNAm dos genes OPG e RANKL, Liu et al. (2015) utilizaram três tratamentos, um controle (60 mg Mn/kg) e dois com deficiência de Mn (40,0 e 8,7 mg Mn/kg) para frangos de corte, e obtiveram como resultado redução na expressão dos RNAm de ambos os genes para os tratamento com deficiência de Mn, o que pode ser explicado por uma possível redução na quantidade dos osteoblastos, devido a deficiência desse mineral. Além disso, a relação RANKL/OPG foi aumentada com a deficiência de Mn, levando a maior

diferenciação dos osteoclastos e aumento na sua atividade, aumentando assim, a reabsorção óssea e possíveis problemas ósseos.

Além do mecanismo RANKL/RANK/OPG, existem marcadores bioquímicos utilizados para indentificar a maior formação ou reabsorção óssea que estão ligados aos produtos resultantes da ação dos osteoblastos ou dos osteoclastos. Dentre os marcadores de formação óssea, os mais utilizados são a fosfatase alcalina e a osteocalcina quantificadas no soro do animal (Vieira, 1999).

A fosfatase alcalina é uma enzima que faz parte de um grupo de metaloproteínas, com capacidade de remover grupamentos fosfato de diferentes moléculas, tendo sua maior atividade em ambiente alcalino. Essa enzima pode ser produzida em diferentes órgãos e tecidos, como fígado, intestino e osso, sendo que em condições normais aproximadamente 50% da fosfatase alcalina circulante é de origem óssea (Saraç e Saygili, 2007) e mais de 90% de origem hepática e óssea (Vieira, 1999). Por isso, ela é normalmente usada como indicador de distúrbios ósseos ou hepáticos, no caso dos ossos indicando aumento na sua formação à medida que seus valores aumentam, uma vez que ela é produzida pelos osteoblastos.

A osteocalcina é um peptídeo sintetizado pelos osteoblastos, com função pouco conhecida, que foi reconhecido como indicador da atividade osteoblástica e consequentemente da formação óssea (Zanatta et al., 2014), pois apesar de ser depositada na matriz óssea, uma pequena fração entra na circulação sanguínea, podendo ser mensurada (Vieira, 1999).

A quantificação de colágeno tipo I no osso, também pode ser utilizada como um indicador da formação e maturação óssea, uma vez que, o colágeno tipo I é o principal constituinte do osso e o principal produto de secreção do osteoblasto, célula responsável pela síntese da matriz óssea orgânica (Vargas et al., 1997). Aproximadamente 80 a 90% da matriz orgânica óssea é composta de colágeno, que é uma proteína fibrosa helicoidal tripla que fornece suporte para o processo de mineralização (Rath et al., 2000). Além disso, segundo Wang et al. (2001), o colágeno está diretamente relacionado a resistência e força óssea.

Como avaliação de parâmetros físicos dos ossos existem os testes biomecânicos que determinam principalmente, a resistência do osso a quebra, por meio de ensaio de flexão com uma força aplicada no centro do osso. Essa força varia de acordo com a composição do osso, seu tamanho e formato (Turner e Burr, 1993). Segundo Shim et al. (2012), a mineralização óssea afeta sua resistência e consequentemente a capacidade do osso em resistir a gravidade e ao peso do próprio frango.

A capacidade do osso em resistir à compressão, também está relacionada à formação da cartilagem óssea que é composta por proteoglicanos e dependente da ação da glicosiltransferase, que é uma enzima ativada pelo íon Mn (Conly et al., 2012).

A cinza óssea também é usada como uma medida da mineralização do osso, normalmente aves com distúrbios ósseos apresentam menor porcentagem de cinzas do que aves saudáveis e a quantidade de cinzas normalmente é proporcional ao grau de dureza ou a força de compressão (Shim et al., 2012).

Uma variedade de microminerais é encontrada no osso, incluindo Fe, Cu, Zn, Mn, flúor (F), estrôncio (Sr) e boro (B). Embora estejam presentes em quantidades mínimas, eles influenciam os processos metabólicos normais por meio da interação ou incorporação de proteínas, particularmente as enzimas (Underwood, 1977). Como por exemplo, o Cu, Mn e Zn, estão relacionados ao desenvolvimento normal e a manutenção do esqueleto, devido suas funções catalíticas na síntese da matriz óssea orgânica, ou no funcionamento das células do osso ou cartilagem (Cashman e Flynn, 1998).

Tem sido demonstrado que o Mn é um dos minerais essenciais para o desenvolvimento normal dos ossos, e para prevenção da perose em frangos de corte (Wilgus et al., 1937). Além disso, o Mn é importante na síntese de mucopolissacarídeos, e sua deficiência prejudica a síntese da matriz orgânica cartilaginosa, que retarda a ossificação endocondral e causa anormalidades esqueléticas. Segundo Wang et al. (2015), a deficiência de Mn leva a redução no crescimento longitudinal da tíbia, devido a inibição da proliferação e ao aumento da apoptose de condrócitos.

Cupertino et al. (2005), ao avaliarem diferentes níveis de suplementação de Mn (0, 30, 60, 90, 120 e 150 mg/kg) para frangos de corte machos e fêmeas, nas fases de 22 a 42 dias e de 43 a 54 dias de idade, não observaram diferença significativa entre os tratamentos sobre parâmetros ósseos, como resistência e concentração desse mineral na tíbia. Sugerindo que não seria necessária a suplementação de Mn durante esse período de criação, uma vez que o nível de 6,5 mg/kg de Mn presente na dieta a base de milho e farelo de soja foram suficientes para atender as exigências das aves.

Da mesma forma, Bozkurt et al. (2015) não observaram diferença na resistência óssea quando suplementaram a dieta com fonte quelatada e inorgânica de Mn. Eles acreditam que esse resultado pode ter sido devido à baixa inclusão de Mn, uma vez que o nível mais alto foi 50 mg/kg.

Ghosh et al. (2016) também não encontraram diferença entre os tratamentos com diferentes níveis de Mn (0, 50, 75 e 100 mg/kg) e com utilização ou não de fitase (0 ou 500 U/kg), para os parâmetros de desempenho e porcentagem de cinzas óssea em frangos de corte de um a 42 dias.

O conhecimento sobre Mn indica que já foram realizados muitos ensaios com produtos e condições experimentais diferentes. Por outro lado, a indústria de frangos de corte ainda apresenta muitos problemas de ordem óssea, que afetam significativamente os resultados econômicos da atividade, havendo a necessidade de novos estudos de exigência e de novas fontes de Mn para adequar os níveis de suplementação desse mineral, melhorando assim, a qualidade óssea e reduzindo as perdas durante o processo de abate.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA-Associação Brasileira de Proteína Animal (São Paulo). 2018. Relatório Anual. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2018>>. Acesso em: 29 nov. 2018.
- 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*, v.88, p.2171-2175, 2009.
- ARAUJO, J. A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. Fontes de minerais para poedeiras. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.2, p.53-60, 2008.
- ASCHNER, J.L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Molecular Aspects of Medicine*, v.26, p.353-362, 2005.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS. Official Publication, p. 143. Association of American Feed Control Officials, 1999.
- BAI, S.P.; LU, L.; LUO, X.G.; LIU, B. Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry Science*, v.87, p.2596-2604, 2008.
- BAO, Y.M.; CHOCT, M. Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace mineral: a review. *Animal Production Science*, v.49, p.269-282, 2009.
- BERTECHINI, A.G. Nutrição de monogástricos. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2012, 373 p.
- BIEWENER, A.A.; BERTRAM, J.E. Structural response of growing bone to exercise and disuse. *Journal of Applied Physiology*, v.76, p.946-955, 1994.
- BOYCE, B.F.; XING, L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives Biochemistry Biophysics*, v.473, p.139-146, 2008.
- BOZKURT, Z.; BULBUL, T.; BOZKURT, M.F.; BULBUL, A.; MARALCAN, G.; ÇELIKELOGLU, K. Effects of organic and inorganic manganese supplementation on bone characteristics, immune response to vaccine and oxidative stress status in broiler reared under high stocking density. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, v. 21, p.623-630, 2015.
- BROOKS, M.A.; GRIMES, J.L.; LLOYD, K.E.; VALDEZ, F.; SPEARS, J.W. Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *Journal of Applied Poultry Research*, v.21, p.126-130, 2012.
- BRUZZANITI, A.; BARON, R. Molecular regulation of osteoclast activity. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, v.7, p.123-139, 2006.
- CAPLAN, A.I. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, v.9, p.641-650, 1991.
- CASHMAN, K.; FLYNN, A. Trace elements and bone metabolism. *Bibliotheca Nutritio et Dieta*, v.54, p.150-164, 1998.
- COLLINS, N.E.; MORAN, JR. E.T. Influence of supplemental manganese and zinc on live performance and carcass quality of broilers. *The Journal of Applied Poultry Research*, v.8, p.222-227, 1999.

