

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ZINCO NA NUTRIÇÃO E SAÚDE DE FRANGOS DE CORTE

Doutoranda: Juliana Cristina Ramos Rezende
Orientador: Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato
Co-orientador: Prof. Ass. Dr. José Roberto Sartori

Tese apresentada como parte das
exigências para obtenção do
título de doutor no Programa de
Pós-graduação em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Dezembro – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ZINCO NA NUTRIÇÃO E SAÚDE DE FRANGOS DE CORTE

JULIANA CRISTINA RAMOS REZENDE
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. ANTONIO CELSO PEZZATO
Co-orientador: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO SARTORI

Tese apresentada como parte das
exigências para obtenção título de
doutor no Programa de Pós-
graduação em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Dezembro – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rezende, Juliana Cristina Ramos.

Zinco na nutrição e saúde de frangos de corte / Juliana
Cristina Ramos Rezende. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Antonio Celso Pezzato
Coorientador: José Roberto Sartori
Capes: 50403001

1. Frango de corte - Nutrição. 2. Zinco - Efeito
fisiológico. 3. Nutrição animal. 4. Resposta imune.
5. Antioxidantes.

Palavras-chave: Antioxidante; Desafio; Mineral; Sistema
imune.

“O rio atinge seus objetivos, porque aprendeu a contornar obstáculos. ”
Lao-Tsé

“You’ve got to find what you love. And that is as true for your work as it is for your lovers. Your work is going to fill a large part of your life, and the only way to be truly satisfied is to do what you believe is great work. And the only way to do great work is to love what you do.”
Steve Jobs

*A **Deus** em primeiro lugar por me dar o dom da vida.
Aos meus pais **Antonio Luiz Morgado Rezende** e **Marcia Heloisa Ramos Rezende** e
meu irmão **Renato Cesar Ramos Rezende** pelo amor incondicional, carinho, apoio e
incentivo.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização desse curso.

Ao Prof. Ass. Dr. Antonio Celso Pezzato pela orientação, confiança, pelos ensinamentos, atenção e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Roberto Sartori, pela co-orientação, pelos ensinamentos e sugestões que enriqueceram esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi, pela amizade, apoio e incentivo nos momentos difíceis, e pela colaboração, sugestões e ensinamentos que foram fundamentais para a realização desse trabalho e deste curso.

Aos professores Dra. Margarida Maria Barros, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, Dr. Pedro Magalhães Padilha e Dr. Maria Marcia Pereira Sartori pelos ensinamentos, colaboração e incentivo essenciais para meu aprendizado.

Aos professores do Programa de Pós-graduação que se dedicaram em transmitir seus conhecimentos e experiências para o meu crescimento.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP-Botucatu, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Ellen Cassemiro pela prestação de serviços.

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/UNESP – Botucatu, pela prestação de serviços.

A minha família pelo carinho, amor, incentivo recebido durante todo curso e por estarem sempre presentes na minha vida.

Ao bolsista de iniciação científica e amigo, Alex Ito pelo grande profissionalismo demonstrado, dedicação e amizade.

Ao meu amigo Vitor Barbosa Fascina e minha amiga “irmã” Caroline Pelegrina Teixeira por estarem sempre comigo nos melhores e piores momentos, sempre com muito carinho incentivando, apoiando, ajudando nos experimentos e tranquilizando nos momentos de estresse e também nos momentos de descontração. A vocês meus amigos meu eterno obrigado.

A minha amiga “irmã” Leticia Araújo da Cunha pelo carinho, amor, incentivo, corridas na chuva, “gordices” e por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Muito obrigada Lele.

Aos meus amigos Nigiana, João, Valéria, Lau, Eder, Beto, Lu, Diones, Wanderson, Cido, André, Patricia, Silvio, Marcio, por todo carinho, amor, momentos de descontração, oração, conversas, conselhos e por estarem sempre presentes na minha vida.

As minhas amigas Tamara Heloisa Rocha Prandini, Cleisy Ferreira do Nascimento e Tamires Manganeli Polonio pela amizade, carinho e apoio mesmo que mesmo distantes.

A equipe do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ - UNESP/Botucatu Juliana Célia Denadai, Tatiane Souza, Mayara Rodrigues, Mayara Santana Ana Cristina Stradiotti, Nathália Martins Guerra Causso, Guilherme Aguiar Mateus Pasquali, Mônica Megumi Aoyagi, Amanda Lapa da Silva, Natani Cruz, Paola Gentile Serpa, Mariana Kiyomi Maruno, Daniella Aparecida Berto, Thaila Cristina Putarov, Livia Carrasco Dornelas pela colaboração, amizade, convivência, momentos de descontração. Vocês foram fundamentais tanto para meu crescimento.

Aos estagiários do Laboratório de Nutrição de Aves pela dedicação e auxílios durante os experimentos.

Ao funcionário do Laboratório de Nutrição de Aves Wanderley Thiago da Silva pela dedicação, amizade e auxílios prestados.

Aos colegas da BRnova Ricardo Oliveira, Flávio Rosa e Mariela Mituo pela compreensão nos momentos que estive ausente e apoio na fase final desse trabalho.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse projeto e desse curso.

“MUITO OBRIGADA A TODOS”

SUMÁRIO	Página
CAPÍTULO I	1
Resumo.....	2
Abstract.....	3
Considerações iniciais	4
1. Introdução	4
2. Zinco	5
3. Zinco e o crescimento.....	10
4. Zinco e o estresse oxidativo.....	12
5. Zinco e o sistema imune.....	14
6. Justificativa e objetivo	16
7. Referências bibliográficas	17
CAPÍTULO II	27
Níveis de zinco no desempenho, atividade antioxidante e resposta imune em frangos de corte de 1 a 35 dias de idade.....	28
Resumo	28
Abstract	29
1. Introdução	30
2. Material e métodos	31
3. Resultados	36
4. Discussão.....	45
5. Referências bibliográficas	49
CAPÍTULO III.....	53
Efeito de diferentes níveis de zinco na ração sobre a resposta imune e antioxidante de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com lipopolissacarídeo bacteriano.....	54
Resumo	54
Abstract	55

SUMÁRIO	Páginas
1. Introdução.....	56
2. Material e métodos	57
3. Resultados	63
4. Discussão.....	72
5. Referências bibliográficas	75
CAPÍTULO IV	78
Implicações.....	79

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	27
Tabela 1. Composições centesimais e nutricionais das dietas basais.....	35
Tabela 2. Composições nutricionais de zinco nas dietas experimentais.....	36
Tabela 3. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 7 dias de idade.....	38
Tabela 4. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 21 dias de idade.....	39
Tabela 5. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 35 dias de idade.....	41
Tabela 6. Concentração (µg/L) de zinco no sangue de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	42
Tabela 7. Valores de atividade de superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH) no soro de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	43
Tabela 8. Porcentagem (%) de cada célula do sistema imune e relação heterófilo:linfócito (H/L) em lâminas de esfregaço sanguíneo em frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	44
Tabela 9. Valores de títulos de anticorpos de frangos de corte vacinados contra o vírus da Doença de New Castle, expresso em médias geométricas (GMT) , alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	45

LISTA DE TABELAS	Página
CAPÍTULO III	53
Tabela 1. Composições centesimais e nutricionais das dietas basais.....	59
Tabela 2. Composições centesimais de óxido de zinco e nutricionais de zinco nas dietas experimentais.....	60
Tabela 3. Médias de valores de peso relativos de órgãos do sistema imune e do fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de <i>E. coli.</i>).....	65
Tabela 4. Médias de valores de zinco na tíbia inteira (Zn Tíbia), fêmur sem a medula óssea (Zn Fêmur), medula óssea do fêmur (Zn Fêmur) e fígado (Zn Fígado) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de <i>E. coli.</i>).....	66
Tabela 5. Médias de valores de superóxido dismutase (SOD) e glutational peroxidase (GSH) no soro e no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de <i>E. coli.</i>).....	68
Tabela 6. Médias de valores de intermediários reativos de nitrogênio (NO), e oxigênio (H ₂ O ₂) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de <i>E. coli.</i>).....	70

LISTA DE FIGURAS	Página
CAPÍTULO II	27
Figura 1. Ganho de peso médio de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.....	39
Figura 2. Consumo de ração médio de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.....	40
Figura 3. Índice de eficiência alimentar de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.....	40
Figura 4. Consumo de ração médio de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.....	41
CAPÍTULO III	53
Figura 1. Valores de intermediários de zinco no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	67
Figura 2. Valores de intermediários de glutathione peroxidase (GSH) no soro de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	69
Figura 3. Valores de intermediários reativos de oxigênio (H_2O_2) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	71
Figura 4. Valores de intermediários reativos de nitrogênio (NO) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.....	71

CAPITULO I

ZINCO NA NUTRIÇÃO E SAÚDE DE FRANGOS DE CORTE

Resumo: Foi realizado um experimento para avaliar o efeito dos níveis de zinco na dieta de frangos de corte, sobre o desempenho, a imunidade e saúde. O ensaio foi realizado em aviário experimental, o delineamento foi inteiramente casualizado com cinco níveis de zinco, totalizando 5 tratamentos com sete repetições, os tratamentos consistiram em 50, 75, 100, 125 e 150% da exigência de zinco segundo Rostagno et al. (2011), sendo o tratamento 100% (controle): 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente. As aves foram divididas em boxes, sendo cada box uma unidade experimental com 33 aves cada. E aos 35 dias de idade foi realizado um desafio com LPS de *E. coli*. Foram avaliados os parâmetros de desempenho: conversão alimentar, consumo de ração, peso corporal, ganho de peso e viabilidade; bioquímicos: zinco no sangue, superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo; e imunológico: título de anticorpos para doença de Newcastle de 1 a 35 dias de idade. Após os 35 dias de idade foram avaliados peso relativo de órgãos, o teor de zinco na tíbia inteira, fêmur sem a medula óssea, medula óssea do fêmur e no fígado, atividade da superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo e no fígado e a produção de reativos de oxigênio e nitrogênio por macrófagos peritoniais; em todos os níveis de zinco em aves desafiadas por LPS ou não. Os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) através do procedimento *General Lineal Model* (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS 9.3. O nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão no modelo da Nova Compartmental ($y = \frac{ae^{-bx}}{(1 + e^{-c(x-d)})}$) utilizando-se o programa Excel (xlsx) com exceção dos dados de Peroxido de Hidrogênio e Oxido Nítrico em que o nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão, *Broken Line*, utilizando-se o procedimento *Proc Reg* do SAS 9.3, com o auxílio do programa *Origin*. A suplementação de zinco na forma de óxido de zinco em dietas de frangos de corte pode influenciar o ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração de 1 a 21 dias de idade, em aves criadas em galpão, com ponto ótimo 128% da exigência estimada por Rostagno et al. (2011). A mesma suplementação e nas mesmas condições, não influencia o desempenho de 1 a 35 dias de idade e não apresenta melhorias evidentes no status antioxidante e imunológico das aves. A partir dos 35 dias de idade em aves desafiadas verificou-se que a suplementação de zinco acima dos níveis recomendados para dietas de frangos de corte até 35 dias de idade influencia negativamente a produção de peróxido de hidrogênio e de oxido nítrico por macrófagos peritoneais, em aves desafiados ou não com o lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. Os melhores resultados para resposta imunológica primária foram obtidos com a suplementação de 100% da exigência estimada por Rostagno et al. (2011). Pode-se dizer que a suplementação de 139% de zinco da exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) aumenta a atividade da glutathione peroxidase no soro, bem como aumenta o teor de zinco no fígado das aves.

Palavras-chave: antioxidante, desafio, mineral, sistema imune.

ZINC IN THE NUTRITION AND HEALTH OF BROILERS

Abstract: An experiment was carried out to evaluate the effect of zinc levels on the broiler diet on performance, immunity and health. The experiment was carried out in experimental fowl, the design was completely randomized with five levels of zinc, totaling 5 treatments with seven replicates, treatments consisted of 50, 75, 100, 125 and 150% of the zinc requirement according to Rostagno et al. (2011), the treatment being 100% (control): 81.3; 71.5; 65 ppm of zinc in the pre-intial, initial and growth phases, respectively. The birds were divided into boxes, each box being an experimental unit with 33 birds each. And at 35 days of age a challenge was performed with E. coli LPS. Performance parameters were evaluated: feed conversion, feed intake, body weight, weight gain and viability; Biochemicals: zinc in the blood, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in blood serum; And immunological: titer of antibodies to Newcastle disease from 1 to 35 days of age. After 35 days of age, relative body weight, zinc content in the entire tibia, femur without the bone marrow, bone marrow of the femur and liver, superoxide dismutase activity and glutathione peroxidase in blood serum and liver were evaluated. Production of oxygen and nitrogen reactives by peritoneal macrophages; At all levels of zinc in LPS challenged birds or not. Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using the General Linear Model (GLM) procedure, using the statistical program SAS 9.3. The optimal level of dietary zinc was determined by the Regression analysis in the New Compartmental ($y = \frac{ae^{-bx}}{(1 + e^{-c(x-d)})}$) using the program Excel (xlsx) with the exception of Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide data in which the optimum level of dietary zinc was determined by the regression analysis, Broken Line, using the Proc Reg procedure of SAS 9.3, with the aid of the Origin program . Zinc supplementation in the form of zinc oxide in broiler diets can influence weight gain, feed conversion and feed intake from 1 to 21 days of age in poultry reared in shed, with a best point of 128% of the requirement Estimated by Rostagno et al. (2011). The same supplementation and under the same conditions does not influence the performance from 1 to 35 days of age and does not show evident improvements in the antioxidant and immunological status of the birds. From 35 days of age on challenged birds it was found that zinc supplementation above recommended levels for broiler diets up to 35 days of age negatively influences the production of hydrogen peroxide and nitric oxide by peritoneal macrophages in Birds challenged or not with Escherichia coli lipopolysaccharide. The best results for primary immune response were obtained with the 100% supplementation of the requirement estimated by Rostagno et al. (2011). It can be said that the 139% zinc supplementation of the requirement recommended by Rostagno et al. (2011) increases the activity of glutathione peroxidase in serum as well as increases the zinc content in the liver of birds.

Keywords: antioxidant, challenge, imune system, mineral.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

A avicultura brasileira tem apresentado crescimento significativo na produção de frangos de corte e se expande a cada ano de forma consistente, configurando uma cadeia produtiva e bem-sucedida. Atualmente, o Brasil se encontra como terceiro maior produtor e maior exportador mundial desta carne (UBABEF, 2016) e tem se destacado devido ao baixo custo de produção e o aprimoramento constante da nutrição, melhoramento genético, manejo e controle sanitário, que possibilitam a obtenção de elevado índice zootécnico e competitividade de seus produtos (RIZZO et al., 2010). Desta forma, é essencial a continuidade do aperfeiçoamento das tecnologias em instalações, genética, manejo, nutrição e sanidade.

Para alcançar esses altos índices de produtividade; alto ganho de peso, alto rendimento de carcaça, baixa conversão alimentar, entre outros; nos últimos 60 anos, o uso de antibióticos e quimioterápicos, como melhoradores de desempenho (AMD) e com finalidade profilática, tem sido frequente, impedindo o desenvolvimento de doenças e permitindo aumento do ganho de peso e melhora da conversão alimentar dos animais criados sobre sistema intensivo (RIZZO et al., 2010). No entanto, a seleção de aves com maior velocidade de desenvolvimento e as alterações ambientais visando aumentar a produção resultou em alterações no desenvolvimento do trato gastrintestinal; assim aves jovens são, atualmente, mais susceptíveis a distúrbios entéricos que aves criadas nas décadas de 70 e 80. Os patógenos causadores das enfermidades têm cada vez mais preocupado a indústria, devido à perda de produtividade, aumento da mortalidade e contaminação de produtos destinados ao consumo humano. Diante disso o uso de antibióticos tem sido feito em larga escala, o que tem preocupado o sistema de saúde ao que se refere à resistência cruzada desses patógenos e também dos antibióticos, causando danos à saúde pública.

A resistência cruzada com humanos alertou os países da Comunidade Europeia, que exigiram a não utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho na alimentação animal (DORMAN et al., 2000), fazendo com que as empresas intensifiquem pesquisas com produtos alternativos visando a melhor saúde das aves.

Dentro desse contexto, deve-se salientar a importância da saúde das aves. O correto funcionamento do organismo animal permite a máxima expressão do potencial produtivo, ou seja, é de extrema importância que todo o organismo das aves esteja atuando de forma adequada, para eficientemente combater possíveis doenças, absorver e metabolizar os nutrientes, combater radicais livres, depositar massa muscular, em geral, manter a homeostase e, conseqüentemente, evitar a redução do desempenho produtivo (MORGULIS, 2002).

Assim, a busca por alternativas aos antibióticos promotores de crescimento, tem se voltado não apenas ao efeito antimicrobiano dos aditivos, mas também ao efeito imune estimulante, que pode ser obtido não apenas de aditivos, mas também com a suplementação dos próprios nutrientes, principalmente ao que se refere à suplementação de vitaminas, minerais e aminoácidos, que podem favorecer a proliferação das células do sistema imune, torna-las mais responsivas; beneficiando o desenvolvimento do sistema de defesa do organismo. Dentre estes, podemos citar a suplementação com o mineral zinco.

A suplementação de zinco tem demonstrado efeito benéfico, mas é importante salientar a necessidade de uma avaliação bioquímica e imunológica mais profunda para determinar o nível ideal deste mineral nas dietas animais, visto que, quando fornecido em excesso, poderá ocorrer interação negativa com outros minerais, prejudicando a saúde do animal. O envolvimento do zinco no adequado funcionamento do organismo é bem estabelecido, no entanto, em muitas ocasiões sua forma exata de ação ainda não é totalmente elucidada. Prosseguir com as pesquisas é indispensável, pois é provável que o zinco tenha uma participação ainda mais ampla na vida animal.

2. Zinco

A necessidade do zinco para os organismos vivos foi comprovada por Raulin em 1869. E em 1934 os pesquisadores Bertrand e Bhattacharjee demonstraram sua essencialidade nutricional em ratos. Em 1940, Keilin e Mann isolaram e purificaram a metaloenzima anidrase carbônica, que contém em sua composição 0,33% de zinco, ou seja, é um cofator desta enzima. Este micromineral está envolvido na atividade de mais de 300 enzimas que se encontram associadas aos processos biológicos dos animais,

apresentando funções catalíticas, estruturais e reguladoras, apesar das baixas concentrações na maioria dos órgãos (McDOWEELL, 1992).

O zinco é cofator de vários sistemas enzimáticos, é vital para o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Essencial para muitas metaloenzimas como anidrase carbônica, fosfatase alcalina e carboxipeptidase pancreática. É ativo no metabolismo de proteínas e ácidos nucleicos e desempenha papel importante na ação da insulina, glucagon, hormônios corticotróficos, folículo estimulante e luteinizante (PEZZATO et al., 2004; MAFRA e COZZOLINO, 2004).

As metaloenzimas dependentes de zinco encontram-se distribuídas em todos os tecidos do organismo exercendo funções importantes, das quais se destacam a síntese e degradação de carboidratos, lipídeos e proteínas (COZZOLINO, 2007). Nessas condições o zinco atua como ativador de enzimas, estabilizando as estruturas de DNA, RNA e ribossomos (McDOWEELL, 1992). É extremamente importante na transcrição e tradução de polinucleotídeos, atuando no crescimento, diferenciação e reparo celular e, na síntese hormonal (SALGUEIRO, 2000). O zinco está ligado às proteínas (globinas) que se ligam ao DNA no momento da transcrição dos hormônios esteroides, permite maior adesão das moléculas (STEVENS L., 2004). Em uma deficiência de zinco, atividades da fosfatase alcalina plasmática, carboxipeptidase pancreática A, timidina quinase, entre outras enzimas produzidas no fígado, foram diminuídas (McDOWEELL, 1992).

Visto isso, o zinco também faz parte de alguns mecanismos endócrinos, em especial da tireóide, e está ligado ao crescimento e desenvolvimento das aves. O receptor do hormônio T3 também é dependente de zinco para se transformar na forma ativa. Alguns autores defendem a hipótese de que o melhoramento genético das aves para maximizar o crescimento fez com que algumas linhagens comerciais possuem predisposição genética para anormalidades esqueléticas, suas taxas de crescimento aceleradas aumentam a quantidade de defeitos nos ossos (KESTIN et al, 1999, 2001; WHITEHEAD, 2003; MENCH, 2004).

Algumas doenças ósseas comuns, tais como discontroplasia tibial (DT) em frangos têm sido correlacionados com hipotireoidismo (SHEN et al., 2004). Deficiência nos hormônios da tireoide e corticosterona elevado pode desempenhar efeito deletério no desenvolvimento aviário, bem como causar outros distúrbios metabólicos típicos de

aves de crescimento rápido, como a síndrome de ascite (LUGER et al., 2002). Dessa forma a suplementação de zinco pode ser uma alternativa para diminuir esses efeitos e evitar doenças correlacionadas ao crescimento acelerado das aves modernas

Além disso, vários minerais e oligoelementos são essenciais para o metabolismo normal dos hormônios tireoidianos, ou seja, iodo, ferro, selênio, e zinco influenciam o crescimento, em especial o crescimento ósseo, das aves. Existindo deficiências destes elementos a função da tireoide pode ser prejudicada (ZIMMERMANN e KOHRLE, 2002). Da mesma forma, os níveis corporais de zinco, cobre, magnésio, cálcio, manganês, selênio, (AIHARA et al., 1984; SIMSEK et al., 1997), bem como a vitamina A (AKTUNA et al., 1993) podem estar relacionados a doenças da tireoide. Níveis baixos de zinco plasmático pode deprimir o bom funcionamento metabólico no eixo tireoide-timo. A síntese de zinco está sob o controle e ligado as metalotioneínas de zinco (Zn-MT), os hormônios tireoidianos, corticosterona e zinco nutricional podem afetar a produção de Zn-MT (MOCCHIGIANI et al., 2002) e hormônios da tireoide mediam as alterações na fluidez da membrana intestinal e renal, possuem a função de modulação no transporte de Zn^{2+} no intestino e nos rins nas membranas de borda em escova controlando sua absorção e reabsorção. (PRASSAD et al., 1999).

A absorção de zinco ocorre por todo o intestino delgado em monogástricos, sendo transportada para o interior da membrana celular dos enterócitos por meio de carreadores (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Também pode ser absorvido em uma extensão limitada do proventrículo em pintos; porém, sua maior absorção ocorre no duodeno (NAVEH et al., 1988). Essa absorção ocorre no lúmen intestinal pelas células da mucosa por transporte ativo (carregamento mediado) e interior da célula da mucosa intestinal. A transferência de zinco é aparentemente regulada pela proteína de ligação de metal produzido pelo fígado, metalotioneína.

A síntese da metalotioneína é influenciada tanto pelo o teor de zinco da dieta como pela concentração plasmática desse mineral, e pode regular a quantidade de zinco absorvida pelo organismo, desempenhando papel central na homeostase do mineral (McDOWELL, 1992). Portanto, a absorção de zinco proveniente da alimentação, constitui-se na principal forma de controle de seus níveis corporais (COZZOLINO, 2007). A metalotioneína atua como principal forma de reserva de zinco no fígado, e pode ser prontamente mobilizada durante as necessidades metabólicas. No plasma, o

zinco é transportado ligado à albumina (MAIORKA e MACARI, 2002). Alguns componentes da dieta podem reduzir a absorção de zinco, incluindo fitatos, gorduras saturadas, fibra, cálcio, fósforo, sódio, potássio, cobre, cádmio e cromo. A utilização de enzimas que desdobram o fitato em dietas à base de milho e farelo de soja pode reduzir significativamente a necessidade de suplementação de zinco (ROBERSON e EDWARDS, 1994).

O zinco também possui propriedades antioxidantes que são explicadas pelo seu papel na regulação da síntese das metalotioneínas, na estrutura da enzima superóxido dismutase e na proteção de grupamentos sulfidríla de proteínas de membranas celulares, promovendo a inibição da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) por antagonismo com metais pró-oxidantes, como ferro e cobre. Estudos têm demonstrado que a fragilidade osmótica de eritrócitos está relacionada à função do mineral na membrana celular (POWELL, 2000; KOURY & DONANGELO, 2003). A superóxido dismutase do fígado também é uma fração sugerida como estoque de zinco no organismo (McDOWEELL, 1992) ela atua no sistema de defesa antioxidante do organismo, sendo a primeira enzima envolvida na dismutação do ânion superóxido, podendo ser rapidamente estimulada pela exposição ao estresse oxidativo (ARIF et al., 2010).

Este mineral está distribuído em todos os tecidos e, em uma situação de deficiência, ocorre grande queda de zinco plasmático, que pode ser recuperada em 24h por meio da alimentação. Em situações de deficiência de zinco, as metalotioneínas são mobilizadas caso haja necessidade. Os tecidos muscular e ósseo também possuem reservas de zinco e possuem capacidade de liberar possíveis excedentes em condições de deficiência na dieta (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Outras funções atribuídas ao zinco são proteção de membranas, metabolismo de prostaglandinas e metabolismo de lipídeos (BRANDÃO NETO, 1995).

Diante de suas funções, estudos foram efetuados com restrições ou excesso de zinco alimentar e alterações na atividade de metaloenzimas zinco dependentes foram observadas em humanos e animais (COZZOLINO, 2007). O Zinco também é muito importante no sistema imunológico, sendo essencial para sua integridade. Sua deficiência provoca rápida atrofia do timo e influencia as funções das células T. Assim,

uma variedade de funções celulares, é influenciada pela concentração de zinco (McDOWEELL, 1992).

O efeito da deficiência de zinco sobre a imunocompetência está relacionado com a produção e atividade hormonal do timo; funções dos linfócitos, função de células *natural killer* (NK); anticorpos, citotoxicidade mediada por células e produção de linfocinas (McDOWEELL, 1992). Esse micromineral é elemento essencial nas ligações intracelulares dos receptores de linfócitos T, que são necessárias para o adequado desenvolvimento e ativação dos linfócitos T e fibroblastos; tornando-se um mineral primordial na resposta imunológica primária e na cicatrização (COZZOLINO, 2007). Além disso, a proliferação celular é dependente de zinco, ele é cofator da DNA polimerase e RNA transcriptase, faz parte do RNA, está no núcleo e faz parte dos cromossomos. Sendo assim a produção, maturação e diferenciação dos leucócitos também são dependentes de zinco (LIUZZI et al., 2001; VOGT, 2005). Na ausência de zinco há baixa proliferação dos sistemas celulares, como o sistema imune, a pele e o sistema reprodutivo, prejudicando o organismo de maneira geral.

O zinco também é requerido para a síntese hepática do retinol ligado a proteína, que é responsável pelo transporte de Vitamina A, portanto em situações de deficiência de zinco a produção da proteína ligada ao retinol é reduzida, por consequência pode causar uma carência secundária de vitamina A, caracterizada pelos baixos níveis séricos de retinol, mesmo na presença de níveis hepáticos adequados dessa vitamina (SILVA et al., 2007). A referida vitamina está envolvida em funções importantes, como o processo visual, manutenção da pele, resistência às infecções, crescimento, desenvolvimento ósseo, reprodução e secreção noturna do GH. Outras disfunções podem ocorrer com a deficiência de zinco no organismo, como o envelhecimento das células e a falta de regeneração de células funcionais. Além disso, o zinco é importante para a transdução, as enzimas desse processo são zinco dependente (RINK & GABRIEL, 2000).

Outra função bioquímica importante do zinco é na reprodução, no momento da deposição do albúmen na formação do ovo em aves, em que o zinco pode-se ligar a avidina, biotina, flavoproteína e riboflavina. Sendo a avidina uma proteína dependente de progesterona, sintetizada nas células caliciformes, presente no albúmen e com papel relacionado à capacidade de diminuir os níveis de biotina no ovo, dessa maneira inibe o

crescimento bacteriano, protegendo o embrião de possíveis doenças (WHITTOW G. C., 1988).

Alguns dados indicam que a inclusão de minerais orgânicos complexos em dietas de frangos de corte aumenta a resposta imune à vacinação contra a coccidiose, reduz escores de lesão, aumenta a integridade intestinal e melhora o desempenho (DIBNER et al., 2004). Acredita-se que a infecção por coccidiose aumenta exigências de zinco de frangos de corte e, o zinco orgânico pode exercer efeitos anticoccidianos pela manutenção do equilíbrio oxidativo (McDOWEELL, 1992).

Sendo assim, os minerais podem ser usados como aditivos alimentares na prevenção e tratamento de certas doenças em aves (PAPAIOANNOU et al, 2005; SHARIATMADARI, 2008), além de melhorar o desempenho de frangos de corte (SUCHY et al, 2006; KARAMANLIS et al., 2008). O uso de zinco melhora a atividade antibacteriana sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus in vitro* (HRENOVIC et al., 2012). Fallavena (2000) concluiu que a adição de complexo de zinco melhora a cicatrização, aumenta a resistência da pele e melhora o empenamento, além de promover benefícios indiretos no estado de saúde da ave.

3. Zinco e o Crescimento

O zinco é um micromineral que é necessário para o crescimento normal e manutenção do organismo, e entre outras funções, desenvolvimento ósseo, empenamento, processos enzimáticos e regulação do apetite em aves (BATAL et al., 2001). Estudos com frangos de corte alimentados com dietas praticas suplementadas com zinco aos 7 dias de idade observaram redução da mortalidade por ascite, problemas nas pernas e obtiveram crescimento compensatório (CAMACHO et al., 2004).

Leeson (2005) estudou frangos de corte criados em gaiolas e alimentados com rações formuladas com sulfatos de minerais para proporcionar 100, 90, 30 e 5 ppm de zinco, manganês, ferro e cobre, respectivamente. Considerou 70% de biodisponibilidade desses sulfatos (zinco, manganês, ferro e cobre biodisponível foram 70, 63, 21, e 3,5 ppm, respectivamente). Foram adicionados cinco tratamentos, que consistiam no uso de um proteinato como fonte mineral exclusiva da dieta, que forneceram 100, 80, 60, 40 e 20% do nível de biodisponibilidade dos sulfatos minerais. Não houve diferenças

estatísticas entre os tratamentos aos 42 dias para ganho de peso e conversão alimentar. Em um estudo com aves criadas no chão, com a mesma fonte de mineral inorgânico e o mesmo proteinato usado como fonte de minerais, para fornecer 14 ou 7% dos minerais biodisponíveis (LEESON, 2005), não detectaram diferenças entre tratamentos para ganho de peso e conversão alimentar de 0 a 20 dias, bem como aos 20 a 41 dias de idade. O autor indica que quando o proteinato foi usado como a fonte mineral única para fornecer 14% de mineral biodisponível, nas dietas de frangos, o custo era comparável aos premixes inorgânicos. No entanto, o autor encontrou que o zinco, ferro, cobre e de saída nas excretas foi significativamente reduzido nas dietas com proteinado (LEESON, 2005).

Salabi et al. (2011) observaram que níveis de zinco na dieta de frangos de corte influenciam no desempenho, ganho de peso e conversão alimentar dos frangos de corte; os resultados com suplementação de 90 mg/kg de zinco na dieta foram melhores quando comparados com aqueles suplementados com 45 mg/kg. Rações com baixos, adequados e altos níveis de zinco na dieta (34, 68, 181 mg/kg, respectivamente), não apresentaram efeito significativo no desempenho (BARTLETT e SMITH, 2003).

O ganho de peso médio diário nas fases inicial, crescimento e final não apresentaram diferença; entretanto, no período total de criação (1 a 42 dias de idade), a suplementação de zinco apresentou efeito significativo. O ganho de peso médio dos frangos de corte em todas as fases e no período total apresentou diferença entre os níveis 0, 40, e 400mg/kg. Quanto ao consumo médio de ração, foi encontrada diferença entre os níveis de zinco utilizados em todas as fases e no período total de criação. Nenhuma diferença foi encontrada na conversão alimentar dos frangos de corte (CARDOSO, 2004).

Diferentes níveis de zinco suplementados na dieta não tiveram influência no ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar de frangos com quatro semanas de idade. O teor de zinco disponível na dieta de milho e farelo de soja, equivalente a 29 ppm, proporcionou bom desempenho para as aves, porém, este nível é inferior ao valor de 40 ppm recomendado pela National Research Council (NRC) para frangos de corte (1994) (SUNDER et al., 2008).

4. Zinco e Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é definido, classicamente, como “desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes em favor do pró-oxidante” (SIES, 1985). No entanto, esse conceito vem se adaptando às recentes descobertas, as quais demonstram que as espécies reativas de oxigênio (EROs) podem atuar como segundos mensageiros de vias específicas na sinalização celular (FORMAN et al., 2004; ROSA et al., 2004; JONES, 2006). Dessa forma, surge nova definição que conceitua como “desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, causando desarranjo da sinalização e controle redox e/ou a dano molecular” (JONES, 2006).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas nas células por diversos estímulos fisiológicos e ambientais, tais como infecções, radiações UV e poluentes, os quais são coletivamente chamados de oxidantes. As EROs também são consideradas como fatores de risco e aceleradores de doenças autoimunes, visto que existe estreita relação entre o estresse oxidativo e essas doenças (SURH, 2005; AVALOS et al., 2007).

A excessiva formação endógena de radicais livres pode ser causada pela ativação aumentada de fagócitos, interrupção dos processos normais de transferência de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial, aumento da concentração de íons metálicos de transição por escape do grupamento heme de proteínas em locais de lesão ou doenças metabólicas e por níveis diminuídos das defesas antioxidantes (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; DROGE, 2002; OKTYABRSKY e SMIRNOVA, 2007).

Por outro lado, as EROs são reconhecidas como importantes sinalizadoras intracelulares e estão envolvidas na regulação redox no interior das células do sistema imune (OKTYABRSKY e SMIRNOVA, 2007; GRIFFITHS, 2005; BARRY HALLIWELL, 2007). Sabe-se que células fagocitárias, como macrófagos e neutrófilos, são ativados sob condições oxidativas. Essa ativação é mediada pelo sistema da NADPH oxidase que resulta em incremento no consumo de oxigênio e, consequente, produção de ânion superóxido, que é convertido em peróxido de hidrogênio espontaneamente e pode ser catalisado pela enzima superóxido dismutase. Essa enzima possui duas isoformas denominadas cobre-zinco-SOD e manganês-SOD, uma constitutiva e outra induzível, respectivamente (HITCHON e EL GABALAWY, 2004). Dessa forma o zinco participa da estrutura da superóxido dismutase constitutiva, potente

estabilizador das membranas celulares, de proteínas estruturais e da sinalização celular, protegendo as células de danos oxidativos.

Sendo assim, o zinco é essencial para a integridade e funcionalidade das membranas celulares. A sua concentração na membrana das células pode ser bastante elevada dependendo do tipo celular, por ser componente estrutural e catalítico da enzima superóxido dismutase (SOD) presente no citoplasma de todas as células. Esse mineral também compõe a enzima superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), presente no plasma, linfa e fluido sinovial (CORDOVA e MON-ALVAREZ, 2005). A ação dessa enzima reduz a toxicidade das espécies reativas de oxigênio, transformando uma espécie altamente reativa (radical íon superóxido) em uma forma menos danosa às células (peróxido de hidrogênio) (KOURY; DONANGELO, 2003, p.433- 441).

O zinco presente em altas concentrações nas células pode interferir em outros processos metalo-dependentes ou inibir proteínas. Assim, a tioneína (T) se acopla ao zinco e age como marcador bioquímico que controla a concentração do zinco. O aumento na concentração de zinco disponível induz à síntese de tioneína, por meio da ação do zinco sobre os fatores de transcrição zinco-dependentes, formando a metalotioneína (MT) (MAFRA; COZZOLINO, 2004, p.79-87). A metalotioneína é uma proteína cuja principal função é a proteção celular contra o estresse oxidativo desencadeado pela presença de metais pesados (tais como cádmio e mercúrio) e responsáveis pelo controle do conteúdo de zinco nos tecidos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005, p.27-51).

As metaloenzimas dependentes de zinco também são reconhecidas em seis tipos de enzimas, nas quais incluem oxido redutases (catalisando oxido reduções entre dois substratos), transferases (catalisando a transferência de um grupo exceto hidrogênio), hidrolases (catalisando a hidrolise de ésteres, éter, peptídeo, ácido anidro, C - C, C - haleto), liases (catalisando a remoção de grupos a partir de substratos por mecanismos que quebram duplas ligações), isomerases (catalisando a conversão de isômeros ópticos, geométricos ou de posição), e ligases (catalisando a quebra de uma interligação pirofosfato em ATP ou composto similar) (KEILIN e MANN, 1940).