- CONLY, A.K.; POURESLAMI, R.; KOUTSOS, E.A.; BATAL, A.B.; JUNG, B.; BECKSTEAD, R.; PETERSON, D.G. Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, v.91, p.1633-1640, 2012.
- COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*, v.10, p.87-98, 1997.
- CUPERTINO, E.S.; GOMES, P.C.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; CECON, P.R.; SCHIMIDT, M. Exigências de manganês para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, p.2308-2315, 2005.
- EL-HUSSEINY, O.M.; HASHISH, S.M.; ALI, R.A.; ARAFA, S.A.; ABD, L.D.; ELOLIMY, A. Effects of feeding organic zinc, manganese and copper on broiler growth, carcass characteristics, bone quality and mineral content in bone, liver and excreta. *International Journal of Poultry Science*, v.11, p.368-377, 2012.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.; HURRELL, R.F. Bioavailability of minerals and trace elements. *Nutrition Research Reviews*, v.9, p.295-324, 1996.
- GAJULA, S.S.; CHALASANI, V.K.; PANDA, A.K.; MANTENA, V.L.; SAVARAM, R.R. Effect of supplemental inorganic Zn and Mn and their interactions on the performance of broiler chicken, mineral bioavailability and immune response. *Biological Trace Element Research*, v.139, p.177-187, 2011.
- GAJULA, S.S.; GOPINATH, N.C.S.; PANDA, A.; KUMAR, C.H.V.; RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N. Relative bioavailability of manganese from its chloride, oxide and sulphate salts for broiler chickens. *The Indian Journal of Animal Science*, v.78, p.775-779, 2008.
- GHOSH, A.; MANDAL, G.P.; ROY, A.; PATRA, A.K. Effects of supplementation of manganese with or without phytase on growth performance, carcass traits, muscle and tibia composition, and immunity in broiler chickens. *Livestock Science*, v.191, p.80-85, 2016.
- GIBBONS, R.A.; DIXON, S.N.; HALLIS, K.; RUSSELL, A.M.; SANSOM, B.F.; SYMONDS, H.W. Manganese metabolism in cows and goats. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.444, p.1-10, 1976.
- GOMES, P.C.; RIGUEIRA, D.C.M.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; BRUMANO, G.; SCHIMIDT, M. Exigências nutricionais de zinco para frangos de corte machos e fêmeas na fase inicial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.1, p.79-83, 2008.
- HALPIN, K.M.; CHAUSOW, D.G.; BAKER, D.H. Efficiency of manganese absorption in chicks fed corn-soy and casein diets. *Journal of Nutrition*, v.116, p.1747-1751, 1986.
- HOFBAUER, L.C.; SCHOPPET, M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA*, v.292, p.490-495, 2004.
- JI, F.; LUO, X.G.; LU, L.; LIU, B.; YU, S.X. Effect of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. *Poultry Science*, v.85, p.1947-1952, 2006.
- JOHANSSON, M.; JONSSON, K.B.; ANDERSSON, L.; JENSEN, P.; WRIGHT, D. Genetic regulation of bone metabolism in the chicken: similarities and differences to Mammalian systems. *Plos Genetics*, v.11, p.1-19, 2015.

- KATO, M. Distribution and excretion of radiomanganese administered to the mouse. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, v.48, p.355-369, 1963.
- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.2, p.206 -220, 2005.
- KONG, Y.Y.; YOSHIDA, H.; SAROSI, I.; TAN, H.L.; TIMMS, E.; CAPPARELLI, C.; MORONY, S.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A.J.; VAN, G.; ITIE, A.; KHOO, W.; WAKEHAM, A.; DUNSTAN, C.R.; LACEY, D.L.; MAK, T.W.; BOYLE, W.J.; PENNINGER, J.M. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*, v.397, p.315-323, 1999.
- KRATZER, F.H., VOHRA, P. *Chelates in nutrition*. Boca Raton, Florida: CRC Press, p.5-33. 1996.
- LEESON, S. Trace minerals in poultry nutrition-2. Copper and zinc-the next pollution frontier. *World Poultry*, v.3, p.14-16, 2008.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. *Scott's Nutrition of the Chicken*. 4. ed. Ontario: University Books, 2001.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. *Commercial poultry nutrition*. 3.ed. Ontario: University Books, 2005.
- LI, S.; LIN, Y.; LU, L.; XI, L.; WANG, Z.; HAO, S.; ZHANG, L.; LI, K.; LUO, X. An estimation of the manganese requirement for broilers from 1 to 21 days of age. *Biological Trace Element Research*, v.143, p.939-948, 2011.
- LIU, A.C.H.; HEINRICH, B.S.; LEACH, R.M. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poultry Science*, v.73, p.663-669, 1994.
- LIU, R.; JIN, C.; WANG, Z.; WANG, Z.; WANG, J.; WANG, L. Effects of manganese deficiency on the microstructure of proximal tibia and OPG/RANKL gene expression in chicks. *Veterinary Research Communications*, v.39, p.31-37, 2015.
- LOPEZ, H.W.; LEENHARDT, F.; COUDRAY, C.; REMESY, C. Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition?. *International Journal of Food Science and Technology*, v.37, p.727-739, 2002.
- LU, L.; CHANG, B.; LIAO, X.; WANG, R.; ZHANG, L.; LUO, X. Use of molecular biomarkers to estimate manganese requirements for broiler chickens from 22 to 42 d of age. *British Journal of Nutrition*, v.116, p.1512-1518, 2016.
- MABE, I. Efeitos da suplementação dietética com quelatos de zinco e de manganês na produção de ovos e morfologia intestinal de galinhas poedeiras. 2001. 94p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, USP.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.
- MARUOTTI, N.; CORRADO, A.; CANTATORE, F.P. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. *Journal of Cellular Physiology*, v.232, p.2957-2963, 2017.
- McDOWELL, L.R. *Minerals in animal and human nutrition*. 2.ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003.

- MOHANNA, C.; NYS, Y. Influence of age, sex and cross on body concentrations of trace elements (zinc, iron copper and manganese) in chickens. *British Poultry Science*, v.39, p.536-543, 1998.
- NAMAZU, L.B.; KOBASHIGAWA, E.; ALBUQUERQUE, R.; SCHAMMASS, E.A.; TAKEARA, P.; TRINDADE NETO, M.A. Lisina digestível e zinco quelato para frangos de corte machos: desempenho e retenção de nitrogênio na fase pré-inicial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, p.1634-1640, 2008.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. Nutrient requirements of poultry. 9.ed. National Academic Press, Washington, D.C., 1994.
- NEVE, A.; CORRADO, A.; CANTATORE, F.P. Osteoblast physiology in normal and pathological conditions. *Cell and Tissue Research*, v.343, p.289-302, 2011.
- OLGUN, O. Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*, v.73, p.45-56, 2017.
- PACHECO, B.H.C. Níveis dietéticos de zinco e manganês sobre o desempenho, disponibilidade, e mineralização óssea de frangos de corte. 2012. 85p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, USP.
- RATH, N. C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E.; BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*, v.79, p.1024-1032, 2000.
- RIBEIRO, A.M.L.R.; VOGT, L.K.; CANAL, C.W.; LAGANÁ, C.; STRECK, A.F. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos e sua ação sobre a imunocompetência de frangos de corte submetidos a estresse por calor. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, p.636-644, 2008.
- RICHARDS, J.D.; ZHAO, J.; HARRELL, R.J.; ATWELL, C.A.; DIBNER, J.J. Trace mineral nutrition in poultry and swine. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, v.23, p.1527-1534, 2010.
- ROODMAN, G.D. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocrine Reviews*, v.17, p.308-332, 1996.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. Viçosa: UFV, 2017.
- SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.S.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. Nutrição de não ruminantes. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2014.
- SARAÇ, F.; SAYGILI, F. Causes of high bone alkaline phosphatase. *Biotechnology e Biotechnological Equipment*, v.21, p.194-197, 2007.
- SCHAIBLE, P.J.; BANDEMER, S.L. The Effect of Mineral Supplements on the Availability of Manganese. *Poultry Science*, v.21, p.8-14, 1942.
- SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YANG, R.J. Essential inorganic elements. In: SCOTT, M.L.; NESHEIM, M.C.; YANG, R.J. ed. Nutrition of the chicken. New York, NY, USA, p.277-382, 1982.
- SHIM, M.Y.; KARNUAH, A.B.; MITCHELL D.; ANTHONY, N.B.; PESTI, G.M.; AGGREY, S.E. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. *Poultry Science*, v.91, p.1790-1795, 2012.

- SIRRI, F.; MAIORANO, G.; TAVANIELLO, S.; CHEN, J.; PETRACCI, M.; MELUZZI, A. Effect of different levels of dietary zinc, manganese, and copper from organic or inorganic sources on performance, bacterial chondronecrosis, intramuscular collagen characteristics, and occurrence of meat quality defects of broiler chickens. *Poultry Science*, v.95, p.1813-1824, 2016.
- SUNDER, G.S.; PANDA, A.; GOPINATH, N.C.S.; RAJU, M.V.L.N.; RAO, S.V.R.; KUMAR, C.V. Effect of supplemental manganese on mineral uptake by tissues and immune response in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, v.43, p.371-377, 2006.
- SUTTLE, N.F. Mineral nutrition of livestock. 4.ed. Wallingford: CABI Publishing. 2010.
- TUFARELLI, V.; LAUDADIO, V. Manganese and its role in poultry nutrition: an overview. *Journal of Experimental Biology and Agriculture Science*, v.5, p.749-754, 2017.
- TURNER, C.H.; BURR, D.B. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*, v.14, p.595-608, 1993.
- UDAGAWA, N.; TAKAHASHI, N.; AKATSU T.; TANAKA, H.; SASAKI, T.; NISHIHARA, T.; KOGA, T.; MARTIN, T.J.; SUDA, T. Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v.87, p.7260-7264, 1990.
- UNDERWOOD, E.J. Trace elements in human and animal nutrition. New York: Academic Press; 1977.
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3.ed. Wallingford: CABI Publishing, 1999.
- VARGAS, D.M.; AUDÍ, L.; CARRASCOSA, A. Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, p.367-370, 1997.
- VIEIRA, J.G.H. Considerações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, v.43, p.415-422, 1999.
- VIEIRA, R. A.; HANNAS, M. I.; ALBINO, L. F. T.; TAVERNARI, F. C. Utilização de minerais quelatados e de selênio levedura na alimentação de frangos de corte. *Revista Agrominas*, outubro 2011. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/905942/1/TAVERNARI0001.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2017.
- WANG, F.; LU, L.; LI, S.; LIU, S.; ZHANG, L.; YAO, J.; LUO, X. Relative bioavailability of manganese proteinate for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. *Biological Trace Element Research*, v.146, p.181-186, 2012.
- WANG, J.; WANG, Z.Y.; WANG, Z.J.; LIU, R.; LIU, S.Q.; WANG, L. Effects of manganese deficiency on chondrocyte development in tibia growth plate of Arbor Acres chicks. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, v.33, p.23-29, 2015.