5. Zinco e o Sistema imune

O sistema imunológico das aves é responsável pela formação e desencadeamento de mecanismos que visam proteger o organismo destes animais contra as ameaças representadas por qualquer tipo de agente potencialmente nocivo. Exige-se cada vez mais do sistema imunológico das aves, devido à aplicação de maior número de vacinações para diferentes tipos de doenças, e de condições ambientais que propiciam o estabelecimento de estresse, desde o manejo de incubação, transporte e adoção de altas densidades de criação, até o manejo das aves nas granjas.

As aves possuem uma série de particularidades em seu sistema imunológico, as quais as diferenciam dos mamíferos, sob o ponto de vista anatômico e funcional. Estas características próprias incluem estruturas especializadas, ligadas à formação e amadurecimento do sistema imunológico e suas células - como o timo e a bolsa cloacal e estruturas menos complexas, porém responsáveis por níveis mais primários de defesa, como a pele e penas. Butcher e Miles (2003) classificam estes órgãos e estruturas como componentes de resposta imunológica específica ou inespecífica, de acordo com seu modo de atuação. (WHITANAGE et al., 2004).

O timo e baço, órgãos do sistema imunológico das aves podem ser classificados em primários, são responsáveis pela formação e diferenciação das células deste sistema. Já os órgãos secundários são aqueles responsáveis pela migração ou agrupamento de células, formando sítios de amadurecimento, diferenciação e atuação: Glândula de Harder, baço, tonsilas cecais, Placas de Peyer. Órgãos imunes secundários começam a desenvolver sua capacidade imunológica na eclosão, e serão capazes de responder efetivamente a um desafio apenas 10 dias após (YUN et al., 2000).

O timo é um órgão plano e lobulado, localizado na região cervical, próximo do nervo vago e veia jugular. É considerado o local de desenvolvimento e amadurecimento dos linfócitos T. Quando maduros, movem-se do córtex para a medula, entrando na circulação pelos vasos medulares. Também pode apresentar no timo, uma população de linfócitos B que varia de 5 a 10%, dependendo da idade da ave (MAST e GODDEERIS, 1999).

Morgulis (2002) observou que os órgãos linfóides são divididos em primários (timo, medula óssea e bursa de Fabricius), e secundários ou periférico, constituído pelo

baço. O timo se dispõe na forma de dois cordões com sete lobos cada, dispostos paralelamente ao longo das jugulares, onde se desenvolvem e diferenciam os linfócitos T, responsáveis pelas reações de hipersensibilidade e citotoxicidade mediada por células. É na bursa de Fabricius que se desenvolvem e se diferenciam os linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos. Já o baço apresenta funções hematológicas, agindo como um filtro de remoção das hemácias senescentes ou defeituosas da circulação, e na regulação do fluxo sanguíneo para o fígado, armazenamento de células sanguíneas e “reciclagem” do ferro endógeno. Também atua na imunidade, onde sua função fagocitária representa 25% do total da fagocitose do organismo. A ausência do baço provoca incapacidade na remoção de bactérias e células revestidas por anticorpos da circulação (HENRY e LONGO, 1998).

A ingestão insuficiente de zinco pode carregar alguns problemas para o sistema imunológico, como baixo peso do timo e defeitos nas células T. Várias anormalidades destas células estão relacionadas com a carência de zinco, incluindo a redução do seu número e da sensibilidade aos estímulos mutagênicos, redução da produção de anticorpos relativos as células T auxiliares, da produção de hormônios tímicos e maturação das células T (SHILS et al., 2002).

Os níveis de zinco orgânico influenciam o peso da bursa de Fabricius, apresentando maior peso com a suplementação de 61,5 ppm. Esse crescimento da bursa em frangos de corte indica que essas aves provavelmente apresentaram maior tolerância aos desafios ambientais e maior imunidade. O peso do baço não sofreu influência dos níveis de zinco orgânico fornecidos na dieta (MEDEIROS, 2012).

Salabi (2011), estudando o peso relativo dos órgãos fígado, baço e bursa de Fabricius de frangos de corte abatidos aos 43 dias, observou aumento significativo da bursa e baço das aves suplementadas com zinco, sendo o peso da bursa das suplementadas com 135 mg/kg foi maior que aquelas suplementadas com 90 e 45 mg/kg de zinco.

As células do sistema imunológico, como as *natural killer* (NK), dependem de zinco para sua atividade e para reconhecer moléculas de histocompatibilidade da classe I (MHC). Na deficiência de zinco, ocorre alteração na atividade de células NK, na fagocitose feita por macrófagos e leucócitos, na geração de dano oxidativo, queda no número de granulócitos (IBS; RINK, 2000 apud FERNANDES; MAFRA, 2005). Em

situações de deficiência de zinco, o número absoluto de linfócitos B tende a cair, pois o zinco participa da maturação destas células, e também ocorre queda no número absoluto de linfócitos T CD8+ e CD73+, pois estas células sofrem maturação no timo, órgão que atrofia na deficiência de zinco. Também é cofator da timulina, enzima que atua na diferenciação de células T imaturas e função de células periféricas, modula ainda a liberação de citocinas por células mononucleares e induz a proliferação de linfócitos T CD8+ em conjunto com a interleucina-2 (FERNANDES; MAFRA, 2005). Já foi observado que as interleucinas 1, 2 e IFN são dependentes de zinco para serem produzidas. O zinco também afeta o timo e proliferação de células T, portanto afeta indiretamente o metabolismo das citocinas e replicação do DNA nos linfócitos (SHILS M. E., OLSON J. A., SHIKE M., 1994).

Devido a importância do zinco na replicação celular, transcrição do DNA, sua deficiência pode impedir sinais reguladores prejudicando o animal na resposta a infecções devido a possível falha na tradução de proteínas codificadas por genes ligados durante a resposta de fase aguda de infecção (SHILS M. E., OLSON J. A., SHIKE M., 1994). Ao analisar o efeito da suplementação de zinco no sistema imunológico de ratos que apresentavam zinco plasmático deficiente, Wong et al. (2009) concluíram que, nos ratos a suplementação de zinco pode reverter alguns defeitos tímicos relacionados com a idade, o que pode ser de grande benefício na melhoria da função imune e saúde geral.

1. Justificativas e objetivo

A produção de frangos de corte está em constante aprimoramento e atualmente buscam-se melhoria do sistema imune das aves através da nutrição. O uso de microminerais tem sido estudado, devido ao seu efeito positivo sobre o organismo das aves, melhorando o desempenho e principalmente a saúde.

O zinco é essencial em diversas funções do organismo, sendo cofator de muitas enzimas em diversos sistemas do organismo, também forma as metaloproteínas e atua diretamente no sistema imune, ativando células imunológicas.

Pesquisa com frangos de corte, poedeiras e codornas europeias estão sendo realizada, com o uso de aditivos, suplementação de aminoácidos e minerais, avaliando a

higidez, resposta imunológica e atividade antioxidante. Porém estudos sobre a melhor suplementação de zinco inorgânico com o objetivo de aumentar a resposta do sistema imune e antioxidante ainda não são totalmente elucidados.

Em função do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade, sobre o desempenho, parâmetros bioquímicos e imunológicos das aves.

O Capítulo II, denominado “**Níveis de zinco no desempenho, atividade antioxidante e resposta imune em frangos de corte de 1 a 35 dias de idade**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Journal of British Poultry Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade sobre o desempenho, status antioxidante, resposta imune a vacinação, porcentagem de leucócitos no sangue e concentração de zinco no sangue.

O Capítulo III, denominado “**Efeito de diferentes níveis dietéticos de zinco na resposta imune e antioxidante de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com lipopolissacarídeo bacteriano**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Poultry Science Journal*. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos dos níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com lipopolissacarídeo de *E. coli* sobre as variáveis imunológicas, status antioxidante e concentração de zinco no tecido ósseo e fígado.

2. Referências Bibliográficas

AIHARA K, NISHI Y, HATANO S, et al. Zinc, copper, manganese, and selenium metabolism in thyroid disease. **The American Journal Clinical Nutrition**. v.40, p. 26-35, 1984

ARIF, M.; ISLAM, M. R.; WAISE, T. M. Et al. DNA damage and plasma antioxidant indices in Bangladeshi type 2 diabetic patients. **Diabetes and Metabolism**, Paris, v. 36, n. 1, p. 51-57, 2010.

- AKTUNA D., BUCHINGER W., LANGSTEGGER W., Beta-carotene e vitamina A and carrier proteins in thyroid disease. **Acta Medica Austriaca** v.20, p.17-20, 1993.
- AVALOS, I.; CHUNG, C.P.; OESER, A.; MILNE, G.L.; MORROW, J.D.; GEBRETSADIK, T.; SHINTANI, A.; YU, C.; STEIN, C.M. Oxidative stress in systemic lupus erythematosus: relationship to disease activity and symptoms. **Lupus**, v.16, n.3, p.195-200, 2007.
- BALBINO, C A; PEREIRA, L M; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, p. 27-51, 2005.
- BATAL, A.B.; PARR, T.M.; BAKER, D.H. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. **Poultry Science**, v.80, p. 87-90, 2001.
- BARTLETT, J. R.; M. O. SMITH. Effects of different levels of zinc on the performance and immune competence of broilers under heat stress. **Poultry Science**. v. 82, p. 1580–1588, 2003.
- BARRY HALLIWELL J.G. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4.ed. New York, Oxford University Press, 2007.
- BRANDÃO-NETO, J.; STEFAN, V.; MENDONÇA, B.B.; BLOISE, W.; CASTRO, A.V.B. The essential role of zinc in growth. **Nutrition Research**, v.15, n. 3, p.335, 1995.
- BONSER, R. H. C., DEATON, K. E., BISHOP, C. M. AND BUTLER, P. J. The effect of impaired thyroid function during development on the mechanical properties of avian bone. **Journal of Experimental Zoology Part a-Comparative Experimental Biology**, 301A (8). pp. 636-641. ISSN 0022-104X doi: 10.1002/jez.a.112, 2004.
- BURRELL, A. L., W. A. DOZIER, A. J. DAVIS, M. M. COMPTON, M. E. FREEMAN, P. F. VENDRELL, AND T. L. WARD. Responses of broilers to

dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. **British Poultry Science** v.45, p.255–263, 2004.

BUTCHER, G.D., MILES, R.D. Avian immune system. Veterinary Medicine – Large Animals Clinical Sciences Departament, Florida Cooperative Extension Service, **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida. 2003.

CAMACHO, M.A.; SUAREZ, M.E.; HERRERA, J.G.; CUCA, J.M.; GARCIA-BOJALIL, C.M. Effect of age of feed restriction and microelement supplementation to control ascites on production and carcass characteristics of broilers. **Poultry Science**, v.83, n.4, p.526-532, 2004.

CARDOSO, A.L.S.P. **Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte.** dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

CORDOVA A, MON-ALVAREZ M. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue. **Neurosci Biobehav Rev**, v.19, p.439-445, 1995.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** São Paulo: Manole, p.1020, 2007.

DIBNER, J. J., M. TREHY, C. S. SCHASTEEN, AND J. A. HUME. Use of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid (HMTBA) as a ligand for organic trace minerals. **Poultry Science** v.83(Suppl. 1):832, 2004.

DORMAN, H.J.D. et al. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of Plant volatile oil. **Journal of Applied Microbiology**, v.83, p.308-316, 2000.

DROGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v.82, n. 1, p. 47-95, 2002.

FALLAVENA, L.C.B. Enfermidade da pele e das penas. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M.M. (Eds.). **Doença das aves.** Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.37-45, 2000.

- FERNANDES, A. G.; MAFRA, D. Zinco e câncer: uma revisão. **Revista Saúde. Com.**, v.1, n.2, p. 144-156, 2005.
- FREAKER H.C., GOVONI K.E., GUDA K., HUANG C., AND ZINN S., Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. **Journal of Nutrition** v.131(4), p.1135-41, 2001.
- FORMAN, H.J.; FUKUTO, J.M.; TORRES M. Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, v.287, n.2, p. 246-256, 2004.
- GONZALES, E. et al. Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 2. Relationship between the thyroid and somatotrophic axes with growth rate and mortality. **Poultry Science**, v.78, n.2, p.516-521, 1999.
- GRIFFITHS H.R. ROS as signalling molecules in T cells – evidence for abnormal redox signalling in the autoimmune disease, rheumatoid arthritis. **Redox Report**, v.10, n.6, p. 273-280, 2005.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.C.M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford University Press, New York, 1999.
- HENRY, P. H.; LONGO, D. L. Linfadenopatia e esplenomegalia. In: FAUCI, A. S.; HARRISON, T. R. Harrison, medicina interna. 14a ed. Rio de Janeiro: **Macgraw Hill**; p. 367-373, 1998.
- HITCHON, C.A.; EL-GABALAWY, H.S. Oxidation in rheumatoid arthritis. **Arthritis Research and Therapy**, v.6, n.6, p. 265-78, 2004.
- HRENOVIC, J., J. MILENKOVIC, T. IVANKOVIC, AND N. RAJIC. Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. **J. Hazard. Mater.** 201–202:260–264, 2012.
- JONES D.P. Disruption of mitochondrial redox circuitry in oxidative stress. **Chemico-biological Interactions**, v.163, n.1-2, p.38-53, 2006.

- KARAMANLIS, X., P. FORTOMARIS, G. ARSENOS, I. DOSIS, D. PAPAIOANNOU, C. BATZIOS, AND A. KAMARIANOS. The effect of a natural zeolite (clinoptilolite) on the performance of broiler chickens and the quality of their litter. Asian-australas. **Journal. Animal. Science.** v.21, p.1642–1650, 2008.
- KEILIN, D.; MANN, T. Carbonic anhydrase, purification and nature of the enzyme. **Biochemistry Journal**, v.34, p. 1163-1176, 1940.
- KESTIN S.C., SU G., SERESEN, P. Different commercial broiler crosses have different susceptibilities to leg weakness. **Poultry Science** 78, 1085-1090, 1999.
- KOURY, J C; DONANGELO, C M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.4, p. 433-441, 2003.
- LEESON, S. Trace mineral requirements of poultry— validity of the NRC recommendations. **Redefining Mineral Nutrition**. J. Taylor-Pickard and L. Tucker, ed. Nottingham Univ. Press, UK. p. 107-118, 2005.
- LIUZZI, J.P.; BLANCHARD, R.K.; COUSINS, R.J.; Differential regulation of zinc transporter 1, 2 and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. **J Nutr** 2001; 131:46-52.
- LUGER, D., D. SHINDER, AND S. YAHAV. Hyper- or hypothyroidism: its association with the development of ascites syndrome in fast growing chickens. **Gen. Comp. Endocrinol.** v.127, p.293-299, 2002.
- MAFRA, Denise; COZZOLINO, Sílvia Maria Franciscato. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.1, p. 79-87, 2004.
- MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de Minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviaria aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 375p. 2002.
- MAST, J.; GODDEERIS, B.M. Development of immunocompetence of broiler chickens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.70, p.245-256, 1999.

- McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic, p.992-524, 1992.
- MEDEIROS, I. M. **Suplementação de Zinco Orgânico na ração de frangos de corte alojados em cama nova ou reutilizada**. 2012. 48f. Dissertação de Mestrado em Produção Animal, Área de Concentração: Nutrição de Monogástricos. Universidade Federal Rio Grande do Norte, Macaíba- RN 2012.
- MENCH, J., Lameness. In: **Measuring and Auditing Broiler Welfare**, Weeks, C., Butterworth, A. (Eds.). CAB International, Wallingford, UK, p: 3-17. 2004.
- MOCHEGANI E., GIACCONE R., CIPRIANO C., GASPARINI N., ORLANDO F., STECCONI R., MUZZIOLI M., ISANI G., CARPENE E., Metallothioneins (I+II) and thyroid-thymus axis efficiency in old mice: Role of corticosterone and zinc supply. **Mechanisms Ageing and Development**. v.123, p.675-694, 2002.
- MONSONEGO E., et al Growth hormone inhibits differentiation of avian epiphyseal growth-plate chondrocytes. **Molecular and Cellular Endocrinology** v.114, p.35-42. 1995.
- MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. Eds. **Fisiologia aviária aplicada a frango de corte**. Jaboticabal: FUNEP/ UNESP, 2002. 375 p.
- NAVEH Y., BENTUR L., DIAMOND E. Site of zinc absorption in dog small intestine. **Journal Nutrition**. v.118, p.61, 1988.
- OKTYABRSKY, O.N.; SMIRNOVA, G.V. Redox regulation of cellular functions. **Biochemistry**, v.72, n.2, p.132-145, 2007
- OLIVEIRA, C.C.; OLIVEIRA, S.M.; BUCHI, D.F. Effects of canova on mouse Peritoneal macrophages oxifative metabolism. In: XIX Congress of Brazilian Socuety Of Microscopy and Microanalysis. 2003, Caxambu. **Proceedings...** Caxambu, P. 34-35, 2003.
- PAPAIIOANNOU, D., KATSOULOS, P.D., PANOUSIS, N., AND KARATZIAS, H, The role of natural and synthetic Zeolites as feed additives on the prevention and/

or the Treatment of certain farm animal disease: a review. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.84: p.161-170, 2005.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de Peixes. In: **CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N.** Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, p.74-169. 2004.

PICK, E.; MIZEL, D. Rapid microassay for measurement of superoxide and hydrogen Peroxide produced by macrophages in culture using an automatic enzyme Immunoassay reader. **Journal of Immunological Methods**, v. 46, p. 211-226, 1981.

POWELL SR. The antioxidant properties of zinc. **Journal Nutrition**, v.130 suppl: 1447-54. 2000.

PRASAD AS, BECK FW, KAPLAN J, CHANDRASEKAR PH, ORTEGA J, FITZGERALD JT, SWERDLOW P. Effect of zinc supplementation on incidence of infections and hospital admission in sickle cell disease (SCD). **American Journal of Hematology** 61, p.194–202, 1999

RINK L, GABRIEL P. Zinc and the Immune System. **Proceedings of the Nutrition Society** 59, 541–552, 2000.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; TRALDI, A.B.; SILVA, C.S.; PEREIRA, P.W.Z. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.4. p. 801-807. 2010.

ROBERSON, K.D.; EDWARDS JR., H.M. Effects os 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on zinc utilization in broiler chicks. **Poultry Science**, v.73, n.8, p.1312-1326, 1994.

ROSA R.M.; ROEHRS R.; SAFFI J.; HENRIQUES J.A.P. O papel da reparação de lesões oxidativas induzidas no DNA na redução do risco de desenvolvimento de câncer. In: **SALVADOR, M., HENRIQUES, J.A.P.** Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Canoas: Editora da Ulbra, 2004.

- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para Aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2.ed. Viçosa: Horácio Santiago Rostagno, 252p. 2011.
- RUSSO, M.; TEIXEIRA, H.C.; MARCONDES, M.C. Superoxide-independent Hydrogen peroxide release by macrophages. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 22, p. 1271-1273, 1989.
- SALABI, F.; BOUJARPOOR, M.; FAYAZI, J.; SALARI, S.; NAZARI, M. **Effects of Different Levels of Zinc on the Performance and Carcass Characteristics of Broiler Reared under Heat Stress Condition**. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v. 10, p. 1332-1335, 2011.
- SALGUEIRO, M. J. Zinc is an essential micronutrient: a review. **Nutrition Research**, v. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.
- SALVEMINI, D.; WANG, Z.; WUATT, P.S.; BOURDON, D.M.; MARINO, M.H.; MANNING, P.T.; CURRIE, M.G. Nitric oxide: a key mediator in the early and late Phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, p. 829-838, 1996.
- SHARIATMADARI, F. The application of zeolite in poultry Production. **World's Poultry Science Journal**, 64: 76-84, 2008.
- SHEN S, BERRY W, JAQUES S, PILLAI S, ZHU J. Differential expression of iodothyronine deiodinase type 2 in growth plates of chickens divergently selected for incidence of tibial dyschondroplasia. **Animal Genetics**. v.35(2):114-8. 2004.
- SHILS, M.; OLSON, J. A.; MOSHE, S.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. Editora Monole. 9ª Edição. Volume I; 2002.
- SHILS M. E., OLSON J. A., SHIKE M. **Modern nutrition in health and disease**. 8ª edição, vol.2. 1994.
- SILVA, L S V et al. Micronutrientes na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. Recife, v.7, n.3, p. 237-244. 2007.

- SIMSEK G. ANDICAN G. et al. (Ca, Mg & Zn status in experimental hyperthyroidism). **Biol.Trace elem. Res.** v.57(2);131-137. 1997.
- STEVENS L., **Avian Biochemistry and Molecular Biology**. Stirling University, Scotland. 2004.
- SUCHY, P., E. STRAKOVA, V. VECEREK, Z. KLOUDA, AND E. KRACMAROVA. The effect of a clinoptilolite-based feed supplement on the performance of broiler chickens. **Czech Journal of Animal Science.** v.51, p.168–173, 2006.
- SUNDER, G. S., PANDA, A. K.; GOPINATH, N. C. S.; RAMA RAO, S. V.; RAJU, M. V. L. N.; REDDY, M. R. Effects of Higher Levels of Zinc Supplementation on Performance, Mineral Availability, and Immune Competence in Broiler Chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, p. 79-86. 2008.
- SURH Y.J. **Oxidative Stress, Inflammation, and Health**. Packer L. Londres: Taylor & Francis, 2005.
- UBABEF 2016, relatório anual 2015 <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>
- UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3^a ed. Wallingford: **CABI**, 614 p. 1999.
- VASILATOS-YOUNKEN, R. & LEACH, R.M. Episodic patterns of growth hormone secretion and growth hormone status of normal and tibial dyschondroplastic chickens. **Growth**, 50, 84-94. 1986.
- VOGT, L. K. **Avaliação da imunocompetência e alternativas para a modulação nutricional de frangos de corte**. 2005. 160f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- WHITEHEAD, C. C., R. H. FLEMING, R. JULIAN, AND P. SORENSSEN. Skeletal problems associated with selection for increased productions. **Poultry Genetics, Breeding and Biotechnology**. W. Muir and S. Aggrey, ed. CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK. p.29-52, 2003.

WHITTOW G. C. Sturkie's Avian Physiology. 5ª edição, Germany. 1988.

WITHANAGE, G.S.K., KAISER, P., WIGLEY, P., POWERS, C., MASTROENI, P., BROOKS, H., BARROW, P., SMITH, A., MASKELL, D. and MCCONNELL, I.. Rapid expression of chemokines and proinflammatory cytokines in newly hatched chickens infected with *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. **Infection and Immunity**, v.72, p.2152-2159, 2004.

WONG, Carmen P. et al. Zinc Supplementation Increases Zinc Status and Thymopoiesis in Aged Mice. **Journal of Nutrition**. v.139, n.7, p. 1393-1397, 2009.

YUN, C.H. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental and Comparative Immunology**, v.24, p.303-324, 2000.

ZIMMERMANN M. B. e KOHRLE J. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health. **Thyroid** 12, 10, 867-878. 2002.

CAPITULO II

Níveis de zinco no desempenho, atividade antioxidante e sistema imune em frangos de corte de 1 a 35 dias de idade.

Resumo: Foi realizado um experimento para avaliar o efeito dos níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte, sobre o desempenho, a imunidade e saúde. O ensaio foi realizado em aviário experimental, o delineamento foi inteiramente casualizado com cinco níveis de zinco inorgânico, totalizando 5 tratamentos com sete repetições, tratamentos utilizados foram 50, 75, 100, 125 e 150% da exigência de zinco segundo Rostagno et al. (2011), a exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) o tratamento 100% - controle: 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente. As aves foram divididas em boxes, sendo cada box uma unidade experimental com 33 aves cada. Foram avaliados os parâmetros de desempenho: conversão alimentar, consumo de ração, peso corporal, ganho de peso e viabilidade; bioquímicos: concentração zinco no sangue, atividade superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo; e imunológico: título de anticorpos para doença de Newcastle. As variáveis foram avaliadas com auxílio do programa estatístico SAS 9.3 pela análise de variância (ANOVA). O nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão, *Broken Line*, utilizando-se o procedimento *Proc Reg* do SAS 9.3, com o auxílio do programa Origin. O desempenho sofreu influência tratamentos aos 21 dias de idade das aves criadas em galpão, com ponto ótimo 128% da exigência estimada por Rostagno et al. (2011). A mesma suplementação e nas mesmas condições, não influencia o desempenho de 1 a 35 dias de idade e não apresenta melhorias evidentes no status antioxidante e imunológico das aves.

Palavras-chave: anticorpo, enzima, imunologia, mineral, superóxido dismutase.

**Zinc levels in performance, antioxidant activity and immune system in broilers
from 1 to 35 days of age.**

Abstract: An experiment was conducted to evaluate the effect of inorganic zinc levels on the broiler diet on performance, immunity and health. The experiment was carried out in experimental fowl, the design was completely randomized with five levels of inorganic zinc, totaling 5 treatments with seven replicates, treatment 50, 75, 100, 125 and 150% of the zinc requirement according to Rostagno et al. (2011), the requirement advocated by Rostagno et al. (2011) the treatment 100% - control: 81.3; 71.5; 65 ppm of zinc in the pre-initial, initial and growth phases, respectively. The birds were divided into boxes, each box being an experimental unit with 33 birds each. Performance parameters were evaluated: feed conversion, feed intake, body weight, weight gain and viability; Biochemical: zinc concentration in the blood, superoxide dismutase activity and glutathione peroxidase in blood serum; And immunological: titer of antibodies to Newcastle disease. The variables were evaluated with the aid of the statistical program SAS 9.3 by analysis of variance (ANOVA). The optimal level of dietary zinc was determined by the regression analysis, Broken Line, using the Proc Reg procedure of SAS 9.3, with the aid of the Origin program. The performance was influenced by treatments at 21 days of age of birds raised in shed, with optimal point 128% of the requirement estimated by Rostagno et al. (2011). The same supplementation and under the same conditions does not influence the performance from 1 to 35 days of age and does not show evident improvements in the antioxidant and immunological status of the birds.

Keywords: antibody, enzyme, immunology, mineral, superoxide dismutase.

1. Introdução

A avicultura moderna apresenta constante avanço na produção de frangos de corte, devido ao melhoramento genético, aperfeiçoamento de técnicas de manejo, melhoria no controle sanitário, melhorias na ambiência das instalações, na nutrição e na alimentação das aves. Porém com a seleção de aves mais precoces, com maior ganho de peso e as altas densidades de alojamento, os problemas sanitários e as condenações de carcaças nos abatedouros vêm aumentando, refletindo no aumento do uso de antibióticos melhoradores de desempenho, anticoccidianos e antimicrobianos de uso terapêutico. Devido a esse uso excessivo os mercados consumidores internacionais, principalmente a União Europeia têm banido a utilização de antibióticos promotores de crescimento na produção avícola, por conta do risco para a saúde humana, já que existe a possibilidade de deixarem resíduos na carne e ovos e induzirem à resistência cruzada em bactérias patógenas aos humanos (DANZINGER, 2005).

Dentro desse contexto, estudos estão sendo realizados para se conhecer melhor o efeito imune estimulante da suplementação de vitaminas, minerais e aminoácidos, que favorecem a proliferação celular e beneficiam o desenvolvimento do sistema de defesa do organismo. Assim a suplementação desses nutrientes pode ser uma alternativa para diminuir o uso dos antibióticos promotores de crescimento. Dentre os minerais o zinco tem sido estudado com essa finalidade, como observado na literatura (BATAL, et al., 2001; BARTLETT e SMITH, 2003; EZZATI, et al., 2013).

O zinco é um micromineral necessário para o crescimento normal e manutenção, e entre outras funções, desenvolvimento ósseo, empenamento, processos enzimáticos e regulação do apetite em aves (Batal et al., 2001). Existem duas formas comerciais de fontes de zinco inorgânico usadas pela indústria avícola: óxido de zinco (ZnO : 72% Zn) e sulfato de zinco monohidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 36% Zn) (Wedekind e Baker, 1990; Batal et al., 2001). A principal fonte de zinco na suplementação das dietas animais é óxido de zinco (ZnO) (Fosmire, 1990; Sandoval et al., 1997).

A suplementação de zinco melhorar a proliferação de linfócitos T e, conseqüentemente, a produção de anticorpos contra doenças como a de *Newcatle* (Shils et al., 2002). Existem poucos estudos, em aves sobre a suplementação de zinco inorgânico, e ainda não se sabe qual o melhor nível a ser suplementado na alimentação

de frangos de corte a fim de melhorar o crescimento, a resposta imune e o sistema antioxidante.

Diante disso o objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade sobre o desempenho, níveis sanguíneos de atividade de superóxido dismutase, glutathione peroxidase, concentração de zinco, contagem diferencial de leucócitos sanguíneos e resposta imune à vacinação.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, no Laboratório de Nutrição de Aves. Os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Campus de Botucatu (34/2014 – CEUA), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado.

Ensaio

Foram utilizados 1155 pintos de um dia de idade, machos, da linhagem *Cobb*, alojados em 35 boxes de 2,0 m² com 33 aves por boxe com densidade de 16,5 aves/m², equipados com bebedouros tipo *nipple*, comedouro tubular e cama de maravalha reutilizada de 15 cm de espessura, sendo este o quinto lote e com manejo de fermentação entre todos os lotes criados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e sete repetições (cinco níveis de zinco inorgânico). As aves foram vacinadas no incubatório contra as doenças de *Marek*, *Gumboro* e Bouda aviária e aos 10 dias, as aves foram vacinadas individualmente, via ocular, contra o vírus da Doença de *NewCastle*.

As dietas foram formuladas a base de milho e farelo de soja, segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte machos de desempenho médio, variando somente a inclusão de zinco, que foi incluído em substituição ao inerte

(Tabela 1). Os tratamentos consistiram em níveis crescentes de zinco, tendo como fonte de zinco o óxido de zinco (50%, 75%, 100%, 125% e 150% da exigência segundo Rostagno et al.[2011]). A exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) o tratamento 100% - controle foi 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente. (Tabela 2). Água e ração foram fornecidas à vontade durante todo o período de criação e o programa de luz foi o recomendado pelo manual da linhagem. Foi realizado o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar, por meio de conjunto de termômetros de máxima e mínima, bulbo seco e bulbo úmido e de globo negro colocados na altura das aves.

Aos 21 e aos 35 dias de idade das aves, foram realizadas as coletas de sangue em uma ave por repetição por meio de punção da veia ulnar.

Variáveis a serem avaliadas

Desempenho

Peso corporal: todas as aves de cada unidade experimental foram pesadas aos 7, 21 e 35 dias para o cálculo do peso corporal médio. O ganho de peso foi calculado em períodos acumulados, por meio da diferença entre o peso das aves no início de cada semana e o peso das aves ao final do período.

Consumo de ração: consumo de ração foi determinado através da diferença entre a quantidade de ração fornecida no início e as sobras existentes ao final de cada período, o resultado obtido foi dividido pelo número médio de aves de cada unidade experimental, corrigido para as aves mortas.

Conversão alimentar: a conversão alimentar foi calculada dividindo-se o peso total da ração consumida pelas aves da unidade experimental, expressa em quilogramas, pelo peso total das aves no mesmo período também expresso em quilogramas.

Viabilidade: as mortalidades, bem como o peso das aves mortas, foram registradas diariamente, e a partir desses dados foi calculada a viabilidade (percentual de aves vivas ao final de cada período em relação ao número inicial de aves alojadas).

Parâmetros químicos e bioquímicos

Foram avaliados os teores de zinco no sangue, atividade de superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo aos 35 dias de idade de uma ave por unidade experimental. Para teor de zinco no sangue foi coletado 1 mL de sangue com seringa heparinizadas e acondicionado em freezer, para posterior análise segundo AOAC (1995).

Para determinar o teor de zinco sangue, utilizou-se 1ml de sangue que foi digerido com 5 ml de ácido nítrico (65% PA) e 3 ml de peróxido de hidrogênio (35% PA) utilizando tubos fechados de fluoropolímero (PFA) em Forno de Micro-ondas da marca *Speedwave* modelo SW-4. O teor de zinco foi obtido por espectrofotômetro de absorção atômica modelo SHIMADZU AA-6800 de acordo com Neves et al. (2009).

Para a atividade enzimática no sangue, foram coletados 5 mL de sangue de uma ave por repetição, por meio de punção da veia ulnar com seringa, posteriormente foi obtido o soro com o auxílio de centrifuga refrigerada, as amostras foram acondicionadas em ultra freezer, e analisados com auxílio de kits comerciais.

Contagem diferencial de leucócitos e relação heterófilo/linfócito

Foram coletados 2 mL de sangue de uma ave por unidade experimental, por meio de punção da veia ulnar com seringa heparinizadas aos 35 dias de idade. Foram confeccionadas extensões sanguíneas para contagem diferencial de leucócitos e determinação da relação heterófilo:linfócito (H:L) de acordo metodologia proposta por Charles Noriega (2000). As lamina de extensão sanguínea foram coradas com corante pré-preparado Rosenfeld para diferenciação dos leucócitos. A contagem diferencial foi realizada em microscópio, utilizando-se aumento de 100x. Foram contadas 100 células leucocitárias por lâmina, diferenciando os tipos de células leucocitárias e então foi determinada a H:L e as porcentagens das diferentes células.

Títulos de anticorpos contra Doença de *NewCastle*

Foi coletado aos 21 e aos 35 dias de idade de uma ave por unidade experimental 5 mL de sangue por meio da punção da veia ulnar, para avaliar os títulos séricos de anticorpos contra o vírus da Doença de *NewCastle*. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos de ensaio, deixadas em descanso para formação de coágulo, posteriormente foram centrifugadas para obtenção do soro e acondicionados em microtubos de 1,5 mL. A mensuração da produção de anticorpos foi avaliada por meio do ensaio imunoenzimático – Kit ELISA.

Análises estatísticas dos ensaios

As variáveis que não atenderam as premissas dos testes de normalidade foram feitas transformações matemáticas, sendo elas log na base 2 e raiz quadrada, de acordo com a necessidade. As quais foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) através do procedimento *General Lineal Model* (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS 9.3. O nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão no modelo da Nova Compartimental ($y = \frac{ae^{-bx}}{(1 + e^{-c(x-d)})}$) utilizando-se o programa Excel (xlsx) (Garcia-Neto e Perri, 2015).

Tabela 1. Composições centesimais e nutricionais das dietas basais.

Ingredientes (%)	Pré-inicial	Inicial	Crescimento
Milho, grão	54,55	58,74	61,39
Soja, farelo	38,41	34,89	31,67
Soja, óleo bruto	2,38	2,32	3,30
Fosfato bicálcico	1,91	1,51	1,28
Calcário calcítico	0,91	0,92	0,86
DL-Metionina	0,36	0,29	0,25
L-Lisina	0,28	0,21	0,19
L-Treonina	0,10	0,06	0,04
Bicarbonato de sódio	0,23	0,20	0,15
Sal comum	0,35	0,35	0,35
Premix vitamínico e mineral ¹	0,50	0,44	0,40
Inerte ³	0,02	0,06	0,10
Antibiótico + anticoccidiano ²	0,00	0,01	0,02
Total	100	100	100
Composição Nutricional			
Energia metabolizável, kcal/kg	2950	3000	3100
Proteína bruta, %	22,20	20,80	19,50
Cálcio, %	0,920	0,819	0,732
Fósforo disponível, %	0,470	0,391	0,342
Fibra bruta, %	2,980	2,865	2,741
Metionina digestível, %	0,646	0,562	0,519
Metionina+cistina digestível, %	0,945	0,846	0,788
Lisina digestível, %	1,311	1,175	1,079
Sódio, %	0,220	0,210	0,200
Triptofano digestível, %	0,250	0,232	0,214
Treonina digestível, %	0,853	0,763	0,701

¹Níveis de garantia do premix vitamínico e mineral (Animal Enterprise) por quilo de produto, ácido fólico 175mg, ácido Pantotênico . 2500mg, biotina 17600mcg, colina 75000mg, niacina 7500mg, vitamina A 1875KUI, vitamina B1 500mg, vitamina B12 3000mcg, vitamina B2 1250mg, vitamina B6 700mg, Vitamina D₃ 475KUI, Vitamina E 7KUI, Vitamina K 376mg, cobre 2500mg, ferro, 12500mg, iodo 250mg, manganês 17600mg, selênio 75mg, BHT 20000mg.