- WANG, X., BANK, R.A.; TEKOPPELE, J.M.; AGRAWAL, C.M. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *Journal of Orthopaedic Research*, v.19, p.1021-1026, 2001.
- WANG, Y.; HOU, J.F.; ZHOU, Z.L. Chicken Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand Induces Formation of Chicken Osteoclasts from Bone Marrow Cells and also Directly Activates Mature Osteoclasts. *Poultry Science*, v.87, p.2344-2349, 2008.
- WATSON, L.T.; AMMERMAN, C.B.; MILLER, S.M.; HARMS, R.H. Biological assay of inorganic manganese for chicks. *Poultry Science*, v.49, p.1548-1554, 1970.
- WEDEKIND K.J.; BAKER, D.H. Manganese utilization in chicks as affected by excess calcium and phosphorus ingestion. *Poultry Science*, v.69, p.977-984, 1990.
- WEDEKIND, K.J.; HORTIN, A.E.; BAKER, D.H. Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulphate and zinc oxide. *Journal of Animal Science*, v.70, p.178-187, 1992.
- WILGUS, H.S.; NORRIS, L.C.; HEUSER, G.F. The role of manganese and certain other trace elements in the prevention of perosis. *The Journal of Nutrition*, v.14, p.155-167, 1937.
- XUGANG, L.; QI, S.; JUNCHUN, H.; JINXU, L. A study on the optimal manganese (Mn) level in a practical diet of broiler chicks. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Science*, v.22, p.313-317, 1991.
- YANG, X.J.; SUN, X.X.; LI, C. Y.; ET AL. Effects of copper, iron, zinc, and manganese supplementation in a corn and soybean meal diet on the growth performance, meat quality, and immune responses of broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*, v.20, p.263-271, 2011.
- YASUDA, H.; SHIMA, N.; NAKAGAWA, N.; MOCHIZUKI, S.I.; YANO, K.; FUJISE, N.; SATO, Y.; GOTO, M.; YAMAGUCHI, K.; KURIYAMA, M.; KANNO, T.; MURAKAMI, A.; TSUDA, E.; MORINAGA, T.; HIGASHIO, K. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, v.39, p.1329-1337, 1998.
- ZANATTA, L.C.B.; BOGUSZEWSKI, C.L.; BORBA, V.Z.C.; KULAK, C.A.M. Osteocalcin, energy and glucose metabolism. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, v.58, p.444-451, 2014.
- ZHU YW, LU L, LI WX, ZHANG LY, JI C, LIN X, LUO XG. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expressions of heat shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. *British Journal of Nutrition*, v.116, p.1851-1860, 2016.

## CAPÍTULO II

### Exigência de manganês para frangos de corte nas idades de um a 20 dias e 20 a 40 dias

**RESUMO-** Dois experimentos foram realizados para determinar a exigência de manganês (Mn) de acordo com a fase de criação dos frangos de corte, o primeiro experimento foi de um a 20 dias, e o segundo de 20 a 40 dias de idade. Para cada um dos experimentos foram utilizados 750 frangos de corte machos, da linhagem Cobb, distribuídos aleatoriamente em um dos cinco tratamentos e seis repetições com 25 aves em cada. Os tratamentos foram definidos pela suplementação de 0, 35, 70, 105, 140 mg de Mn/kg na forma de sulfato de Mn. Para determinar a exigência de Mn foram analisados dados de desempenho dos frangos de corte (consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade) e concentração de Mn na tíbia e fígado, resistência óssea, concentração de cinzas na tíbia e atividade da fosfatase alcalina. Não foi observado efeito da concentração de Mn dietético sobre as análises de desempenho em nenhuma das duas fases. A estimativa da exigência de Mn para frangos de corte de um a 20 dias de idade foi de 81,32 mg de Mn /kg para resistência óssea, 97,9 mg de Mn/kg para cinzas óssea, 126,96 mg de Mn/kg para concentração de Mn na tíbia e 149,45 mg de Mn/kg para concentração de Mn no fígado. No período de 20 a 40 dias a estimativa da exigência foi de 73,93 mg de Mn/kg para resistência óssea e 151,4 mg de Mn/kg para concentração de Mn na tíbia. A inclusão de Mn só se justifica para melhorar a resistência óssea, com exigência de 81,32 mg de Mn/kg para o período de um a 20 dias e 73,93 mg de Mn/kg para o período de 20 a 40 dias.

**Palavras-chave:** desempenho, mineral, sulfato de manganês, resistência óssea

## INTRODUÇÃO

Em virtude do contínuo melhoramento genético dos frangos de corte, que altera sua produtividade, assim como sua velocidade de crescimento, a atualização das exigências nutricionais na formulação das rações se torna necessária (Namazu et al., 2008).

De modo geral, a literatura sobre suplementação de microminerais para aves é escassa e sua suplementação resulta em altos níveis de excreção desses minerais, que causam desperdício e poluição do meio ambiente (Bao e Choct, 2009), uma vez que essa suplementação frequentemente é feita em quantidades superiores às exigências das aves como forma de assegurar o bom desempenho dessas.

Geralmente, essa prática está relacionada ao desconhecimento dos nutricionistas quanto a real exigência das aves, e ao baixo custo da suplementação mineral na dieta, ocasionando possíveis competições dos minerais por sítios de absorção e consequentemente maior excreção dos minerais (Gomes et al., 2008).

Dentre os microminerais que são suplementados na dieta de frangos de corte, pode-se citar o manganês (Mn). Esse mineral está envolvido em diversos processos bioquímicos

como ativador de algumas metaloenzimas como a piruvato carboxilase, superóxido dismutase e a glicosiltransferase (Suttle, 2010), estando envolvido também na síntese dos proteoglicanos, presentes na placa de crescimento ósseo e sendo essencial para manutenção da mineralização óssea. Além disso, sua deficiência pode provocar anormalidades nas pernas e nos dedos e aumento da incidência de perose (Cupertino et al., 2005).

Diante do exposto, objetivou-se estabelecer a exigência de Mn, suplementado na forma de sulfato, para frangos de corte machos nas idades de um a 20 dias e 20 a 40 dias.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais descritos nessa pesquisa foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o protocolo nº 197/2016.

### *Procedimentos gerais*

Foram conduzidos dois experimentos, cada um utilizando 750 frangos de corte machos, da linhagem Cobb<sup>®</sup>. O primeiro experimento para a idade de um a 20 dias e o segundo de 20 a 40 dias. Foram alojadas 25 aves por boxe experimental (12 aves/m<sup>2</sup>). Durante os primeiros 14 dias de idade, as aves receberam 24 horas de luz artificial (em função da Lâmpada de 250 W do aquecimento), passando a receber iluminação natural a partir dessa idade até o final do experimento. A ração e a água foram fornecidas a vontade, e a água continha cerca de 0,003 mg de Mn /L.

Para cada fase foram utilizados cinco tratamentos e seis repetições de 25 aves em cada. A dieta basal a base de milho e farelo de soja (Tabela 1) foi formulada para atender as exigências dos frangos de corte em cada fase, exceto para Mn.

Na primeira fase os pintos de corte foram distribuídos uniformemente entre os tratamentos e começaram a receber a ração experimental desde o primeiro dia até os 20 dias de idade. Na segunda fase os pintos de corte receberam ração inicial com suplementação de 70 mg de Mn/kg na forma de sulfato de Mn (MnSO<sub>4</sub>) durante o período de um a 12 dias de idade, de 13 a 19 dias de idade eles passaram a receber ração sem suplementação de Mn, e com 20 dias de idade as aves foram pesadas e homogeneamente distribuídas nos tratamentos, passando a receber a dieta experimental.

**Tabela 1.** Composição da dieta basal para os dois experimentos

Ingredientes	Ração Basal (%)	Ração Basal (%)	Mn (mg/kg)
	Um a 20 dias	20 a 40 dias	
Milho	57,671	63,670	5,3 (<10*)
Farelo de soja 46% PB	31,600	27,570	31,9 (25,0*)
Farinha de carne e ossos	6,000	4,000	1,5 (12,0*)
Óleo vegetal	3,200	3,430	
Calcário	0,350	0,368	
Sal	0,350	0,380	
DL-Metionina	0,330	0,230	
L-Lisina	0,190	0,066	
L-Treonina	0,070	0,020	
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,050	0,050	
Suplemento vitamínico <sup>2</sup>	0,050	0,050	
Cloreto de colina	0,025	0,012	
Anticoccidiano <sup>3</sup>	0,050	0,050	
Promotor de crescimento <sup>4</sup>	0,004	0,004	
Inerte	0,060	0,100	
<b>Composição calculada</b>			
Energia Met. Aves Kcal/kg	3.050	3.149	
Proteína Bruta %	21,8	19,5	
Cálcio %	1,02	0,78	
Fósforo disponível %	0,45	0,35	
Manganês mg/kg	13,25	10,08	
Lisina dig. %	1,16	0,95	
Metionina dig. %	0,62	0,49	
Met+Cis dig. %	0,90	0,74	

<sup>1</sup> Conteúdo/Kg: Co – 100 mg; Se – 200 mg; Zn – 50 g; Cu – 6.000 mg; Fe – 50 mg; I – 1.000 mg.

<sup>2</sup> Conteúdo/Kg: Vit. A – 10.000.000 UI; Vit. B1 – 1.500 mg; Vit. B12 – 15.000 µg; Vit. B2 – 5.000 mg; Vit. B6 – 2.000 mg; Vit. D3 – 2.000.000 UI; Vit. E – 13.000 UI; Vit. K3 – 2.500 mg; Biotina – 100 mg; Niacina - 33 g; Ácido fólico – 800 mg; Ácido pantotênico – 10 g.

<sup>3</sup> Coxistac®- Salinomicina

<sup>4</sup> Surmax®- Avilamicina

\* Manganês analisado

Os tratamentos nos dois experimentos foram definidos pela dieta basal suplementadas com 0 (grupo controle), 35, 70, 105 ou 140 mg de Mn/kg na forma de MnSO<sub>4</sub> 26,5%. As concentrações analisadas de Mn nas dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Concentração de Mn analisado nas rações experimentais para cada experimento

Fonte de Mn	Mn adicionado (mg/kg)	Mn analisado (mg/kg)	
		Um a 20 dias	20 a 40 dias
Controle	0	12,2	13,2
MnSO <sub>4</sub>	35,0	48,3	45,4
	70,0	82,0	85,0
	105,0	117,0	119,0
	140,0	150,0	151,4

***Variáveis analisadas***

Nas duas fases a mortalidade foi registrada durante todo o período experimental e as aves foram pesadas semanalmente. Os dados de desempenho avaliados foram: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade.

Aos 20 dias de idade na primeira fase e aos 40 dias de idade na segunda fase, seis aves de cada tratamento, sendo uma por repetição, foram eutanasiadas por deslocamento cervical, para obtenção da tíbia esquerda, fêmur esquerdo, fígado com vesícula biliar e para coleta de sangue.

Para a determinação da porcentagem de cinzas presente na tíbia esquerda, foi realizada extração lipídica nos ossos por imersão em éter de petróleo e o teor de cinzas foi obtido por calcinação em mufla a 600°C, durante seis horas (Silva e Queiroz, 2002). As cinzas dos ossos foram utilizadas para fazer a solução padrão e determinar a porcentagem de Mn pelo espectrofotômetro de absorção atômica (Silva e Queiroz, 2002) e para determinação de cálcio (Ca) e fósforo (P) de acordo com os procedimentos da AOAC (2010).