²Monoensina + Lincomicina

³Óxido de zinco em substituição ao inerte.

Tabela 2. Composições nutricionais de zinco nas dietas experimentais.

Tratamento	Fornecimento de Zn mg/kg de ração		
	Pré-Inicial	Inicial	Crescimento
1 (50%)	40,650	35,750	32,500
2 (75%)	60,975	53,625	48,750
3 (controle -100%)	81,300	71,500	65,000
4 (125%)	101,625	89,375	81,250
5 (150%)	121,950	107,250	97,500

3. Resultados

Os dados de desempenho de 1 a 7 dias de idade estão apresentados na Tabela 3. Como pode ser observado, os níveis de zinco dietético não influenciaram o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade de frango de corte na fase pré-inicial de criação.

Na análise de desempenho das aves no período de 1 a 21 dias (Tabela 4) pode-se observar que o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar variaram com os diferentes tratamentos, mas não interferiram na viabilidade, tendo verificado maiores resultados para ganho de peso e consumo de ração com o tratamento 4 (125%), 101,625 e 89,375 ppm de zinco nas fases pré-inicial e inicial, respectivamente; no entanto para conversão alimentar o teor de zinco dietético basal, tratamento 3 (controle – 81,30 ppm e 71,5 ppm de zinco nas fases pré-inicial e inicial, respectivamente) apresentou os melhores resultados.

No período total, de 0 a 35 dias de idade das aves, os tratamentos não influenciaram os dados de ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade, porém o consumo de ração foi afetado pelos tratamentos, sendo que o consumo de ração foi maior no tratamento 4; 101,625; 89,375 e 81,25 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente (Tabela 5).

O teor de zinco no sangue (Tabela 6) de frangos de corte aos 35 dias de idade, tratados com dietas com diferentes níveis de zinco, não apresentou diferença entre os tratamentos ($P=0,225$). A atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo das aves aos 35 dias de idade (Tabela 7) não apresentaram diferenças entre os tratamentos estudados ($P=0,635$ e $P=0,650$, respectivamente). Na Tabela 8 estão apresentados os dados da contagem diferencial de leucócitos sanguíneos aos 35 dias de idade das aves, onde pode-se verificar que os tratamentos não influenciaram os resultados desse parâmetro. Os tratamentos também não influenciaram a titulação de anticorpos para 5% de probabilidade para a doença de *NewCastle* aos 21 e aos 35 dias de idade ($P=0,67$ e $P=0,065$, respectivamente). Porém os valores de probabilidade encontrados para as aves aos 35 dias de idade para títulos de anticorpos, apesar de não serem significativos para 5% de probabilidade, são menores que 10% e podem indicar possível efeito positivo na suplementação de zinco sobre a resposta imune adquirida das aves, nessas condições experimentais (Tabela 9).

Nas figuras 1, 2, 3 e 4 estão representados os modelos de ajuste de dados pela modelo da Nova Compartimental. A Figura 1, 2 e 3 indicam que se pode obter os melhores resultados de ganho de peso, consumo de ração e eficiência alimentar de 1 a 21 dias de idade das aves com suplementação de 128% de zinco da exigência preconizada por Rostagno et al (2011).

A figura 4 sugere que a suplementação de 125% de zinco da exigência preconizada por Rostagno et al (2011) é o nível ótimo de zinco para o melhor consumo de ração de 1 a 35 dias de idade em frangos de corte.

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 7 dias de idade.

TRATAMENTO	GPM ¹	CR ¹	CA ¹	VB ¹
1 (50%)	122,17	136,89	1,1268	99,134
2 (75%)	121,37	138,01	1,1369	99,567
3 (controle -100%)	129,51	141,45	1,0926	99,134
4 (125%)	131,1	143,69	1,0992	99,134
5 (150%)	124,99	137,1	1,0981	100
P	0,059	0,299	0,086	0,620
CV% ²	5,71	5,04	3,13	1,26

¹ GPM, ganho de peso médio; CR, consumo de ração médio; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade.

²CV%, coeficiente de variação.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 21 dias de idade.

TRATAMENTO	GPM ¹	CR ¹	CA ¹	VB ¹
1 (50%)	856,1	1199,4	1,4100	97,835
2 (75%)	856,1	1202,9	1,4114	98,27
3 (controle -100%)	931,9	1268,6	1,3638	97,835
4 (125%)	942,23	1294,8	1,3706	98,701
5 (150%)	886,5	1232,7	1,3942	99,567
P	0,014	0,040	0,016	0,469
CV% ²	6,28	5,24	2,20	2,04

¹ GPM, ganho de peso médio; CR, consumo de ração médio; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade.

²CV%, coeficiente de variação.

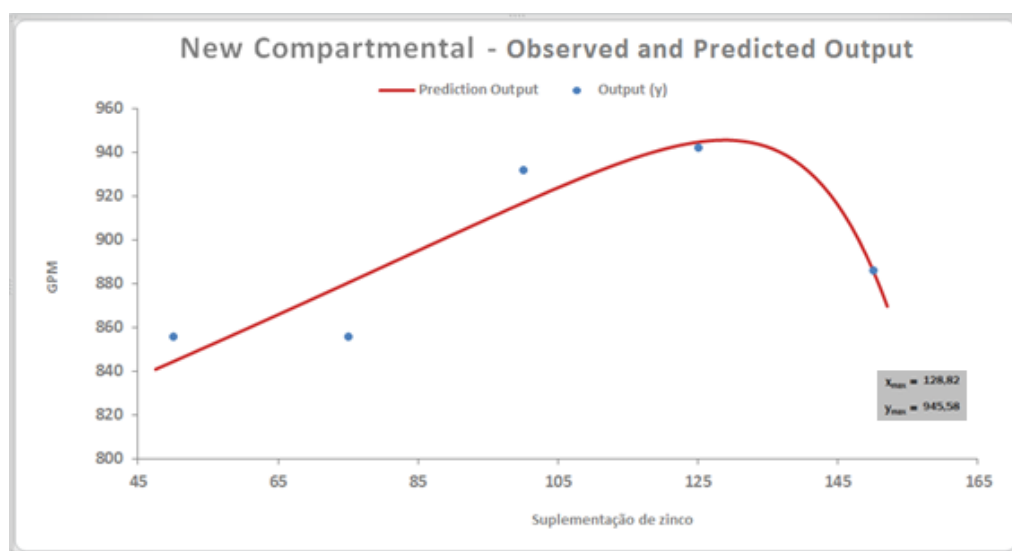


Figura 1. Ganho de peso médio de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.

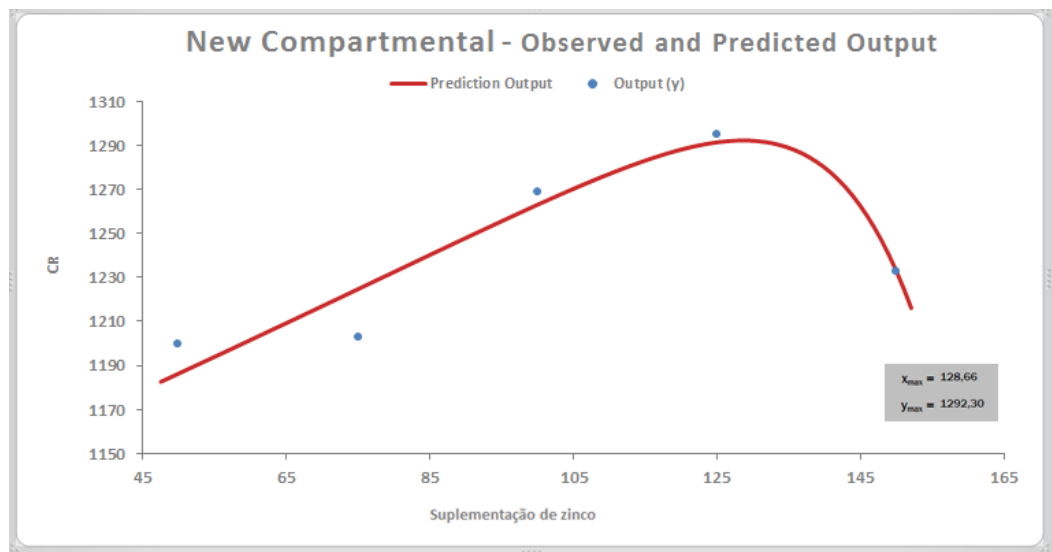


Figura 2. Consumo de ração médio de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.

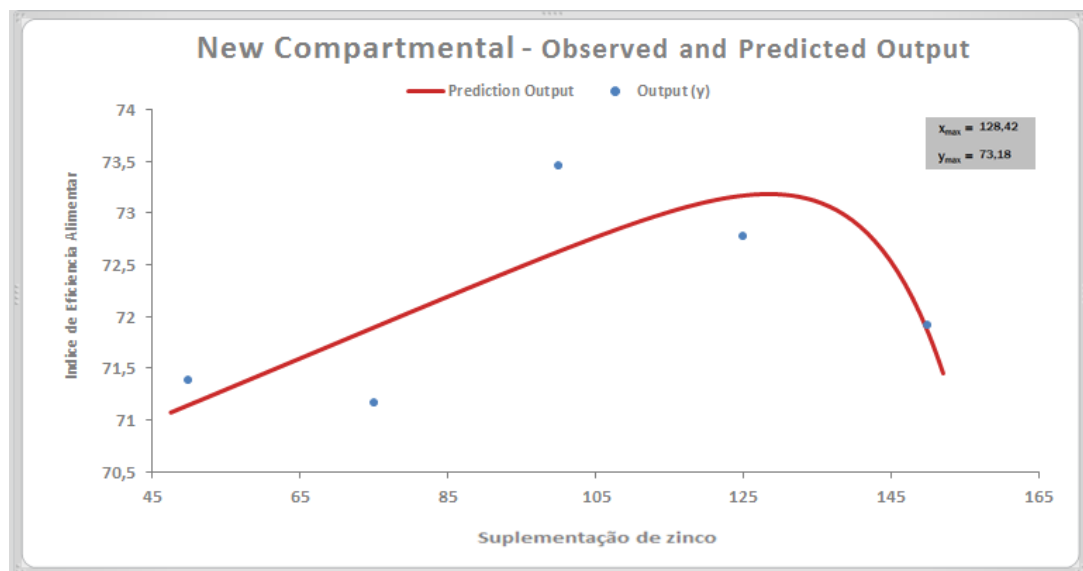


Figura 3. Índice de eficiência alimentar médio de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.

Tabela 5. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de zinco aos 35 dias de idade.

TRATAMENTO	GPM ¹	CR ¹	CA ¹	VB. ¹
1 (50%)	2132,4	3271,9	1,5441	97,835
2 (75%)	2129,5	3343,8	1,5835	96,97
3 (controle -100%)	2200,6	3389,3	1,5702	95,24
4 (125%)	2192,6	3429,0	1,5783	96,97
5 (150%)	2118,5	3331,1	1,5772	99,134
P	0,245	0,036	0,855	0,112
CV% ²	3,96	2,74	4,56	2,70

¹ GPM, ganho de peso médio; CR, consumo de ração médio; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade.

²CV%, coeficiente de variação.

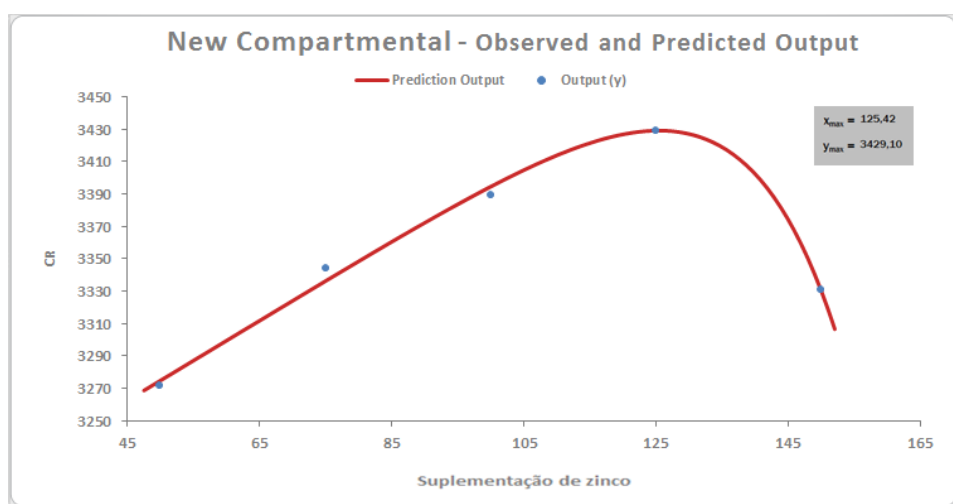


Figura 4. Consumo de ração médio de frangos de corte de 1 a 35 dias de idade com dietas variando os níveis de zinco.

Tabela 6. Concentração ($\mu\text{g/L}$) de zinco no sangue de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

TRATAMENTO	Zn sangue
1 (50%)	9485
2 (75%)	8806
3 (controle -100%)	8665
4 (125%)	9133
5 (150%)	8592
P	0,225
CV% ¹	8,83

¹CV%, coeficiente de variação.

Tabela 7. Valores de atividade de superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GSH) no soro de frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

TRATAMENTO	SOD	GSH
1 (50%)	0,255	16,224
2 (75%)	0,299	16,241
3 (controle -100%)	0,213	16,229
4 (125%)	0,372	16,166
5 (150%)	0,276	16,333
P	0,635	0,650
CV% ¹	32,53	1,25

¹CV%, coeficiente de variação.

Tabela 8. Porcentagem (%) de cada célula do sistema imune e relação heterófilo:linfócito (H/L) em lâminas de esfregaço sanguíneo em frangos de corte aos 35 dias de idade alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

TRATAMENTO	LINF ¹	HET ¹	MONO ¹	EOSIN ¹	BASOF ¹	H/L ²
1 (50%)	58,9	30,1	4,5	3,1	3,2	0,58
2 (75%)	59,0	32,1	3,7	2,3	2,8	0,56
3 (controle -100%)	66,4	26,4	3,1	1,9	2,5	0,411
4 (125%)	56,6	34,4	3,3	1,5	3,1	0,677
5 (150%)	61,5	28,7	4,0	2,5	2,9	0,476
P	0,297	0,547	0,678	0,235	0,945	0,295
CV% ³	14,36	30,26	49,66	17,59	57,45	43,65

¹LINF, linfócitos; HET, heterófilo; MONO, monócito; EOSIN, eosinófilo; BASOF, basófilo.

² H/L, relação heterófilo:linfócito.

³CV%, coeficiente de variação.

Tabela 9. Valores de títulos de anticorpos de frangos de corte vacinados contra o vírus da Doença de *NewCastle*, expresso em médias geométricas (GMT), alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

TRATAMENTO	AC 21d ¹	AC 35d ¹
1 (50%)	339	2079
2 (75%)	432	1595
3 (controle -100%)	637	1272
4 (125%)	499	3761
5 (150%)	532	2511
P	0,670	0,065
CV% ²	9,97	12,71

¹ AC 21d, Título de anticorpos aos 21 dias de idade; AC 35d, Título de anticorpos aos 35 dias de idade.

²CV%, coeficiente de variação.

4. Discussão

As aves de 1 a 7 dias de idade, suplementadas com diferentes níveis de zinco na dieta não apresentaram diferenças significativas nos parâmetros avaliados neste trabalho. Este evento poderia ser explicado pelo fato que nesta fase da vida, as aves ainda apresentam resquícios nutritivos da gema (Rutz et al., 2005), que lhes proporcionam um aporte de nutrientes além dos nutrientes da dieta, que podem influenciar diretamente nos resultados de desempenho, fazendo com que o ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração e viabilidade na fase pré-inicial não sofra influência dos tratamentos.

Dos 7 aos 21 dias de idade pode-se observar a influência dos tratamentos, pois nessa fase a reserva de nutrientes provenientes da gema já se esgotaram e as aves estão em crescimento acelerado, portanto a dieta é a única fonte de nutrientes e deve fornecer o necessário para a ave expressar seu máximo potencial genético (Rutz et al., 2005). Desta maneira, qualquer mudança nos níveis da dieta nessa fase de 7 a 21 dias de idade, irá

influenciar os resultados de desempenho, como podem ser observados nos tratamentos, pois os resultados obtidos neste experimento comprovam esta assertiva com os dados observados para o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

Na fase de crescimento das aves, de 21 a 35 dias de idade, o desenvolvimento das aves não é tão acelerado, como no período dos 7 aos 21 dias de idade, e a influência dos tratamentos sobre o desempenho não foi tão acentuada, assim a suplementação de zinco interferiu positivamente apenas no consumo de ração de 1 a 35 dias de idade, nessas condições experimentais.

Huang et al. (2007) estudando níveis de zinco; 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 ppm de zinco em dietas de frango de corte até os 21 dias de idade, verificou que 20 ppm de inclusão de zinco na dieta melhora o ganho de peso e o consumo de ração quando comparado a dieta sem zinco, mas não afeta a conversão alimentar, e 20 ppm de zinco quando comparado aos tratamentos com maior inclusão (40, 60, 80, 100 e 120 ppm) não diferem entre si em nenhum dos parâmetros de desempenho até os 21 dias de idade. Por outro lado, um estudo com níveis variando de 0 a 320 ppm de zinco na dieta de frango de corte não influenciou o desempenho de 0 a 28 dias (Shyam Sunder et al., 2008).

Rações com suplementações sub, ideal ou acima das exigências nutricionais de zinco nas dietas, 34, 68, 181 ppm de zinco respectivamente, não apresentaram efeito significativo no desempenho das aves durante todo período de criação, segundo Bartlett e Smith (2003). Entretanto Salabi et al. (2011) estudando a suplementação de zinco em dietas de frangos de corte, observaram que os níveis de zinco na dieta de frangos de corte influenciam o desempenho, no ganho de peso e conversão alimentar de frangos de corte, em que os resultados obtidos com a suplementação de 90 ppm de zinco na dieta foram melhores quando comparados com aqueles suplementados com 45 ppm.