As amostras de fígado foram liofilizadas, juntamente com a vesícula biliar e a concentração de Mn nestes órgãos foi mensurada pelo espectrofotômetro de absorção atômica: Perkin Elmer - Analyst 100 (Silva e Queiroz, 2002).

As amostras de fêmur esquerdo foram submetidas a ensaio mecânico, utilizando máquina universal de ensaio EMIC<sup>®</sup>, modelo DL 3000, com carga aplicada à velocidade de 5 mm/min. e célula de carga de 2000 N em ensaio de flexão de três pontos, sendo a região central do osso (diáfise) selecionada para aplicação da carga.

O soro foi separado das amostras de sangue para análise da atividade de fosfatase alcalina, no aparelho Cobas com o kit da marca Kovalent<sup>®</sup>.

***Análise estatística***

O delineamento experimental para as duas fases foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições. As análises estatísticas das variáveis estudadas foram realizadas utilizando-se o programa computacional R versão 3.3.3 (2017), sendo as estimativas das exigências de Mn estabelecidas por meio dos modelos de regressão linear, quadrático e do modelo descontínuo, linear response plateau, conforme o melhor ajuste dos dados. As variáveis que violaram o princípio de normalidade ou de homogeneidade de variância foram comparadas com o teste de Kruskal-Wallis e em caso de significância as

médias foram comparadas de duas a duas pelo teste de Dunn. Todas as significâncias foram baseadas em  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

### *Primeira fase- um a 20 dias*

O nível de Mn dietético, suplementado na forma de  $MnSO_4$  não afetou ( $P > 0,05$ ) o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar dos frangos de corte no período de um a 20 dias de idade (Tabela 3).

A viabilidade foi afetada pelo nível dietético de Mn ( $P < 0,05$ ), sendo que a menor viabilidade e consequentemente a maior mortalidade foi registrada para o nível de 117,0 mg de Mn/kg, quando comparado ao nível dietético de 150,0 mg de Mn/Kg (Tabela 3).

**Tabela 3.** Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) de frangos de corte machos, no período de um a 20 dias com diferentes níveis dietéticos de Mn

	CR (g)	GP(g)	CA (g/g)	Viab. (%)
<b>Níveis de Mn (mg/kg)</b>				
12,2	1059	874	1,212	99,3 ab
48,3	1055	878	1,214	98,7 ab
82,0	1061	872	1,217	97,3 ab
117,0	1046	861	1,219	96,0 b
150,0	1025	854	1,211	100 a
<b>SEM</b>	4,81	4,77	0,002	
<b>Valor de P</b>				<b>Kruskal-Wallis*</b>
Linear	0,064	0,081	0,617	0,017
Quadrática	0,220	0,401	0,294	

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Houve efeito do nível dietético de Mn para resistência óssea ( $P < 0,05$ ; Tabela 4). O modelo que melhor se ajustou foi o linear platô, devido ao maior valor de  $R^2$  e comportamento dos dados (Tabela 5), sendo a estimativa da exigência de 81,32 mg de Mn/Kg. Os diferentes níveis dietéticos de Mn também alteraram a concentração de cinzas óssea ( $P < 0,05$ ), com resposta quadrática e nível ótimo estimado de 97,9 mg de Mn/kg (Tabelas 4 e 5).

Para concentração de Mn na tíbia e no fígado também houve diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), com melhor ajuste para os modelos linear platô e quadrático, respectivamente (Tabelas 4 e 5). Dessa forma, a estimativa da exigência de Mn para concentração de Mn na tíbia foi de 126,96 mg de Mn/kg e para concentração de Mn no fígado foi de 149,45 mg de Mn/kg (Tabela 5).

As concentrações de Ca e P na tíbia e a atividade da fosfatase alcalina não foram influenciados de acordo com o nível dietético de Mn na dieta ( $P > 0,05$ ; Tabela 4).

**Tabela 4.** Resistência óssea (Resist.), cinzas óssea (Cinzas), concentração de manganês na tíbia (MnT), concentração de manganês no fígado (MnF), concentração de cálcio na tíbia (CaT), concentração de fósforo na tíbia (PT), atividade da fosfatase alcalina (FA) em frangos de corte machos, aos 20 dias de idade com diferentes níveis dietéticos de Mn

	<b>Resist.</b> <b>(kgf)</b>	<b>Cinzas</b> <b>(%)<sup>1</sup></b>	<b>MnT</b> <b>(mg/kg)<sup>1</sup></b>	<b>MnF</b> <b>(mg/kg)</b>	<b>CaT</b> <b>(%)<sup>1</sup></b>	<b>PT</b> <b>(%)<sup>1</sup></b>	<b>FA</b> <b>(U/L)</b>
<b>Níveis de Mn</b>							
<b>(mg/kg)</b>							
12,2	13,5	43,9	4,5	30,9	10,4	7,3	13076,8
48,3	15,1	47,5	5,9	57,4	10,8	7,5	8056,3
82,0	16,1	47,3	6,6	62,7	10,2	7,6	7236,8
117,0	17,0	46,4	7,3	70,0	10,0	7,6	5851,9
150,0	16,9	46,0	7,7	75,0	10,4	7,6	6853,4
<b>SEM</b>	0,448	0,414	0,241	4,20	0,128	0,056	
<b>Valor de P</b>							<b>Kruskal-Wallis*</b>
Linear	0,003	0,164	<0,001	<0,001	0,472	0,125	0,080
Quadrática	0,320	0,003	0,036	0,016	0,810	0,401	

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P \leq 0,05$ ).

<sup>1</sup>Com base na matéria seca desengordurada.

**Tabela 5.** Equações de regressão e estimativa da exigência de Mn de acordo com o modelo de regressão para as variáveis que foram significativas ( $P < 0,05$ )

	<b>Modelo</b>	<b>Equação</b>	<b>Estimativa da exigência</b>	<b>Valor de P</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Resistência</b>	Linear platô <sup>1</sup>	$y = 16,602 - 0,0443 * (81,3171 - x)$	81,32	0,037	0,944
<b>Cinzas</b>	Quadrático <sup>2</sup>	$y = 43,0805 + 0,0979x - 0,0005x^2$	97,90	0,003	0,841
<b>Mn Osso</b>	Linear platô <sup>1</sup>	$y = 7,72 - 0,0262 * (126,9577 - x)$	126,96	<0,001	0,976
<b>Mn Fígado</b>	Quadrático <sup>2</sup>	$y = 24,8492 + 0,6576x - 0,0022x^2$	149,45	0,016	0,974

<sup>1</sup> Modelo linear response plateau:  $y = \beta_0 + \beta_1 * (\beta_2 - x)$ , onde  $(\beta_2 - x) = 0$  para  $X > \beta_2$ , y é a variável dependente, x é a concentração de Mn na dieta,  $\beta_0$  é o valor no platô,  $\beta_1$  é a inclinação e  $\beta_2$  é a concentração de Mn no ponto de quebra.

<sup>2</sup> Modelo de regressão polinomial quadrática:  $y = \beta_0 + \beta_1 * x + \beta_2 * x^2$ , onde y é a variável dependente, x é a concentração de Mn na dieta e  $\beta_0$  é o intercepto,  $\beta_1$  e  $\beta_2$  são os coeficientes lineares e quadráticos, respectivamente; A concentração de resposta máxima foi obtida por:  $-\beta_1 \div (2 * \beta_2)$ .

### **Segunda fase-20 a 40 dias**

O consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade não diferiram ( $P > 0,05$ ) entre os níveis dietéticos de Mn, para o período de 20 a 40 dias de idade dos frangos de corte (Tabela 6).

**Tabela 6.** Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade (Viab.) de frangos de corte machos, no período de 20 a 40 dias com diferentes níveis dietéticos de Mn

Variáveis	CR (g)	GP(g)	CA (g/g)	Viab. (%)
<b>Níveis de Mn (mg/kg)</b>				
13,2	3484	2049	1,692	100
45,4	3383	2043	1,656	99,3
85,0	3379	2026	1,670	99,3
119,0	3467	2084	1,680	100
151,4	3364	2046	1,661	98,7
<b>SEM</b>	14,5	6,59	0,004	
<b>Valor de P</b>				<b>Kruskal-Wallis*</b>
Linear	0,176	0,562	0,311	0,419
Quadrática	0,622	0,952	0,484	

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Houve efeito quadrático do nível dietético de Mn, para resistência óssea ( $P < 0,05$ ; Tabela 7 e 8), sendo a estimativa da exigência de 73,93 mg de Mn/Kg. A concentração de Mn na tíbia também diferiu significativamente entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), de forma linear crescente (Tabela 7 e 8).

A porcentagem de cinzas, concentração de Mn no fígado, concentrações de Ca e P na tíbia e atividade da fosfatase alcalina, não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) de acordo com o nível dietético de Mn (Tabela 7).

**Tabela 7.** Resistência óssea (Resist.), cinzas óssea (Cinzas), concentração de manganês na tíbia (MnT), concentração de manganês no fígado (MnF), concentração de cálcio na tíbia (CaT), concentração de fósforo na tíbia (PT), atividade da fosfatase alcalina (FA) em frangos de corte machos, aos 40 dias de idade com diferentes níveis dietéticos de Mn

	Resist. (kgf)	Cinzas (%) <sup>1</sup>	MnT (mg/kg) <sup>1</sup>	MnF (mg/kg)	CaT (%) <sup>1</sup>	PT (%) <sup>1</sup>	FA (U/L)
<b>Níveis de Mn (mg/kg)</b>							
13,2	30,2	41,5	3,6	21,8	9,9	9,6	2791,2
45,4	27,0	44,7	4,3	25,0	10,5	9,2	3291,3
85,0	27,9	43,8	4,7	23,1	10,4	9,5	2751,8
119,0	27,4	46,3	4,8	20,8	10,3	10,7	2750,1
151,4	32,9	43,7	5,5	20,7	10,1	9,5	1838,5
<b>SEM</b>	0,568	0,574	0,140	0,864	0,157	0,249	
<b>Valor de P</b>							<b>Kruskal-Wallis*</b>
Linear	0,316	0,136	<0,001	0,322	0,669	0,306	0,611
Quadrática	<0,001	0,103	0,834	0,348	0,225	0,889	

\*Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Com base na matéria seca desengordurada.

**Tabela 8.** Equações de regressão e estimativa da exigência de Mn de acordo com o modelo de regressão para as variáveis que foram significativas ( $P < 0,05$ )

Variável	Modelo	Equação	Estimativa da exigência	Valor de P	R <sup>2</sup>
<b>Resistência</b>	Quadrática <sup>1</sup>	$y = 31,8755 - 0,1415x + 0,000957x^2$	73,93	<0,001	0,847
<b>Mn Osso</b>	Linear <sup>2</sup>	$y = 3,5585 + 0,01242x$	151,4	<0,001	0,943

<sup>1</sup> Modelo de regressão polinomial quadrática:  $y = \beta_0 + \beta_1 \times x + \beta_2 \times x^2$ , onde y é a variável dependente, x é a concentração de Mn na dieta e  $\beta_0$  é o intercepto,  $\beta_1$  e  $\beta_2$  são os coeficientes lineares e quadráticos, respectivamente; A concentração de resposta máxima foi obtida por:  $-\beta_1 \div (2 \times \beta_2)$ .

<sup>2</sup> Modelo de regressão polinomial linear:  $y = \beta_0 + \beta_1 \times x$ , onde y é a variável dependente, x é a concentração de Mn na dieta e  $\beta_0$  é o intercepto,  $\beta_1$  é o coeficiente linear.

## DISCUSSÃO

Para as duas fases, o nível de Mn dietético não afetou o desempenho dos frangos de corte, o que sugere que o Mn presente na ração à base de milho e farelo de soja (12,2 mg de Mn/kg na ração basal de um a 20 dias e 13,2 mg de Mn/kg na ração basal de 20 a 40 dias de idade), foi suficiente para manter o adequado desempenho das aves para os dois períodos de criação. Esses resultados estão de acordo com Berta et al. (2004) que, ao avaliarem duas fontes de Mn (quelatada e inorgânica) e níveis de suplementação (0, 30, 60 e 240 mg de Mn/kg), não observaram diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros de desempenho animal.

Gajula et al. (2011) também não observaram diferença entre os tratamentos com diferentes níveis de inclusão de Mn e Zn para o desempenho das aves. Da mesma forma Li et al. (2011) avaliaram níveis de suplementação de  $MnSO_4$  (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 140 mg de Mn/kg) e também não observaram diferença entre os tratamentos para consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. Assim como no presente estudo, eles consideraram que as análises de desempenho animal não foram um critério sensível para estimar a exigência de Mn quando foi utilizada uma dieta prática à base de milho e farelo de soja.

Na prática a concentração de Mn presente nos ingredientes da ração, não é levada em consideração e por esse motivo, muitas vezes a suplementação desse mineral é realizada em excesso, principalmente em regiões onde o solo é rico em Mn e também quando são utilizados ingredientes de origem animal, como a farinha de carne e ossos.

Na primeira fase a viabilidade foi afetada pelo nível dietético de Mn, no entanto, não é possível associar essa diferença a nenhuma explicação biológica e todos os tratamentos apresentaram mortalidade dentro do esperado, não ultrapassando 4% do total de frangos em cada grupo experimental.

O desempenho das aves não é considerado um bom indicador da exigência de Mn pelos frangos de corte, e segundo Berta et al. (2004), a concentração de Mn na tíbia seria o melhor indicador, pois é o parâmetro mais sensível as alterações da dieta.

A resistência óssea e a concentração de Mn na tíbia foram alterados de acordo com os níveis dietéticos de Mn, para as duas fases de criação. A concentração de Mn no fígado foi alterada de acordo com os tratamentos, apenas na primeira fase. Como o fígado e a tíbia

são os tecidos que mais acumulam Mn no organismo das aves, uma vez que o Mn é encontrado nas mitocôndrias e por isso está muito presente em órgãos ricos nesta estrutura, como é o caso do fígado (Bertechini, 2012; Zhu et al., 2016), era esperado que níveis mais altos de Mn na dieta resultassem em maior acúmulo nesses tecidos.

Esses resultados diferem dos encontrados por Bozkurt et al. (2015) que não observaram diferença nas análises ósseas entre os tratamentos com diferentes níveis de Mn na forma inorgânica, quelatada e na combinação de quelatada e inorgânica. Isso pode ter ocorrido devido ao baixo nível de inclusão de Mn na dieta desse trabalho, não ultrapassando 50 mg de Mn/kg na forma inorgânica e 25 mg de Mn/kg na forma quelatada, o que pode não ter possibilitado o acúmulo de Mn no tecido ósseo.

Por outro lado, Conly et al. (2012) observaram aumento na deposição de Mn no osso e no fígado à medida que aumentou a inclusão de Mn na dieta, sendo que para o fígado esse aumento só foi observado até o nível de inclusão de 60 mg de Mn/kg.

O Mn é um mineral pouco absorvido no intestino das aves, e minerais como Ca e P e compostos como o fitato presentes em dietas práticas podem reduzir a biodisponibilidade desse mineral (Brooks et al., 2012). Segundo Wedekind et al. (1991), o excesso de Ca tem menos efeito na absorção do Mn, quando comparado ao P. No presente estudo não foi observado alteração da concentração de Ca e P na tíbia de acordo com a suplementação de Mn, provavelmente esses minerais, apesar de serem antagônicos, não estavam presentes na dieta em níveis tão elevados que pudessem resultar em antagonismo detectável pelas análises realizadas.

Os resultados de atividade da fosfatase alcalina também não foram influenciados de acordo com os níveis dietéticos de Mn na ração. Essa enzima é frequentemente utilizada como marcador de osteoblastos, uma vez que ela está presente em áreas de formação óssea (Roach e Shearer, 1989). No entanto, como essa análise mensurou a fosfatase alcalina total, esses resultados podem ter sido influenciados por outros fatores, principalmente hepáticos e não relacionados à formação óssea, uma vez que cerca de 90% dessa enzima é de origem hepática e óssea (Vieira, 1999). Além disso, é possível que o Mn não tenha um efeito direto sobre o aumento da diferenciação de osteoblastos no tecido ósseo, de acordo com os níveis utilizados nesse estudo.

A estrutura da cartilagem óssea depende de uma concentração suficiente de Mn para a ativação da enzima glicosiltransferase, que é responsável pela formação dos proteoglicanos, que vão contribuir para a capacidade do osso em resistir à compressão (Conly et al., 2012). Por esse motivo, a inclusão de Mn na ração influencia na resistência óssea, que é a capacidade do osso em resistir à gravidade e ao peso do próprio frango (Shim et al., 2012).

Na prática, a inclusão ou não do Mn na dieta pode ser definida por benefícios no desempenho (fator de maior interesse econômico) ou na resistência óssea, visando a redução de problemas durante os manejos de pega e abate dos frangos de corte. Nesse experimento, não foram observados benefícios da inclusão do Mn, sobre o desempenho das aves. No entanto, para resistência óssea, a inclusão do Mn melhorou esse parâmetro nas duas fases estudadas, com nível ótimo dietético estimado de 81,32 mg de Mn/kg para o período de um a 20 dias e 73,93 mg de Mn/kg para o período de 20 a 40 dias.

Descontando a quantidade de Mn presente nas rações basais para as duas idades, a quantidade de Mn suplementar indicada para cada fase seria aproximadamente 69,0 mg de Mn/kg no período de um a 20 dias, e aproximadamente 61,0 mg de Mn/kg no período de 20 a 40 dias. Estes valores estão próximos aos valores de Mn suplementar recomendados por alguns autores, como 60 mg de Mn/kg segundo o NRC (National Research Council, 1994), 70 mg de Mn/kg segundo Leeson e Summers (2005) e 74,0 mg de Mn/kg para fase inicial e 53,0 mg de Mn/kg na fase de crescimento, segundo Rostagno et al. (2017).

## CONCLUSÃO

Uma dieta a base de milho e farelo de soja contém Mn suficiente para manter o adequado desempenho dos frangos de corte. Para melhorar a resistência óssea, a exigência de Mn pelos frangos de corte é de 81,32 mg de Mn/kg para o período de um a 20 dias e 73,93 mg de Mn/kg para o período de 20 a 40 dias.

## REFERÊNCIAS

- AOAC International. 2010. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 18th ed., 3rd rev. Gaithersburg, MD.
- Bao, Y.M., and M. Choct. 2009. Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace mineral: a review. *Anim. Prod. Sci.* 49:269-282.
- Berta, E., E. Andrásófszky, A. Bersényi, R. Glávits, A. Gáspárdy, and S.G. Fekete. 2004. Effect of inorganic and organic manganese supplementation on the performance and tissue manganese content of broiler chicks. *Acta Vet. Hung.* 52:199-209.
- Bertechini, A.G. 2012. *Nutrição de monogástricos*. 2. ed. Lavras: Editora UFLA.
- Bozkurt, Z., T. Bulbul, M.F. Bozkurt, A. Bulbul, G. Maralcan, and K. Çelikeloglu. 2015. Effects of organic and inorganic manganese supplementation on bone characteristics, immune response to vaccine and oxidative stress status in broiler reared under high stocking density. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 21:623-630.
- Brooks, M.A., J.L. Grimes, K.E. Lloyd, F. Valdez, and J.W. Spears. 2012. Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *J. Appl. Poult. Res.* 21:126-130.
- Conly, A.K., R. Poureslami, E.A. Koutsos, A.B. Batal, B. Jung, R. Beckstead, and D.G. Peterson. 2012. Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poult. Sci.* 91:1633-1640.
- Cupertino, E.S., P.C. Gomes, L.F.T. Albino, H.S. Rostagno, P.R. Cecon, and M. Schimidt. 2005. Exigências de manganês para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. *R. Bras. Zootec.* 34:2308-2315.
- Gajula, S.S., V.K. Chalasani, A.K. Panda, V.L. Mantena, and R.R. Savaram. 2011. Effect of supplemental inorganic Zn and Mn and their interactions on the performance of broiler chicken, mineral bioavailability and immune response. *Biol. Trace Elem. Res.* 139:177-187.