Ezzati et al. (2013) verificaram que a suplementação de zinco em níveis de 0, 50, 75, 100 e 125 ppm não influenciou os resultados de conversão alimentar. Por outro lado, quando analisado a suplementação de 100 ppm para o parâmetro de ganho de peso, em comparação com os níveis 0, 50 e 75 ppm, houve uma melhora nesta variável analisada.

No presente estudo não foi observada diferenças na concentração de zinco no sangue entre os tratamentos estudados. Este resultado obtido pode ser explicado pelas diferenças entre os tratamentos ter sido insuficiente para se observar mudanças na concentração de zinco no sangue das aves. Deve-se ressaltar que esta observação

constatada entre os tratamentos se deve ao fato do zinco ser cofator das enzimas que (dessaturam=esse verbo não existe no dicionário Aurélio!!!! O certo não seria DESNATURAM?) o ácido linoleico para a formação do ácido dihomo-gama-linoleico na formação de membrana celular dos eritrócitos (Horrobin, 1981). Sendo assim, o zinco está presente em maior quantidade dentro das células vermelhas, neste estudo as variações dietéticas não influenciaram a concentração de zinco no sangue.

O zinco proveniente da dieta é carregado para todo o organismo pelo soro sanguíneo (Vallee e Gibson, 1948), assim a variação dietética de zinco pode influenciar o teor de zinco no sangue, já que o soro é parte do sangue (Reed et al., 2014). Um estudo sobre a exigência de zinco para frangos de corte, verificou que a suplementação de zinco de 12, 37, 62, 87, 112 e 137 ppm de zinco tem efeito quadrático em relação a sua concentração no soro sanguíneo, sendo que o ponto encontrado para a maior concentração de zinco no soro foi de 113,55ppm, com r^2 igual a 0,71 (Gomes et al., 2008).

Analizando os dados obtidos no presente estudo, podemos observar que os níveis de zinco dietético não alteraram a atividade das enzimas glutathione peroxidase (GSH) e superóxido dismutase (SOD) no soro sanguíneo nos frangos de corte aos 35 dias de idade, e essa ocorrência pode ser devido às aves estarem em homeostase, que impediria a ativação dessas enzimas.

O estresse oxidativo nos animais se dá pelo desequilíbrio entre pró e antioxidantes do organismo (Sies, 1991), que são as formações das espécies reativas de oxigênio (EROS). Quando o organismo está em desequilíbrio, podem ocorrer desarranjos da sinalização e controle das reações redox e/ou provocando danos moleculares (Jones, 2006). Essas espécies reativas de oxigênio são produzidas nas células por diversos estímulos fisiológicos e ambientais, tais como infecções, radiações UV e poluentes, os quais são coletivamente chamados de oxidantes (Surh, 2005; Avalos et al., 2007). Assim, um aumento da atividade da SOD e da GSH é observado em situações de estresse para as aves, e no presente estudo, as aves não foram induzidas a nenhum estresse que pudesse desencadear esse desequilíbrio de maneira acentuada e consequentemente provocar um aumento significativo da atividade dessas enzimas. Podemos inferir, que possivelmente por isso, não se observou diferenças entre os tratamentos para esse parâmetro estudado.

No presente estudo, a contagem diferencial de leucócitos não foi afetada pelos diferentes níveis de zinco utilizados. Este resultado observado poderia ser explicado pelo provável estado de homeostase das aves, uma vez que não foi induzido nenhum desafio microbiológico no local de estudo. Dessa forma, esse parâmetro poderia ser afetado pelo teor de zinco dietético quando comparado à dietas sem adição de zinco inorgânico. Um estudo comparando dietas com e sem adição de zinco, observou que a adição de 20 ppm já se observa melhora nesse parâmetro (Shyam Sunder et al., 2008), e a suplementação a cima desse nível, quando comparado com os 20 ppm, não apresenta diferença, mostrando que a melhora da proliferação celular proveniente do zinco dietético possui um limite no organismo do animal, possivelmente por isso, no presente estudo a relação heterofilo:linfócito não tenha sido afetada pelo tratamentos, já que os tratamentos estudados possuíam um mínimo de 32,5 ppm de zinco.

A titulação de anticorpos observada neste experimento, as aves aos 21 e as 35 dias de idade não apresentaram diferenças entre os tratamentos, porém o valor de probabilidade encontrado foi menor que 0,10 aos 35 dias de idade, apresentando a maior média para o tratamento 4 (101,62; 89,37; 81,25 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial, crescimento e final, respectivamente). Provavelmente, suplementações de zinco na ração podem influenciar positivamente a resposta imune adquirida, uma vez que o zinco está diretamente ligado as funções hormonais do timo e proliferação de células T, responsáveis pela produção e anticorpos (Fraker et al., 2000).

Shyam Sunder et al. (2008) observaram que a suplementação de zinco de 0 a 320 ppm até os 28 dias de idade das aves melhorou a titulação de anticorpos contra a doença de *Newcastle* a partir de 40ppm e depois disso se manteve, mostrando que a suplementação de zinco a cima desse valor não influencia esses resultados. Já Ezzati et al. (2013) observaram que a análise de títulos de anticorpos contra a doença de *Newcastle* por ELISA aumentou com a suplementação até 50 ppm em comparação com dietas sem suplementação de zinco, e quando comparou dietas com 50ppm com dietas com suplementações superiores a esses níveis, não observou diferenças.

Nas condições do presente estudo e com os dados obtidos, podemos concluir que suplementação de zinco na forma de óxido de zinco em dietas de frangos de corte pode influenciar o ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração de 1 a 21 dias de idade, em aves criadas em galpão, com ponto ótimo 128% da exigência estimada por

Rostagno et al. (2011). A mesma suplementação e nas mesmas condições, não influencia o desempenho de 1 a 35 dias de idade e não apresenta melhorias evidentes no status antioxidante e imunológico das aves.

5. Referências Bibliográficas

AOAC (1995) Official Methods of Analysis. 16 ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.

AVALOS, I.; CHUNG, C.P.; OESER, A.; MILNE, G.L.; MORROW, J.D.; GEBRETSADIK, T.; SHINTANI, A.; YU, C.; STEIN, C.M. (2007) Oxidative stress in systemic lupus erythematosus: relationship to disease activity and symptoms. *Lupus*, v.16, n.3, p.195-200.

BATAL, A.B.; PARR, T.M.; BAKER, D.H. (2001) Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. *Poultry Science*, v.80, p. 87-90.

BARTLETT, J. R.; M. O. SMITH. (2003) Effects of different levels of zinc on the performance and immune competence of broilers under heat stress. *Poultry Science*. v. 82, p. 1580–1588.

CHARLES NORIEGA, M.I.V.C. (2000) Apuentes de hematologia aviar: Material didático para curso de hematologia aviária. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. 70 p. Apostila.

DANZINGER, L. H.; PENDLAND, S. L. (2005) Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics. *Am. J. Health- st. Pharm*, v. 52, p. 3-8.

EZZATI, M. S.; BOZORGMEHRIFARD, M. H.; BIJANZAD, P.; RASOULINEZHAD, S.; MOOMIVAND, H.; FARAMARZI, S.; GHAEDI, A.; GHABEL, H.; STABRAGHI, E. (2013) Effects of different level os zinc supplementation on broilers performance and immunity response to Newcastle disease vaccine. *European Journal of Experimental Biology*, v. 3, p. 497-501.

- FRAKER, P.J.; KING, L.E.; LAAKKO, T.; VOLLMER, T.L. (2000) The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. *J. Nutr.* v.130:p.1399S-1406S; 2000.
- FOSMIRE, G. J. (1990) Zinc toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition* v.51: 2 p.225.
- GARCIA-NETO, M; PERRI, S. H. V.(2015) PPM: Programa Prático de modelagem. Disponível em: <https://sites.google.com/site/programapraticodemodelagem/>. Acesso em 07/12/2016.
- GOMES P C, RIGUEIRA D C M, ROSTAGNO H S, ALBINO L F T, BRUMANO G, SCHMIDT M. (2008) 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.
- HORROBIN, D.F. (1981) Loss of delta-6-desaturase activity as a key factor in aging. *Med. Hypotheses* 7, 1211–1220.
- HUANG Y. L., LU L., LUO, X. G., LIU B. (2007) An Optimal Dietary Zinc Level of Broiler Chicks Fed a Corn-Soybean Meal Diet. *Poultry Science* 86:2582–2589.
- HUANG, J., et al. (2008) Expression analysis of rice A20/AN1-type zinc finger genes and characterization of ZFP177 that contributes to temperature stress tolerance. *Gene*. 420, 135–144.
- JONES D P. (2006) Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. Sep-Oct;8(9-10):1865-79.
- NEVES, R. C.F.; MORAES, P. M.; SALEH, M. A. D.; LOUREIRO, V. R.; SILVA, F. A.; BARROS, M. M.; PADILHA, C. C. F.; JORGE, S. M. A.; PADILHA, P. M. (2009). FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chemistry*. 113, 679- 683.
- REED, S., QIN, X., RAN-RESSLER R., BRENNAN, J. T., RAYMOND P. GLAHN, E. T. (2014) Dietary Zinc Deficiency Affects Blood Linoleic Acid: Dihomo- γ -

linolenic Acid (LA:DGLA) Ratio; a Sensitive Physiological Marker of Zinc Status in Vivo (*Gallus gallus*). *Nutrients*, 6, 1164-1180.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. (2011) *Tabelas brasileiras para Aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2.ed. Viçosa: Horácio Santiago Rostagno, 252p.

RUTZ F, RECH JL, XAVIER EG. et al. (2005) Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: Alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: *Anais do 2º Simpósio Brasileiro Alltech*. p.20-39.

SALABI, F.; BOUJARPOOR, M.; FAYAZI, J.; SALARI, S.; NAZARI, M. (2011) Effects of Different Levels of Zinc on the Performance and Carcass Characteristics of Broiler Reared under Heat Stress Condition. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v. 10, p. 1332-1335.

SANDOVAL, M., HENRY, P. R., AMMERMAN, C. B., MILES, R. D., LITTELL, R. C. (1997) Relative bioavailability of supplemental inorganic zinc sources for chicks. *Journal of Animal Science*, v. 75 n.12, p. 3195-3205.

SAS Institute. SAS OnlineDoc 9.3.

SHILS, M.; OLSON, J. A.; MOSHE, S.; ROSS, A.C. (2002) *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença*. Editora Monole. 9º Edição. Volume I.

SURH Y.J. *Oxidative Stress, Inflammation, and Health*. (2005) Packer L. Londres: Taylor & Francis.

SHYAM SUNDER G., PANDA, A. K. , GOPINATH, N. C. S., RAMA RAO S. V., RAJU, M. V. L. N., REDDY, M. R., VIJAY KUMAR, CH. (2008) Effects of Higher Levels of Zinc Supplementation on Performance, Mineral Availability, and Immune Competence in Broiler Chickens. *Journal Applied Poultry Research*. 17:79–86.

SIES, H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. (1991). *The American Journal of Medicine*. v.91, Issue 3, Supplement 3, Pages S31–S38.

VALLEE B. L., GIBSON J. G. (1948) The zinc content of normal human whole blood, Plasma, leucocytes, and erythrocytes*, *J. Biol. Chem*, 176:445-457.

WEDEKIND K.J., BAKER, D. H. (1990) Zinc bioavailability in feed-grade sources of zinc. *Journal of Animal Science*. v. 68 n. 3, p. 684-689.

CAPITULO III

Efeito de diferentes níveis de zinco nas rações sobre a resposta imune e antioxidante de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com lipopolissacarídeo bacteriano.

Resumo: Um experimento foi realizado para estudar os efeitos dos níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* sobre as variáveis imunológicas, status antioxidante e concentração de zinco nos tecidos ósseos e fígado. O ensaio foi realizado em aviário experimental, em delineamento fatorial (5x2, cinco níveis dietéticos de zinco inorgânico, desafiados ou não com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*) com sete repetições. Os níveis de zinco utilizados foram 50, 75, 100, 125 e 150% da exigência de zinco segundo Rostagno et al. (2011), a exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) o tratamento 100% - controle foi de 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inal, inicial e crescimento, respectivamente. As aves foram divididas em boxes, cada box com 33 aves. Foram avaliados o peso relativo de órgãos; o teor de zinco na tíbia, no fêmur sem a medula óssea e medula óssea do fêmur e no fígado, também foi avaliada a atividade da superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo e no fígado. Outro parâmetro avaliado foi a produção de reativos de oxigênio e nitrogênio por macrófagos peritoneais. As variáveis foram avaliadas para todos os níveis de suplementação de zinco e em aves desafiadas ou não por LPS. As variáveis foram analisadas com auxílio do programa estatístico SAS 9.3, análise de variância (ANOVA). O nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão, Broken Line, utilizando-se o procedimento Proc Reg do SAS 9.3, com o auxílio do programa *Origin*. Os melhores resultados para resposta imunológica primária foram obtidos com a suplementação de 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inal, inicial e crescimento, respectivamente. E a suplementação de 139% de zinco da exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) aumenta a atividade da glutathione peroxidase no soro, bem como aumenta o teor de zinco no fígado das aves.

Palavras-chave: desafio, enzima, imunidade, macrófago, ossos.

Effect of different levels of zinc on diets on the immune and antioxidant response of broilers at 35 days of age challenged with bacterial lipopolysaccharide.

Abstract: An experiment was carried out to study the effects of inorganic zinc levels on the 35 - day - old broiler diet challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide on the immunological variables, antioxidant status and zinc concentration in bone tissues and liver. The experiment was carried out in a experimental aviary, in a factorial design (5x2, five dietary levels of inorganic zinc, challenged or not with *Escherichia coli* lipopolysaccharide) with seven replicates. The zinc levels used were 50, 75, 100, 125 and 150% of the zinc requirement according to Rostagno et al. (2011), the requirement advocated by Rostagno et al. (2011) the treatment 100% - control was 81.3; 71.5; 65 ppm of zinc in the pre-initial, initial and growth phases, respectively. The birds were divided into boxes, each box containing 33 birds. The relative weight of organs was evaluated; The zinc content in the tibia, in the femur without the bone marrow and bone marrow of the femur and in the liver, the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in blood serum and liver was also evaluated. Another parameter evaluated was the production of oxygen and nitrogen reactants by peritoneal macrophages. The variables were evaluated for all levels of zinc supplementation and in birds challenged or not by LPS. The variables were analyzed using the statistical program SAS 9.3, analysis of variance (ANOVA). The optimal level of dietary zinc was determined by the regression analysis, Broken Line, using the Proc Reg procedure of SAS 9.3, with the aid of the Origin program. The best results for primary immune response were obtained with the supplementation of 81, 3; 71.5; 65 ppm of zinc in the pre-intial, initial and growth phases, respectively. And the 139% zinc supplementation of the requirement recommended by Rostagno et al. (2011) increases the activity of glutathione peroxidase in serum as well as increases the zinc content in the liver of birds.

Keywords: bones, challenge, enzyme, immunity, macrophage.

Introdução

O grande aumento da produção de carnes do mercado mundial, principalmente de frangos de corte, leva as integrações avícolas a utilizarem ao máximo sua capacidade de alojamento, aumentando a densidade populacional dos galpões, o que pode reduzir o desempenho das aves individualmente, apesar de se obter maior produtividade por área (kg/m^2) (Heckert et al. 2002). A consequência disso é o aumento dos desafios sanitários, refletindo em maior uso de antibióticos melhoradores de desempenho, anticoccidianos e antibióticos de uso terapêutico.

Os aumentos da densidade populacional aliada a outros fatores ambientais estressantes exercem influência negativa sobre o sistema imune das aves, aumentando a susceptibilidade às doenças. Dentro desse contexto, a manutenção da saúde das aves é essencial para o correto funcionamento do organismo animal e permite a máxima expressão do potencial produtivo, ou seja, é de extrema importância que o sistema imune das aves esteja atuando de forma adequada (Morgulis, 2002).

A suplementação de zinco na dieta tem demonstrado efeito benéfico sobre esses aspectos, mas é importante salientar a necessidade de uma avaliação bioquímica e imunológica mais profunda para determinar o nível ideal deste mineral nas dietas animais com objetivo de melhorar a resposta imunológica e antioxidante, visto que, quando fornecido em excesso, poderá ocorrer interação negativa com outros minerais, prejudicando assim a saúde do animal. O envolvimento do zinco no adequado funcionamento do organismo já está bem estabelecido, mas ainda são necessários mais estudos para elucidar os detalhes da sua forma de ação no organismo.

Normalmente, a suplementação de microminerais em dietas para aves é feita com alguma margem de segurança, o que significa desperdício ou falta do nutriente dependendo da situação desta ave. De modo geral, a suplementação de microminerais aos animais é feita utilizando formas salinas inorgânicas simples com biodisponibilidades diferentes, o que explica o fato de suplementos minerais com os mesmos níveis nutricionais promoverem resultados de desempenho diferentes.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos dos níveis de zinco inorgânico na dieta de frangos de corte aos 35 dias de idade desafiados com

lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* sobre as variáveis imunológicas, status antioxidante e concentração de zinco nos tecidos ósseos e fígado.

1. Material e Métodos

Foi conduzido um experimento na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, no Laboratório de Nutrição de Aves. Os procedimentos experimentais foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Campus de Botucatu (34/2014 – CEUA), estando de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado.

Ensaio

Foram utilizados 1155 pintos de 1 dia de idade, machos, da linhagem *Cobb*, alojados em 35 boxes de 2,0 m² com 33 aves por box, densidade de 16,5 aves/m², equipados com bebedouros tipo *nipple*, comedouro tubular e cama de maravalha reutilizadas de 15 cm de espessura. O delineamento experimental foi fatorial 5x2 (cinco níveis de zinco inorgânico na dieta, desafiados ou não) com sete repetições. As aves foram vacinadas no incubatório contra as doenças de *Marek*, *Gumboro* e Bouba aviária.