- Gomes, P.C., D.C.M. Rigueira, H.S. Rostagno, L.F.T. Albino, G. Brumano, and M. Schmidt. 2008. Exigências nutricionais de zinco para frangos de corte machos e fêmeas na fase inicial. *R. Bras. Zootec.* 37:79-83.
- Leeson, S.; Summers, J.D. 2005. *Commercial poultry nutrition*. 3.ed. Ontario: University Books.
- Li, S., Y. Lin, L. Lu, L. Xi, Z. Wang, S. Hao, L. Zhang, K. Li, and X. Luo. 2011. An estimation of the manganese requirement for broilers from 1 to 21 days of age. *Biol. Trace Elem. Res.* 143:939-948.
- Namazu, L.B., E. Kobashigawa, R. Albuquerque, E.A. Schammass, P. Takeara, and M.A. Trindade Neto. 2008. Lisina digestível e zinco quelato para frangos de corte machos: desempenho e retenção de nitrogênio na fase pré-inicial. *R. Bras. Zootec.* 37:1634-1640.
- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Rostagno, H.S., L.F.T. Albino, M.I. Hannas, J.L. Donzele, N.K. Sakomura, F.G. Perazzo, A. Saraiva, M.L. Teixeira, P.B. Rodrigues, R.F. Oliveira, S.L.T. Barreto, and C.O. Brito. 2017. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 4.ed. Viçosa: UFV.
- Shim, M.Y., A.B. Karnuah, D. Mitchell, N.B. Anthony, G.M. Pesti, and S.E. Aggrey. 2012. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. *Poult. Sci.* 91:1790–1795.
- Silva, D.J., and A.C. Queiroz. 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV.
- Suttle, N.F. 2010. *Mineral nutrition of livestock*. 4.ed. Wallingford: CABI Publishing.
- Wedekind, K.J., E.C. Titgemeyer, A.R. Twardock, and D.H. Baker. 1991. Phosphorus, but not calcium, affects manganese absorption and turnover in chicks. *J. Nutr.* 121:p.1776–1786.
- Zhu, Y.W., L. Lu, W.X. Li, L.Y. Zhang, C. Ji, X. Lin, X.G. Luo. 2016. Effect of dietary manganese on antioxidant status and expressions of heat shock proteins and factors in tissues of laying broiler breeders under normal and high environmental temperatures. *Br. J. Nutr.* 116:1851-1860.

## CAPÍTULO III

### **Biodisponibilidade relativa do manganês em relação às fontes proteínato e sulfato para frangos de corte na idade de um a 20 dias**

**RESUMO-** Objetivou-se avaliar a biodisponibilidade relativa (BR) do proteínato de manganês (Mn), em comparação com o sulfato de Mn para frangos de corte alimentados com uma dieta à base de milho e farelo de soja por 20 dias. Foram utilizados 1.350 frangos de corte machos da linhagem Cobb, as dietas foram suplementadas com 0, 35, 70, 105 e 140 mg de Mn/kg de ração na forma de sulfato de Mn e como proteínato de Mn. Foram avaliados o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, resistência óssea e concentração de Mn na tíbia e no fígado, além disso, foi avaliado a concentração de colágeno tipo I na tíbia. Não foram observadas diferenças para as variáveis de desempenho e nem para concentração de colágeno tipo I na tíbia dos frangos de corte, independente da fonte e do nível de suplementação utilizado. A BR foi determinada utilizando os valores de resistência óssea e concentração de Mn na tíbia e no fígado, assumindo o sulfato de Mn como fonte padrão (100%) pelo método de slope-ratio. A BR do proteínato de Mn com base na resistência óssea foi de 111%, com base na concentração de Mn no fígado foi de 128% e com base na concentração de Mn na tíbia foi de 105%. O proteínato de Mn foi mais biodisponível que o sulfato de Mn, com uma média de superioridade da BR de 15%.

**Palavras-chave:** biodisponibilidade, mineral, proteínato de manganês, frango de corte

## INTRODUÇÃO

O manganês (Mn) é um micromineral essencial que participa de funções importantes no organismo animal, sobretudo na matriz óssea orgânica (Cupertino et al., 2005).

Além disso, ele possui função essencial na reprodução, sistema imune, mecanismo de defesa contra radicais livres, hemostasia e coagulação sanguínea juntamente com a vitamina K (Aschner e Aschner, 2005) e em diversos processos bioquímicos como ativador de algumas metaloenzimas como a piruvato carboxilase, superóxido dismutase e a glicosiltransferase (Suttle, 2010).

As fontes de suplementação de microminerais utilizadas na ração de frangos de corte são normalmente oriundas de compostos inorgânicos, como os cloretos, óxidos, sulfatos, carbonatos e fosfatos (Araújo et al., 2008). Os sais inorgânicos normalmente possuem baixa biodisponibilidade, o que pode estar relacionado com a formação de complexos com outras substâncias no trato digestivo, reduzindo a solubilidade desses elementos e sua absorção e, aumentando assim, a excreção destes (Bao et al., 2007).

Minerais quelatados são formados por minerais ligados a algum tipo de veículo, como aminoácidos, proteínas ou polissacarídeos. O quelato formado normalmente é uma estrutura de anel com o mineral bivalente ou multivalente mantido forte ou fracamente através das ligações covalentes e que não apresenta carga elétrica (Leeson e Summers, 2005). Na forma complexada e não como íons inorgânicos livres, os minerais reduzem a

solubilização e as perdas por excreção antes dos processos de absorção, aumentando sua biodisponibilidade (Abdallah et al., 2009).

Normalmente os quelatos industriais utilizam aminoácidos livres para se complexarem com os minerais bivalentes. No entanto, existem outros tipos de quelato, como o proteinato, que é resultante da quelação de um sal solúvel com aminoácidos e/ou proteínas parcialmente hidrolisadas (Association of American Feed Control Officials, 1999) e que se acredita também ter efeito no aumento da biodisponibilidade.

Objetivou-se determinar a biodisponibilidade relativa (BR) do Mn na forma de proteinato (MnProt) em relação ao sulfato (MnSO<sub>4</sub>) e comparar a concentração de colágeno tipo I na tíbia de frangos de corte alimentados com as duas fontes de Mn (MnProt e MnSO<sub>4</sub>).

## MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais descritos nessa pesquisa foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o protocolo nº 197/2016.

### *Procedimentos gerais*

Foram utilizados 1.350 frangos de corte machos, da linhagem Cobb<sup>®</sup>, durante a fase de um a 20 dias de idade. Foram alojados 25 frangos por boxe experimental (12 aves/m<sup>2</sup>). Durante os primeiros 14 dias de idade, as aves receberam 24 horas de luz artificial (em função da Lâmpada de 250 W do aquecimento), passando a receber iluminação natural a partir dessa idade até o final do experimento. A ração e a água foram fornecidas a vontade e a água continha cerca de 0,003 mg de Mn /L.

A dieta basal a base de milho e farelo de soja (Tabela 1) foi formulada para atender as exigências dos frangos de corte, exceto para Mn.

**Tabela 1.** Composição da dieta basal

<b>Ingredientes</b>	<b>Ração Basal (%)</b>	<b>Mn (mg/kg)</b>
Milho	57,671	5,3 (<10*)
Farelo de soja 46% PB	31,600	31,9 (25,0*)
Farinha de carne e ossos	6,000	1,5 (12,0*)
Óleo vegetal	3,200	
Calcário	0,350	
Sal	0,350	
DL-Metionina	0,330	
L-Lisina	0,190	
L-Treonina	0,070	
Suplemento mineral <sup>1</sup>	0,050	
Suplemento vitamínico <sup>2</sup>	0,050	
Cloreto de colina	0,025	
Anticoccidiano <sup>3</sup>	0,050	
Promotor de crescimento <sup>4</sup>	0,004	
Inerte	0,060	
<b>Composição calculada</b>		
Energia Met. Aves Kcal/kg	3.050	
Proteína Bruta %	21,8	
Cálcio %	1,02	
Fósforo disponível %	0,45	
Manganês mg/kg	13,25	
Lisina dig. %	1,16	
Metionina dig. %	0,62	
Met+Cis dig. %	0,90	

<sup>1</sup> Conteúdo/Kg: Co – 100 mg; Se – 200 mg; Zn – 50 g; Cu – 6.000 mg; Fe – 50 mg; I – 1.000 mg.

<sup>2</sup> Conteúdo/Kg: Vit. A – 10.000.000 UI; Vit. B1 – 1.500 mg; Vit. B12 – 15.000 µg; Vit. B2 – 5.000 mg; Vit. B6 – 2.000 mg; Vit. D3 – 2.000.000 UI; Vit. E – 13.000 UI; Vit. K3 – 2.500 mg; Biotina – 100 mg; Niacina - 33 g; Ácido fólico – 800 mg; Ácido pantotênico – 10 g.

<sup>3</sup> Coxistac®- Salinomicina

<sup>4</sup> Surmax®- Avilamicina

\* Manganês analisado

Foram utilizados nove tratamentos, com seis repetições e os tratamentos foram definidos pela dieta basal suplementadas com 0 (grupo controle), 35, 70, 105 ou 140 mg de Mn/kg na forma de MnSO<sub>4</sub> 26,5% e as mesmas inclusões na forma de MnProt 18,3%. As concentrações analisadas de Mn nas dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Concentração de Mn analisado nas rações experimentais

Fonte de Mn	Mn adicionado mg/kg	Mn analisado mg/kg
Controle	0	12,2
MnSO <sub>4</sub> <sup>1</sup>	35,0	48,3
	70,0	82,0
	105,0	117,0
	140,0	150,0
MnProt <sup>2</sup>	35,0	46,5
	70,0	80,0
	105,0	115,0
	140,0	154,0

<sup>1</sup>Sulfato de Mn 26,5%

<sup>2</sup>Proteinato de Mn 18,3%, originado do farelo de soja parcialmente hidrolisado (Yes<sup>®</sup>)

### **Variáveis analisadas**

O ganho de peso (GP) e consumo de ração (CR) por repetição, foram medidos em intervalos de 7 dias para a determinação do GP, CR e conversão alimentar (CA) durante o período total de 20 dias.

Aos 20 dias de idade, seis aves de cada tratamento (uma por repetição) foram aleatoriamente selecionadas e eutanasiadas por deslocamento cervical, para obtenção da tíbia esquerda e direita, fêmur esquerdo e fígado com vesícula biliar.

As tíbias esquerdas foram desengorduradas por imersão em éter de petróleo e posteriormente queimadas por calcinação em mufla a 600°C, durante seis horas (Silva e Queiroz, 2002). As cinzas dos ossos foram utilizadas para fazer a solução padrão e determinar a porcentagem de Mn pelo espectrofotômetro de absorção atômica (Silva e Queiroz, 2002). As amostras de fígado com vesícula foram liofilizadas e a concentração de Mn também foi mensurada pelo espectrofotômetro de absorção atômica: Perkin Elmer - Analyst 100 (Silva e Queiroz, 2002).

As tíbias direitas dos frangos de corte dos tratamentos controle e com maior inclusão de Mn para as duas fontes (140 mg de Mn/Kg), foram analisadas para concentração de colágeno tipo I nos ossos. Foi realizado desmineralização da epífise das tíbias com EDTA 10% durante 12 dias. Os fragmentos desmineralizados foram processados para histologia, após fixação em formalina neutra tamponada e inclusão em parafina. Cortes seriados em três profundidades diferentes de 5 µm, foram corados com a técnica *PicroSirius Red* e posteriormente fotografados e analisados em campo claro e em luz polarizada (Junqueira et al., 1978). A quantificação da matriz óssea madura (colágeno tipo I) foi realizada por meio do software *ImageJ*, considerando apenas a birrefringência das fibras vermelhas, e assim foi feita uma média das três profundidades para cada repetição.

As amostras de fêmur esquerdo foram submetidas a ensaio mecânico, utilizando máquina universal de ensaio EMIC<sup>®</sup>, modelo DL 3000, com carga aplicada à velocidade de 5 mm/min. e célula de carga de 2000 N em ensaio de flexão de três pontos, sendo a região central do osso (diáfise) selecionada para aplicação da carga.

O experimento foi conduzido utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado. Para estimativa da biodisponibilidade foram utilizados nove tratamentos e seis repetições, sendo um controle sem suplementação de Mn, quatro com suplementação de  $\text{MnSO}_4$  e quatro com suplementação de MnProt (Tabela 2). Para determinação da porcentagem de birrefringência vermelha na tíbia, foram utilizados três tratamentos e seis repetições, sendo um tratamento controle sem suplementação de Mn, e outros dois com a suplementação máxima de Mn (140,0 mg de Mn/kg) para cada fonte avaliada (ProtMn e  $\text{MnSO}_4$ ).

A normalidade e homogeneidade das variâncias foram determinadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Realizou-se contraste entre o tratamento controle e as médias dos tratamentos suplementados com Mn. Os resultados da porcentagem de birrefringência vermelha na tíbia foram analisados por ANOVA, com os tratamentos dietéticos sendo o fator principal e, quando necessário realizou-se o teste de Tukey. A BR de Mn foi determinada utilizando-se o  $\text{MnSO}_4$  como fonte padrão por meio de regressão linear múltipla e metodologia de Slope-ratio (Littell et al., 1995). As respostas foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$  e os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team, 2017).

## RESULTADOS

O GP, CR e CA não foram afetados pela fonte ou pelo nível de Mn suplementar (Tabela 3).

**Tabela 3.** Efeitos do nível de Mn e fonte dietética no ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) de um a 20 dias de idade dos frangos de corte e resistência óssea (Resist.), concentrações de Mn na tíbia (MnTíbia) e concentração de Mn no fígado (MnFígado) em frangos de corte com 20 dias de idade

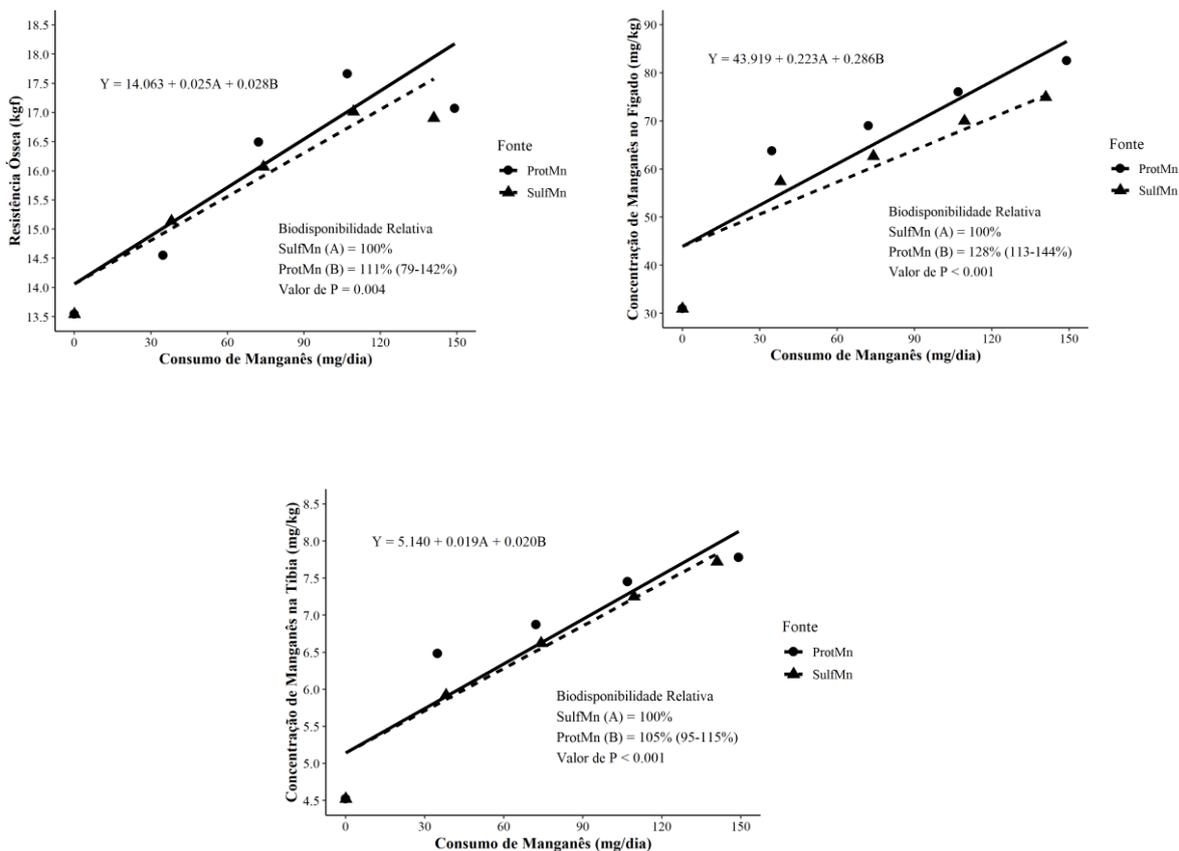
Fonte	Nível	GP	CR	CA	Resist.	MnTíbia	MnFígado
Controle	0	874	1059	1,21	13,54	4,52	30,93
	35	833	1026	1,23	14,55	6,48	63,75
	70	862	1064	1,22	16,49	6,87	68,95
	105	837	1043	1,24	17,66	7,45	76,03
	140	854	1052	1,23	17,07	7,78	82,53
ProtMn	35	878	1055	1,21	15,14	5,92	57,40
	70	872	1061	1,22	16,07	6,62	62,65
	105	861	1046	1,22	17,01	7,25	70,00
	140	854	1025	1,21	16,90	7,72	74,95
$\text{MnSO}_4$	35	878	1055	1,21	15,14	5,92	57,40
	70	872	1061	1,22	16,07	6,62	62,65
	105	861	1046	1,22	17,01	7,25	70,00
	140	854	1025	1,21	16,90	7,72	74,95
SEM <sup>1</sup>		3,63	4,19	0,002	0,36	0,16	2,75
Controle x Suplementação de Mn <sup>2</sup>		0,109	0,371	0,088	0,008	<0,001	<0,001

<sup>1</sup>SEM – erro padrão da média.

<sup>2</sup>Controle vs a média dos tratamentos com a suplementação de Mn. Significâncias foram baseadas em  $P \leq 0,05$ .

A resistência óssea, concentração de Mn na tíbia e concentração de Mn no fígado, aumentaram com a suplementação de Mn (Tabela 3), independente da fonte e do nível utilizado.

Essas variáveis se mostraram mais sensíveis a alteração do Mn na dieta e foram utilizadas para realização do slope-ratio, comparando a BR das duas fontes de suplementação (Figura 1), sendo o  $\text{MnSO}_4$  considerado a fonte padrão (100%).



**Figura 1.** Biodisponibilidade relativa (BR), pelo método slope-ratio, de acordo com a fonte de suplementação, sulfato de Mn ( $\text{MnSO}_4$ ) como fonte padrão (100%) e proteinato de Mn (MnProt), para as variáveis, resistência óssea, concentração de Mn no fígado e na tíbia. Os valores entre parêntesis indicam o intervalo de confiança de 95%

A inclinação da reta foi maior para o ProtMn em relação ao  $\text{MnSO}_4$  para as três variáveis testadas ( $P < 0,05$ ), demonstrando maior biodisponibilidade do ProtMn. A BR do Mn com base na resistência óssea foi de 111%, com base na concentração de Mn no fígado foi de 128% e com base na concentração de Mn na tíbia foi de 105% para o ProtMn comparado ao  $\text{MnSO}_4$  ( $P < 0,05$ ). A média de superioridade da BR do Mn como ProtMn em relação ao  $\text{MnSO}_4$  foi de 15%.

Não foi observado diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos controle e com inclusão de Mn na forma de  $\text{MnSO}_4$  e MnProt (140,0 mg de Mn/kg), em relação a

porcentagem de fibras vermelhas (colágeno tipo I) na epífise das tíbias, essas fibras são consideradas mais maduras, espessas e organizadas (Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise quantitativa do colágeno com birrefringência vermelha, na região da epífise da tíbia dos grupos controle (sem suplementação de Mn) e com inclusão máxima de Mn para as fontes MnSO<sub>4</sub> e ProtMn (140,0 mg de Mn/kg)

<b>Tratamentos</b>	<b>Área (% birrefringência vermelha)</b>
Controle	4,01
140 mg de Mn/kg MnSO <sub>4</sub>	3,68
140 mg de Mn/kg MnProt	3,65
<b>SEM</b>	0,245
<b>Valor de P</b>	0,836

SEM- Erro padrão da média.

## DISCUSSÃO

A suplementação de Mn não alterou os resultados de desempenho, assim como foi relatado por Brooks et al. (2012) que também não observaram diferença no desempenho dos frangos de corte com a suplementação de Mn, independente da fonte e do nível, para o período de sete a 21 dias de idade. Da mesma forma Ghosh et al. (2016), não observaram diferença no desempenho dos frangos de corte, com diferentes níveis de suplementação de Mn na dieta. Assim como no presente estudo, os autores consideraram que a concentração de Mn na dieta basal (12,2 mg de Mn/kg de ração) foi suficiente para manter o adequado desenvolvimento das aves, sem apresentar sinais de deficiência.