As dietas foram formuladas a base de milho e farelo de soja, segundo as recomendações adaptadas de Rostagno et al. (2011) para frangos de corte machos de desempenho médio, variando somente a inclusão de zinco (Tabela 1). Os níveis de zinco consistiram em 50%, 75%, 100%, 125% e 150% da exigência segundo Rostagno et al. (2011). Portanto, tratamento 1: 40,65; 35,75; 32,50 ppm de zinco nas fases pré-inal, inal e crescimento, respectivamente; tratamento 2: 60,975; 53,625; 48,75 ppm de zinco nas fases pré-inal, inal e crescimento, respectivamente; tratamento 3 (controle): 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inal, inal e crescimento, respectivamente; tratamento 4: 101,625; 89,375; 81,25 ppm de zinco nas fases pré-inal, inal e crescimento, respectivamente; tratamento 5: 121,95; 107,25; 97,5 ppm de zinco nas fases pré-inal, inal e crescimento, respectivamente (Tabela 3). Água e

ração foram fornecidas à vontade durante todo o período de criação e o programa de luz foi de acordo com recomendações do manual da linhagem. Foi realizado o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar, por meio de conjunto de termômetros de máxima e mínima, bulbo seco e bulbo úmido e de globo negro colocados na altura das aves, a fim de manter o conforto térmico das aves.

As amostras para as análises bioquímicas e imunológicas do ensaio foram obtidas na última semana do período de criação (35 a 42 dias de idade) em que foi realizada a inoculação de LPS de *E. coli* em uma ave por boxe e em outra ave por box foi realizado a inoculação de solução salina (não desafiados), totalizando 70 aves, que posteriormente foram abatidas.

Após 24h da inoculação de LPS de *E. coli* foi iniciada a análise da atividade respiratória de macrófagos peritoneais, no momento do abate das aves para a coleta dos macrófagos foram também feitas as coletas de sangue e órgãos para análises bioquímicas das duas aves de cada box (desafiadas e não desafiadas).

Tabela 1. Composições centesimais e nutricionais das dietas basais.

Ingredientes (%)	Pré-inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho, grão	54,55	58,74	61,39	66,02
Soja, farelo	38,41	34,89	31,67	27,48
Soja, óleo bruto	2,38	2,32	3,30	3,15
Fosfato bicálcico	1,91	1,51	1,28	1,07
Calcário calcítico	0,91	0,92	0,86	0,77
DL-Metionina	0,36	0,29	0,25	0,24
L-Lisina	0,28	0,21	0,19	0,22
L-Treonina	0,10	0,06	0,04	0,05
Bicarbonato de sódio	0,23	0,20	0,15	0,14
Sal comum	0,35	0,35	0,35	0,35
Premix vitamínico e mineral ¹	0,50	0,44	0,40	0,30
Inerte ³	0,02	0,06	0,10	0,21
Antibiótico+anticoccidiano ²	0,00	0,01	0,02	0,00
Total	100	100	100	100
Composição Nutricional				
Energia metabolizável, kcal/kg	2950	3000	3100	3150
Proteína bruta, %	22,20	20,80	19,50	18,00
Cálcio, %	0,920	0,819	0,732	0,638
Fósforo disponível, %	0,470	0,391	0,342	0,298
Fibra bruta, %	2,98	2,86	2,74	2,59
Metionina digestível, %	0,646	0,562	0,519	0,486
Metionina+cistina digestível, %	0,945	0,846	0,788	0,738
Lisina digestível, %	1,311	1,175	1,079	1,010
Sódio, %	0,220	0,210	0,200	0,195
Triptofano digestível, %	0,250	0,232	0,214	0,192
Treonina digestível, %	0,853	0,763	0,701	0,656

¹Níveis de garantia do premix vitamínico e mineral (Animal Enterprise) por quilo de produto, ácido fólico 175mg, ácido pantotênico 2500mg, biotina 17600mcg, colina 75000mg, niacina 7500mg, vitamina A 1875KUI, vitamina B1 500mg, vitamina B12 3000mcg, vitamina B2 1250mg, vitamina B6 700mg, Vitamina D₃ 475KUI, Vitamina E 7KUI, Vitamina K 376mg, cobre 2500mg, ferro, 12500mg, iodo 250mg, manganês 17600mg, selênio 75mg, BHT 20000mg.

²Monoensina + Lincomicina.

³Óxido de zinco em substituição ao inerte.

A formulação da Fase Final não seria excluída do texto?

Tabela 2. Composições nutricionais de zinco nas dietas experimentais.

Níveis de zinco	Fornecimento de Zn mg/kg			
	Pré-Inicial	Inicial	Crescimento	Final
1 (50%)	40,65	35,75	32,50	24,40
2 (75%)	60,97	53,62	48,75	36,60
3 (controle -100%)	81,30	71,50	65,00	48,80
4 (125%)	101,62	89,37	81,25	61,00
5 (150%)	121,95	107,25	97,50	73,20

Desafio - Inoculação de LPS

Aos 35 dias de idade duas aves por box foram selecionadas, em uma ave foi inoculado lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli* (sigma - ref. L2880) na cavidade abdominal na dosagem de 1mg de LPS por quilo de peso vivo diluído em soro fisiológico (1 mg: 1 mL). Na outra ave de cada box foi inoculada 1 mL/kg de peso vivo de soro fisiológico puro, que foi utilizado como grupo não desafiado – controle.

Peso relativo de órgãos

Foram utilizadas as 70 aves, duas de cada box (desafiadas e controle), pesadas e eutanasiadas, após jejum de duas horas. Posteriormente, foram coletados e pesados o baço, timo, bolsa cloacal e fígado para o cálculo dos pesos relativos em relação ao peso corporal das aves em jejum.

Parâmetros químicos e bioquímicos

Foram avaliados os teores de zinco na tíbia inteira, fêmur sem a medula óssea, medula óssea do fêmur e no fígado, os tecidos foram coletados, armazenados em freezer e posteriormente analisados segundo AOAC (1995). As amostras foram preparadas antes da análise de zinco, o fígado foi seco e moído, a tíbia inteira e o fêmur sem a medula foram queimados em mufla e moídos, já a medula óssea foi analisada em natura.

Para determinar o teor de zinco utilizou-se 1mg do tecido que foi digerido com 5 mL de ácido nítrico (65% PA) e 3 mL de peróxido de hidrogênio (35% PA) utilizando tubos fechados de fluoropolímero (PFA) em forno de micro-ondas da marca *Speedwave* modelo SW-4. O teor de zinco foi obtido por espectrofotômetro de absorção atômica modelo SHIMADZU AA-6800 de acordo com Neves et al. (2009).

Para a atividade de superóxido dismutase e glutathione peroxidase no soro sanguíneo e no fígado foram coletados 5 mL de sangue de cada ave, por meio de punção da veia ulnar com seringa. Para obtenção de soro, as amostras foram submetidas à centrifugação refrigerada e armazenadas em ultra freezer. Uma fração do fígado foi coletado após a eutanásia das aves e também armazenado em ultra freezer. Ambos foram analisados com auxílio de kits comerciais.

Colheita e Isolamento de macrófagos peritoneais

Após 24h de inoculação da solução de LPS, foi injetado, na cavidade abdominal das aves 1 mL de solução de *Sephadex* (*Sephadex* G-50 Fine a 3% em solução salina 0,9%) para cada 200 g de peso corporal, com a finalidade de atrair macrófagos para a cavidade.

Após 48 horas de inoculação de *Sephadex*, foi realizada a eutanásia destas aves e injetado 20 mL de meio RPMI – 1640, seguido de massagem na cavidade abdominal para o desprendimento das células e, em seguida, o líquido da cavidade foi aspirado e transferido para tubos *Falcon* e acondicionado em gelo.

A determinação do número de células de cada amostra foi realizada por meio de contagem em câmara de Neubauer; a viabilidade das células foi determinada pela técnica de exclusão pela coloração *Trypan Blue*, onde as células não viáveis coram-se em azul. Alíquotas destas amostras foram coletadas para a realização do teste produção de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico.

Produção de peróxido de hidrogênio

A liberação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelos macrófagos foi determinada, baseada na oxidação do vermelho de fenol pela H_2O_2 , dependente de peroxidase, segundo método de *Pick e Keisari* (1980), adaptado por *Pick e Mizel* (1981) e modificado por *Russo et al.* (1989).

Após o isolamento dos macrófagos da cavidade abdominal das aves, foram utilizadas alíquotas para o teste de produção de H_2O_2 . As alíquotas foram resuspensas em 1 mL de vermelho de fenol, para padronizar concentração de 2×10^6 cels./mL e posteriormente plaqueadas (placas com 96 poços).

As placas ficaram em estufa de CO_2 5% a $41^\circ C$ por 1h e, após este período foi adicionado 10 μ L hidróxido de sódio (1M) objetivando parar a reação. A leitura do vermelho de fenol foi quantificada em leitor de *ELISA* utilizando-se filtro de 620nm. A produção de peróxido de hidrogênio (n moles $\times 10^5$ células) foi calculada com base na curva padrão com valores de absorbância obtidos para valores de diluições 1:10, 1:40, 1:80 e 1:160. Os resultados foram apresentados n moles de H_2O_2 , mediante equação de regressão com base na curva padrão.

Determinação de óxido nítrico (NO)

A produção de NO por macrófagos abdominais foi determinada pelo método colorimétrico, baseado na reação de *Griess* (Green et al., 1982), combinando 100 μ L do sobrenadante da amostra teste com 100 μ L do reagente *Griess* (Need 0,1% e sulfanilamida 1,0% em H_3PO_4 5,0%). As leituras foram efetuadas em microleitor de *ELISA* a 540nm. Os resultados foram expressos em μ moles de NO/ $2,0 \times 10^5$ células, comparando-se a densidade óptica com a curva padrão de NO_2 , realizada em cada experimento.

Análises estatísticas dos ensaios

As variáveis que não atenderam as premissas dos testes de normalidade foram transformadas matematicamente, sendo elas log na base 2 e raiz quadrada, de acordo com a necessidade. As quais foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) através do procedimento *General Lineal Model* (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS 9.3. O nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão no modelo da *Nova Compartmental* ($y = \frac{ae^{-bx}}{(1 + e^{-c(x-d)})}$) utilizando-se o programa *Excel* (xlsx) com exceção dos dados de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico em que o nível ótimo de zinco dietético foi determinado pela análise de regressão, *Broken Line*, utilizando-se o procedimento *Proc Reg* do SAS 9.3, com o auxílio do programa *Origin* (Garcia-Neto e Perri, 2015).

2. Resultados

Analisando os dados da Tabela 3, pode-se observar que não houve diferença no peso relativo de órgãos do sistema imune e do fígado entre os níveis de zinco. Ainda na mesma tabela, verificou-se que o peso relativo do baço foi afetado pelo desafio, sendo que as aves desafiadas apresentaram peso relativo do baço maior que as aves não desafiadas ($P=0,046$).

Não houve diferença no teor de zinco ósseo para tíbia inteira, fêmur sem medula e medula óssea do fêmur, entre os níveis de zinco em aves desafiadas ou não. Já o teor de zinco no fígado apresentou efeito significativo, tanto para os níveis de zinco ($P=0,049$) quanto para o desafio ($P=0,01$), mas não apresentou interação entre esses dados (Tabela 4), sendo que as aves desafiadas apresentaram maior concentração de zinco no fígado. O modelo de ajuste de dados pela *Nova Compartmental* sugere que o ponto ótimo de zinco na dieta para essa variável é em 139% da exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) (Figura 1).

A atividade da enzima superóxido dismutase no soro sanguíneo e fígado não sofreram influência dos tratamentos, já a atividade da glutathione peroxidase no soro sanguíneo sofreu influência dos níveis de zinco dietético ($P=0,009$), mas sua atividade não foi afetada pelo desafio e, a atividade da glutathione peroxidase no fígado não apresentou diferença entre os tratamentos (Tabela 5). O modelo de ajuste de dados pela *Nova Compartmental* sugere que o nível ideal de zinco na dieta para a maior atividade da enzima glutathione peroxidase no soro para aves desafiadas é em 138% da exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) (Figura 2).

Os níveis de zinco da dieta influenciaram a produção dos reativos de nitrogênio (NO) ($P=0,017$) e oxigênio (H_2O_2) ($P=0,003$), além disso, o desafio influenciou também a produção de H_2O_2 ($P=0,039$) (Tabela 6). De maneira geral os animais desafiados com LPS de *E. Coli* (desafio) apresentaram maior produção de H_2O_2 . O modelo de regressão segmentada, *broken line*, sugere que o nível ótimo de zinco dietético para produção de reativos de oxigênio foi de 98,24% da exigência de zinco segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011), ou seja, 79,87; 70,24; 63,86 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento (Figura 3).

Os menores níveis de zinco dietético, tratamento 1, 2 e 3 (tratamento 1: 40,65; 35,75; 32,50 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente; tratamento 2: 60,975; 53,625; 48,75 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente; tratamento 3 (controle): 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente, aumentaram a produção de NO pelos macrófagos peritoneais de frangos de corte na última semana do ciclo produtivo. O desafio com LPS bacteriano não afetou os resultados desse parâmetro. O ponto de quebra derivado do modelo de regressão segmentada, *broken line*, sugere que o ponto ótimo de exigência de zinco dietético para a maior produção de óxido nítrico pelos macrófagos peritoneais em aves desafiadas nesta fase é de 100% da exigência de zinco, segundo Rostagno et al. (2011), ou seja, 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento (Figura 4).

Tabela 3. Médias de valores de peso relativos de órgãos do sistema imune e do fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de *E. coli.*).

Níveis	Baço	Timo	Bursa	Fígado
1 (50%)	0,059	0,335	0,081	1,834
2 (75%)	0,066	0,362	0,116	1,946
3 (controle -100%)	0,069	0,321	0,092	1,805
4 (125%)	0,062	0,283	0,100	1,871
5 (150%)	0,073	0,330	0,091	1,882
Desafio				
Com	0,071	0,312	0,092	1,913
Sem	0,061	0,340	0,101	1,828
P				
Níveis de zinco	0,347	0,217	0,266	0,490
Desafio	0,046	0,214	0,374	0,101
Níveis de Zn*Desafio	0,195	0,262	0,253	0,840
CV% ¹	29,19	26,82	42,14	11,05

¹CV%, coeficiente de variação.

Tabela 4. Médias de valores de zinco na tíbia inteira (Zn Tíbia), fêmur sem a medula óssea (Zn Fêmur), medula óssea do fêmur (Zn Fêmur) e fígado (Zn Fígado) de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de *E. coli.*).

Níveis Zn	Zn Tíbia	Zn Fêmur	Zn Medula	Zn Fígado
1 (50%)	20,4	43,6	28,8	116,1
2 (75%)	20,1	41,6	28,7	109,9
3 (controle -100%)	19,1	41,9	25,7	132,2
4 (125%)	20,5	44,1	26,2	143,3
5 (150%)	20,4	43	30,6	128,6
Desafio				
com	20,4	43,1	28,7	135,9
sem	19,8	42,6	27,4	116,2
P				
Níveis de zinco	0,534	0,247	0,700	0,049
Desafio	0,372	0,349	0,598	0,010
Níveis de Zn*Desafio	0,368	0,153	0,501	0,168
CV% ¹	11,25	9,27	34,25	22,46

¹CV%, coeficiente de variação.

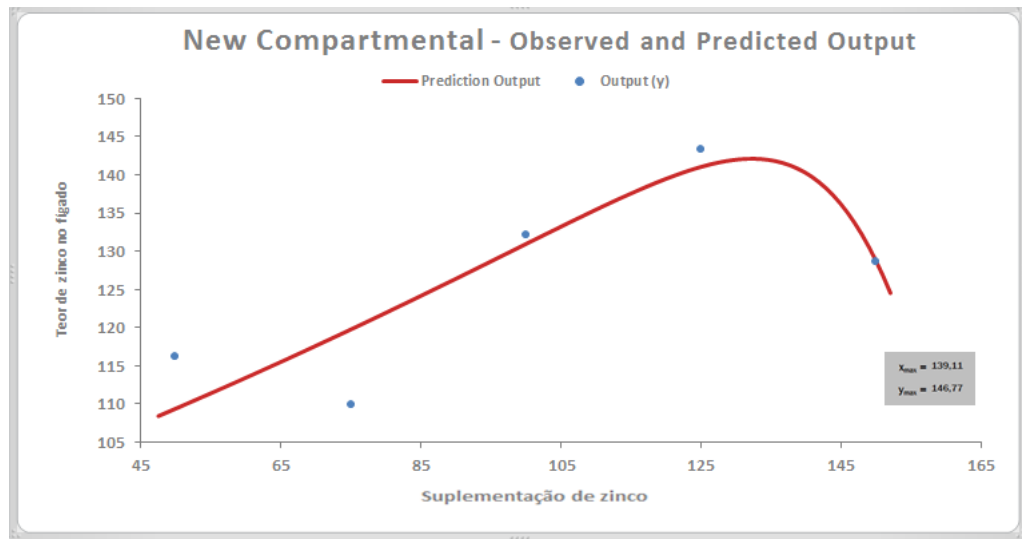


Figura 1. Valores médios de zinco no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

Tabela 5. Médias de valores de superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH) no soro e no fígado de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de *E. coli.*).

Níveis Zn	SOD Soro	SOD Fígado	GSH Soro	GSH Fígado
1 (50%)	16,151	73,7	0,459	463
2 (75%)	16,147	76,3	0,512	457,1
3 (controle -100%)	16,226	77,3	0,529	471,4
4 (125%)	16,163	74,2	0,647	451,3
5 (150%)	16,143	75	0,518	457,9
Desafio				
Com	16,202	75,3	0,5	465,1
Sem	16,125	75,3	0,5	455,2
P				
Níveis de zinco	0,911	0,604	0,009	0,887
Desafio	0,232	0,975	0,932	0,427
Níveis de Zn*Desafio	0,080	0,458	0,473	0,663
CV% ¹	1,53	8,35	22,70	10,95

¹CV%, coeficiente de variação.