Apesar do crescimento do animal depender principalmente do desenvolvimento muscular, para que esse crescimento ocorra é necessário um suporte ósseo (Araújo et al., 2012), por isso, os parâmetros ósseos também devem ser levados em consideração e apresentam uma grande importância. A resistência óssea e concentração de Mn na tíbia, além da concentração de Mn no fígado foram alterados, tendo seus valores aumentados com a suplementação de Mn ( $P < 0,05$ ) na ração.

Segundo Sauveur (1984), a necessidade de Mn para o desenvolvimento normal do esqueleto está relacionada ao seu papel na biossíntese de proteoglicanos presentes na matriz orgânica óssea. Além disso, dentro da célula o Mn é sequestrado pelas mitocôndrias, estando assim, muito presente em tecidos ricos em mitocôndrias, como o fígado (Kato, 1963). Por esse motivo, parâmetros ósseos e de concentração de Mn no fígado são mais sensíveis a alterações nutricionais de Mn, e podem ser utilizados para análise de biodisponibilidade (Berta et al., 2004; Sakomura et al., 2014). Segundo Henry et al. (1989) e Miles et al. (2003) o acúmulo de microminerais nos tecidos alvo durante a suplementação dietética tem se mostrado um critério adequado para estimar a biodisponibilidade relativa do Mn.

Comparando as fontes de suplementação de Mn na ração, observou-se que os resultados de resistência óssea, concentração de Mn na tíbia e no fígado apresentaram maior BR para o MnProt, em relação ao MnSO<sub>4</sub>. Esses resultados estão de acordo com vários autores que consideram as fontes quelatadas mais biodisponíveis que as fontes inorgânicas (Bao et al., 2007; El-Husseiny et al., 2012; Baloch et al., 2017).

Em relação a resistência óssea, o MnProt foi 11% mais biodisponível que o MnSO<sub>4</sub>. Esse parâmetro é muito importante levando em consideração a grande perda existente nos abatedouros e nas granjas devido à fragilidade óssea dos frangos de corte, que vem crescendo cada vez mais, em função de sua alta taxa de crescimento (Coto et al., 2008).

Smith et al. (1995), ao avaliarem a BR do Mn em relação a concentração de Mn na tíbia, observaram BR de 125% para o ProtMn em relação ao MnSO<sub>4</sub> (100%). Da mesma forma, Brooks et al. (2012) também observaram maior BR do Mn quando utilizada a fonte quelatada (139%) em relação ao MnSO<sub>4</sub> (100%), para concentração de Mn na tíbia.

A biodisponibilidade pode ser entendida como a quantidade do mineral que é ingerido, absorvido, transferido para o seu sítio de ação e transformado na sua forma fisiologicamente ativa, suprimindo sua demanda nos tecidos alvos (Cozzolino, 1997), dessa forma, o ProtMn foi a fonte melhor aproveitada pelos frangos de corte.

Os osteoblastos sintetizam a matriz óssea, que consiste basicamente de colágeno tipo I, proteínas não-colágenas e hidroxiapatita. Com a utilização de luz polarizada, a matriz óssea apresenta uma birrefringência característica, que permite quantificar o colágeno tipo I (Junqueira et al., 1978; Roach, 1992). Foi possível observar que a inclusão ou não de Mn independente da fonte utilizada, não alterou a quantidade de colágeno tipo I, ou seja, a quantidade de osso maduro presente na tíbia dos frangos de corte.

## CONCLUSÃO

O proteinato de Mn é mais biodisponível que o sulfato de Mn, tendo uma biodisponibilidade relativa média 15% superior.

## REFERÊNCIAS

- Abdallah, A.G., O.M. El-Husseiny, and K.O. Abdel-Latif. 2009. Influence of some dietary organic mineral supplementations on broiler performance. *Int. J. Poult. Sci.* 8:291-298.
- Araújo, J.A., J.H.V. Silva, A.L.L. Amâncio, C.B. Lima, and E.R.A. Oliveira. 2008. Fontes de minerais para poedeiras. *Acta Vet. Bras.* 2:p.53-60.
- Araújo, G.M., F.M. Vieites, and C.S. Souza. 2012. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. *Arch. Zootec.* 61: 79-89.
- Aschner, J.L., and M. Aschner. 2005. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Mol. Aspects Med.* 26:353-362.

- Association of American Feed Control Officials. 1999. Official Publication, p.143.  
Association of American Feed Control Officials.
- Baloch, Z., N. Yasmeen, T.N. Pasha, A. Ahmad, M.K. Taj, A.N. Khosa, I.B. Marghazani, N. Bangulzai, I. Ahmad, and Y.S. Hua. 2017. Effect of replacing inorganic with organic trace minerals on growth performance, carcass characteristics and chemical composition of broiler thigh meat. *Afr. J. Agric. Res.* 12:1570-1575.
- Bao, Y. M., M. Choct, P.A. Iji, and K. Bruerton. 2007. Effect of organically complexed copper, iron, manganese, and zinc on broiler performance, mineral excretion, and accumulation in tissues. *J. Appl. Poult. Res.* 16:448–455.
- Berta, E., E. Andrásófszky, A. Bersényi, R. Glávits, A. Gáspárdy, and S.G. Fekete. 2004. Effect of inorganic and organic manganese supplementation on the performance and tissue manganese content of broiler chicks. *Acta Vet. Hung.* 52:199-209.
- Brooks, M.A., J.L. Grimes, K.E. Lloyd, F. Valdez, and J.W. Spears. 2012. Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *J. Appl. Poult. Res.* 21:126-130.
- Coto, C., F. Yan, S. Ceratte, Z. Wang, P. Sacakli, J.T. Halley, C.J. Wiernusz, A. Martinez, and P.W. Waldroup. 2008. Effects of dietary levels of calcium and nonphytate phosphorus in broiler starter diets on live performance, bone development and growth plate conditions in male chicks fed a wheat based diet. *Int. J. Poult. Sci.* 7:101-109.
- Cozzolino, S.M.F. 1997. Biodisponibilidade de minerais. *Ver. Nutr.* 10:87-98.
- Cupertino, E.S., P.C. Gomes, L.F.T. Albino, H.S. Rostagno, P.R. Cecon, and M. Schimidt. 2005. Exigências de manganês para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. *R. Bras. Zootec.* 34:2308-2315.
- El-husseiny, O.M., S.M. Hashish, R.A. Ali, S.A. Arafa, L.D. Abd, and A. Elolimy. 2012. Effects of feeding organic zinc, manganese and copper on broiler growth, carcass characteristics, bone quality and mineral content in bone, liver and excreta. *Int. J. Poult. Sci.* 11:368-377.
- Ghosh, A., G.P. Mandal, A. Roy, and A.K. Patra. 2016. Effects of supplementation of manganese with or without phytase on growth performance, carcass traits, muscle and tibia composition, and immunity in broiler chickens. *Livest. Sci.* 191:80–85.
- Henry, P. R., C. B. Ammerman, and R. D. Miles. 1989. Relative bioavailability of manganese in a manganese-methionine complex for broiler chicks. *Poult. Sci.* 68:107–112.
- Junqueira, L.C.U., W. Cossermelli, and R. Brenta. 1978. Differential staining of collagens type I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch. Histol. Jap.* 41:267-274.
- Kato, M. 1963. Distribution and excretion of radiomanganese administered to the mouse. *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci.* 48:355-369.
- Leeson, S.; Summers, J.D. 2005. Commercial poultry nutrition. 3.ed. Ontario: University Books.
- Littell, R.C., A.J. Lewis, and P.R. Henry. 1995. Statistical evaluation of bioavailability assays. Pages 5-33 in *Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids,*

- Minerals, and Vitamins. C.B. Ammerman, D.H. Baker, and A.J. Lewis, ed. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- Miles, R.D., P.R. Henry, V.C. Sampath, M. Shivazad, and C.W. Comer. 2003. Relative bioavailability of novel amino acid chelates of manganese and copper for chicks. *J. Appl. Poult. Res.* 12:417–423.
- Roach, H.I. 1992. Trans-differentiation of hypertrophic chondrocytes into cells capable of producing a mineralized bone matrix. *Bone and Miner.* 19:1-20.
- Sakomura, N.K.; J.H.V.S. Silva, F.G.P. Costa, J.B.K. Fernandes, and L. Hauschild. 2014. *Nutrição de não ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal: Funep.
- Sauveur, B. 1984. Dietary factors as causes of leg abnormalities in poultry-A review. *World's Poult. Sci. J.* 40:195–206.
- Silva, D.J., and A.C. Queiroz. 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV.
- Smith, M.O., I.L. Sherman, L.C. Miller, K.R. Robbins, and J.T. Halley. 1995. Relative biological availability of manganese from manganese proteinate, manganese sulfate, and manganese monoxide in broilers reared at elevated temperatures. *Poultry Sci.* 74:702–707.
- Suttle, N.F. 2010. *Mineral nutrition of livestock*. 4.ed. Wallingford: CABI Publishing.

## CAPÍTULO IV

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O manganês é um micromineral com diversas funções no metabolismo animal e essencial para os frangos de corte. No entanto, a partir dos resultados dessa pesquisa, foi possível observar que sua suplementação não altera o desempenho dos frangos de corte até 40 dias de idade, quando utilizado uma ração prática a base de milho e farelo de soja. Como o ciclo de vida dos frangos de corte é curto, é possível que não tenha tempo suficiente, para as aves apresentarem sinais de deficiência.

Apesar da suplementação de manganês não alterar o desempenho, ela melhora a resistência óssea, o que pode ser interessante para evitar perdas durante o processo de abate, que é um grande problema na avicultura.

Para melhorar a resistência óssea é necessário suplementar 69,0 mg de Mn/kg de ração no período de um a 20 dias, e 61,0 mg de Mn/kg de ração no período de 20 a 40 dias.

Comparando as fontes de suplementação de manganês na dieta, a fonte quelatada (proteinato de manganês) se mostrou 15% mais biodisponível que a fonte inorgânica (sulfato de manganês), o que era esperado, uma vez que o objetivo das fontes quelatadas é reduzir a formação de complexos durante a passagem do mineral no trato digestivo, melhorando assim, sua absorção.