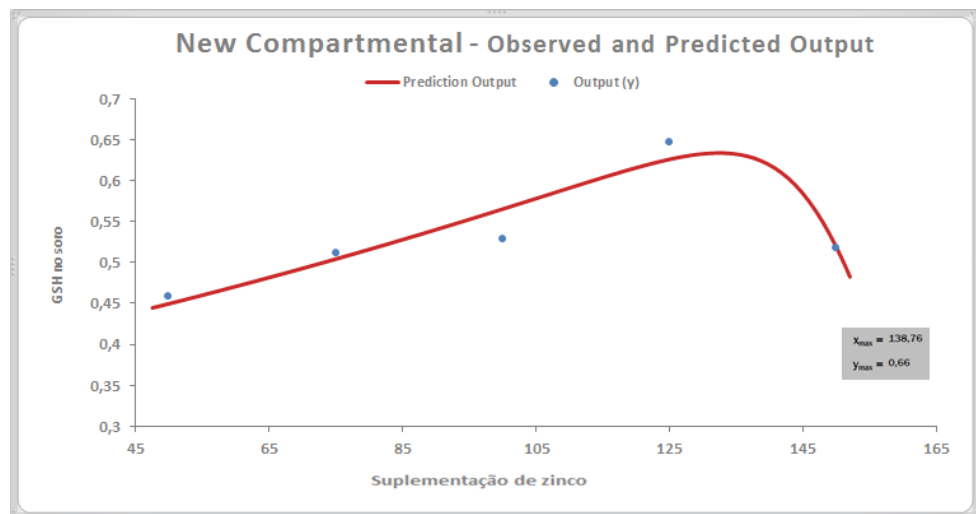


Figura 2. Valores médios de glutathiona peroxidase (GSH) no soro de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

Tabela 6. Médias de valores de intermediários reativos de nitrogênio (NO), e oxigênio (H₂O₂) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco, submetidos ou não ao desafio (lipopolissacarídeo de *E. coli*).

Níveis Zn	Zn NO	Zn H₂O₂
1 (50%)	2,9624	0,141
2 (75%)	2,8329	0,104
3 (controle -100%)	2,3682	0,073
4 (125%)	1,9131	0,076
5 (150%)	1,8983	0,059
Desafio		
Com	2,6	0,105
Sem	2,2	0,078
P		
Níveis de zinco	0,017	0,003
Desafio	0,090	0,039
Níveis de Zn*Desafio	0,993	0,358
CV% ¹	57,39	45,09

¹CV%, coeficiente de variação.

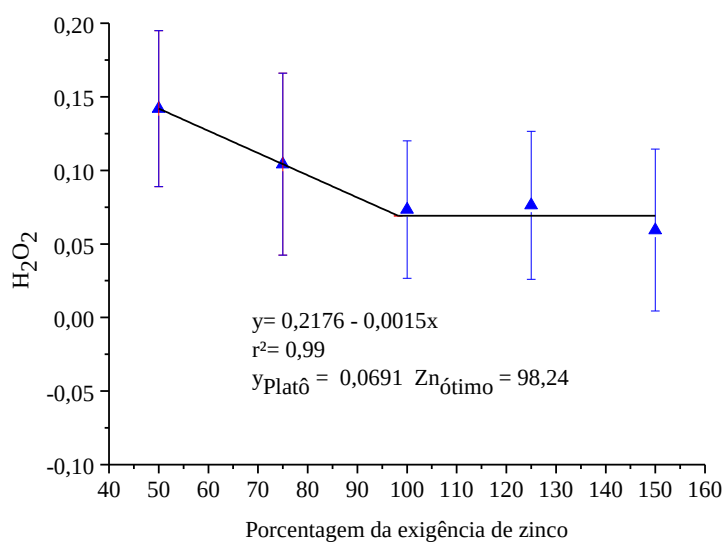


Figura 3. Valores de intermediários reativos de oxigênio (H_2O_2) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

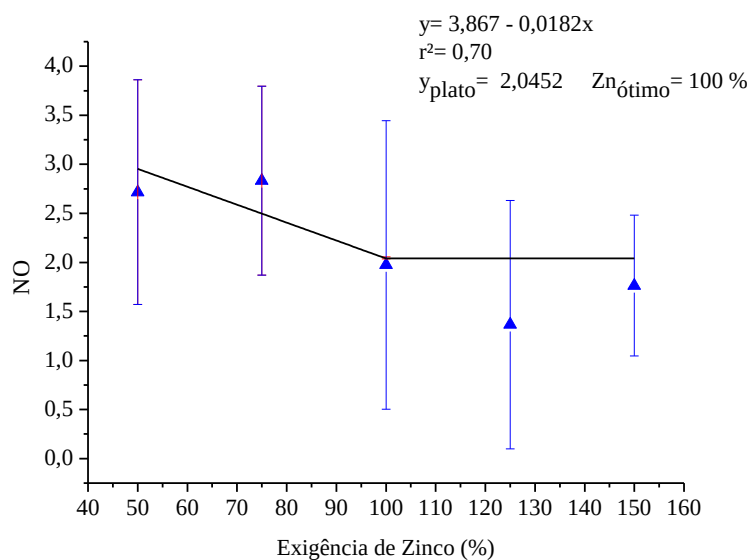


Figura 4. Valores de intermediários reativos de nitrogênio (NO) produzidos por macrófagos peritoneais de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de zinco.

3. Discussão

O peso relativo do baço foi afetado pelo desafio, que consistiu em aplicação de LPS de *E. coli* na cavidade abdominal, isso aconteceu provavelmente porque este órgão faz parte do sistema imune, sendo responsável pela interação do antígeno com as células de defesa, desse modo ele teve seu peso aumentado e suplementação de zinco na dieta não apresentou efeito.

O baço apresenta grande importância para a imunidade, pois além de ser responsável por 25% da função fagocitária do organismo, também apresenta funções hematológicas, agindo como um filtro, removendo hemácias senescentes ou defeituosas da circulação e regulando o fluxo sanguíneo para o fígado, armazenando as células sanguíneas e realizando a reciclagem do ferro endógeno (Henry e Longo, 1998). Porém os níveis adicionais de zinco dietético não mostraram efeito sobre o peso dos órgãos do sistema imunológico nesse estudo.

Segundo Bartlett e Smith (2003), o peso relativo dos órgãos, bursa de *Fabricsius*, baço e timo não apresentam diferença significativa em relação ao nível de zinco na dieta. Entretanto, as aves suplementadas com alto teor de zinco na dieta (181 mg/kg) apresentaram aumento pequeno do peso relativo do timo quando comparadas com a suplementação de 68 e 34 mg/kg de zinco na dieta. Já Feng et al. (2011) constataram que o peso relativo da bursa de *Fabricsius*, timo e baço foi maior de acordo com o aumento linear dos níveis de zinco na dieta.

A suplementação de zinco equivalente a 120 e 200 mg/kg na dieta apresentou aumento no peso da bursa de *Fabricsius* e baço, respectivamente, em frangos de corte com 42 dias de idade (Sajadifar, 2013). Frangos de corte suplementados com diferentes níveis de zinco inorgânico na dieta (40, 80, 120 ppm, e dieta controle sem adição de zinco) apresentaram variância no peso relativo da bursa de *Fabricsius* entre os tratamentos utilizados, do dia 4 a 28 de idade, porém sem diferença significativa.

No presente estudo não se observou diferença entre os tratamentos para os teores de zinco nos tecidos ósseos e fígado, o que pode ser explicado pela dinâmica desse mineral em todo organismo da ave, por estar envolvido em diversos processos metabólicos e assim em constante equilíbrio nos diferentes tecidos.

A concentração de zinco no tecido ósseo pode aumentar com a suplementação de até 40 ppm de zinco por quilo de ração, e após esse valor, até 140 ppm, não ocorre mais aumento (Huang et al., 2008). Essa constatação de Huang et al. (2008) corrobora com os dados obtidos no presente estudo, onde o teor de zinco nas diferentes partes do tecido ósseo do presente estudo também não apresentou diferença. Em contrapartida Shyam Sunder et al. (2008) verificaram que a suplementação de zinco em 80 ppm até os 28 dias de idade aumenta a concentração de zinco no tecido ósseo, e a partir de 20 ppm o teor de zinco no fígado aumenta de forma linear em conjunto com o aumento da suplementação dietética.

Medeiros (2012), observou que maiores deposições nos ossos foram obtidas em dietas contendo de 80 e 90 ppm de zinco orgânico, e o nível de zinco orgânico ideal para se obter maior concentração do mineral no osso é de 85,3 ppm (Medeiros, 2012). De acordo com Kumar et al. (2012) a deposição de zinco na tíbia varia de acordo com as concentrações do mineral na dieta, onde maiores concentrações de zinco promoveram maior deposição deste na tíbia.

No presente estudo os níveis de zinco dietético não alteraram a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no soro sanguíneo e no fígado, e também não alteraram a atividade da glutathione peroxidase (GSH) no fígado de frangos de corte aos 35 dias de idade em aves desafiadas ou não com LPS bacteriano. Apesar disso, os níveis de zinco dietético influenciaram a atividade de GSH no soro sanguíneo das aves aos 35 dias de idade. Isso pode ter ocorrido devido às aves não estarem em homeostase, pois o desafio utilizado desencadeou o desequilíbrio oxidativo e o aumento da produção de peróxido de hidrogênio para combater o agente inoculado (LPS de *E. coli*). Tal efeito ocorrido pode ter aumentado a atividade da GSH, já que ela é responsável pela transformação de H_2O_2 em oxigênio e água, a fim de proteger as células do organismo contra o estresse oxidativo causado pela H_2O_2 . Uma vez que o estresse oxidativo se dá pelo desequilíbrio entre pró e antioxidantes (Sies, 1991), quando em desequilíbrio causam desarranjo da sinalização e controle redox e/ou dano molecular (Jones, 2006), que podem ser desencadeados por diversos estímulos fisiológicos e ambientais, tais como infecções, radiações UV e poluentes, os quais são coletivamente chamados de oxidantes. (Surh, 2005; Avalos et al., 2007), tais como neste estudo em que houve desafio com LPS de *E. coli*. Em contrapartida, em outro estudo, Huang et al. (2008) avaliando a suplementação

de zinco dietético em frangos de corte, verificou que não houve aumento da atividade da SOD no fígado de frangos de corte aos 21 dias de idade não desafiados.

Foi verificado no presente estudo, que a atividade do peróxido de hidrogênio foi maior para os tratamentos com menor quantidade de zinco dietético, e isso pode ter ocorrido devido à dependência simultânea de zinco e cobre pela superóxido dismutase dentro dos macrófagos (Cunningham-Rundles, 1993), assim pode-se dizer que o zinco em excesso desencadeia um desequilíbrio entre os microminerais nas células, e o excesso pode ser prejudicial para a produção de peróxido de hidrogênio.

Também foi observado que a produção de óxido nítrico pelos macrófagos peritoneais foi maior nas menores suplementações de zinco (tratamentos 1, 2 e 3), com um ponto ótimo na suplementação basal (tratamento 1 - controle) e, por outro lado, o excesso de zinco dietético dos tratamentos 4 e 5 pode ter prejudicado a atividade dos macrófagos peritoneais e consequentemente a produção de óxido nítrico, já que o zinco atua na formação da cadeia de DNA e consequentemente na transcrição das interleucinas, biossíntese do NO, utilizado pelos macrófagos para combater os antígenos invasores, e faz parte das proteínas de transcrição nessa biomolécula e está presente no complexo biológico de formação de linfócitos T (Cunningham-Rundles, S., 1993).

Como pode-se observar, o óxido nítrico é uma molécula biologicamente ativa e participa de uma série de mecanismos intra e extracelular (Aktan, 2004) e também desempenha um papel importante como molécula de sinal, como um agente citotóxico ou molécula efetora para regular resposta da imunidade inata (Berendji et al., 1999). Dessa forma o excesso de zinco pode ter causado um desequilíbrio e inibido ou retardado todo esse processo (Aktan, 2004).

Em conclusão no presente estudo, verificou-se que a suplementação de zinco acima dos níveis recomendados para dietas de frangos de corte até 35 dias de idade influencia negativamente a produção de peróxido de hidrogênio e de óxido nítrico por macrófagos peritoneais, em aves desafiados ou não com o lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. Os melhores resultados para resposta imunológica primária foram obtidos com a suplementação de 81,3; 71,5; 65 ppm de zinco nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente. Pode-se dizer que a suplementação de 139% de zinco da exigência preconizada por Rostagno et al. (2011) aumenta a atividade da glutatona peroxidase no soro, bem como aumenta o teor de zinco no fígado das aves.

4. Referências Bibliográficas

- Aktan F, iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. 2004. *Life Scien.*, 75, p. 639-653.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16 ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.
- Avalos, I.; Chung, C.P.; Oeser, A.; Milne, G.L.; Morrow, J.D.; Gebretsadik, T.; ShintanI, A.; Yu, C.; Stein, C.M. 2007. Oxidative stress in systemic lupus erythematosus: relationship to disease activity and symptoms. *Lupus*, v.16, n.3, p.195-200.
- Bartlett, J. R.; Smith M. O. 2003 Effects of different levels of zinc on the performance and immune competence of broilers under heat stress. *Poult. Scien.* v. 82, p. 1580–1588.
- Berendji D., Kolb-Bachofen V., Zipfel P. F., Skerka C., Carlberg C. e Kröncke K. D. 1999. Zinc finger transcription factors as molecular targets for nitric oxide-mediated immunosuppression: Inhibition of IL-2 gene expression in murine lymphocytes. *Mol. Med.* 5:721-730.
- Cunningham-Rundles, S. (1993) Nutrient Modulation of the Immune Response, p.131-135, in: *Roles for Zinc in Oxygen Burst*.
- Feng, J.; Ma, W. Q.; Niu, H. H.; Wu, X. M.; Wang, Y. 2011. Effects of zinc glycine chelate on growth, hematological, and immunological characteristics in broilers. *Biolog. Trac. Elem. Res.*, v. 142, p. 431-439.
- Garcia-Neto, M; Perri, S. H. V., 2015. PPM: Programa Prático de modelagem. Disponível em: <https://sites.google.com/site/programapraticodemodelagem/>. Acesso em 07/12/2016.
- Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R., 1982. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* 126, 131–138.

- Heckert R. A.; Estevez, I.; Russek-Cohen, E.; Pettit-Riley, R. 2002. Effects of density and perch availability on the immune status of broiler. *Poult. Scien.*, Champaign. V.81, p.451-45.
- Henry, P. H.; Longo, D. L. Linfadenopatia e esplenomegalia. In: HARRISON, T. R.; FAUCI, A. S. 1998. *Harrison, medicina interna*. 14a ed. Rio de Janeiro: Macgraw Hill.
- Huang, J., et al. 2008. Expression analysis of rice A20/AN1-type zinc finger genes and characterization of ZFP177 that contributes to temperature stress tolerance. *Gene*. 420, 135–144.
- Neves, R. C.F.; Moraes, P. M.; Saleh, M. A. D.; Loureiro, V. R.; Silva, F. A.; Barros, M. M.; Padilha, C. C. F.; Jorge, S. M. A.; Padilha, P. M. 2009. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chemistry*. 113, 679- 683.
- Jones D.P. 2006. Disruption of mitochondrial redox circuitry in oxidative stress. *Chem.-biolog. Interact.*, v.163, n.1-2, p.38-53.
- Kumar, A. C., Ramana, J. V., Prasad, J. R., Sudheer, S. D., Reddy, S. P., Shakeela, S. 2012. Dietary Supplementation of Zinc Sulphate and Zinc-Methionine: Changes in Levels of Mineral Composition (Copper, Zinc, Iron and Manganese) in Various Organs of Broilers. *Jour. of Anim. Product. Adv.*, v. 2, p. 409-419.
- Medeiros, L. G.; Oba, A.; Shimokomaki, M.; Pinheiro, J. W.; Silva, C. A.; Soares, A. L.; Pissinati, A.; Almeida, M. 2012. Desempenho, características de carcaça e qualidade de carne de frangos de corte suplementados com selênio orgânico. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, p. 3361-3370.
- Morgulis, M. S. *Imunologia Aplicada*. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZÁLEZ, E. 2002. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 231-245.

- Muniz J. N., Ruffino-Netto A., Yamamura M., Villa T. C. S., Arcencio R. 2006. Aspectos epidemiológicos da coinfeção tuberculose e vírus da imunodeficiência humana em Ribeirão Preto (SP), de 1998 a 2003. *J. Bras. Pneumol.*, 32(6):529-34.
- Pick, E.; Mizel, D. 1981. Rapid microassay for measurement of superoxide and hydrogen Peroxide produced by macrophages in culture using an automatic enzyme Immunoassay reader. *Jour. of Immunol. Meth.*, v. 46, p. 211-226.
- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L. et al. 2011. Tabelas brasileiras para Aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2.ed. Viçosa: Horácio Santiago Rostagno, 252p.
- Russo, M.; Teixeira, H.C.; Marcondes, M.C. 1989. Superoxide-independent Hydrogen peroxide release by macrophages. *Brazil. Jour. of Med. and Biolog. Res.*, v. 22, p. 1271-1273.
- Sajadifar, S. 2013. Effect of dietary zinc level of zinco on performance and cecal lesion score in broilers infested with *Eimeria tenella*. *Arch. Zootech.*, v 16, p. 71-78.
- Shyam Sunder G., Panda, A. K. , Gopinath, N. C. S., Rama Rao S. V., Raju, M. V. L. N., Reddy, M. R., Vijay kumar, CH. 2008 Effects of Higher Levels of Zinc Supplementation on Performance, Mineral Availability, and Immune Competence in Broiler Chickens. *Jour. Appl. Poult.Res.* 17:79–86.
- Sies, H. 1991. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *The Am. Jour. of Med.* v.91, Issue 3, Supplement 3, Pages S31–S38.
- Surh Y.J. Oxidative Stress, Inflammation, and Health. 2005 Packer L. Londres: Taylor & Francis.

CAPITULO IV

IMPLICAÇÕES

- O excesso de zinco pode ocasionar prejuízos metabólicos aos animais a longo prazo. Portanto, a utilização de níveis elevados de zinco e outros minerais bivalentes em dietas para frangos de corte deve ser revista.
- A discrepância de resultados dos estudos com microminerais é decorrente da grande influência desses nutrientes no metabolismo animal e sua ação frente à imunidade e atividade antioxidante.
- Em toda a produção a relação custo/benefício do produto a ser utilizado deve ser considerada. No processo industrial de criação de frangos corte, a ração representa a maior parte do custo total de produção, e apesar de serem utilizados em pequenas quantidades, os minerais são nutrientes onerosos e deve ser levado em consideração suas interações para então fazer o balanço adequado entre eles. Portanto, as rações devem ser formuladas de acordo com a fase de vida do animal a fim de melhorar os índices zootécnicos e atender a exigência nutricional das aves, visando o crescimento e higidez.
- Outro fator a ser considerado para os testes como o presente estudo, são os desafios sanitários, ambientais e de manejo impostos aos animais na indústria. A grande maioria das pesquisas realizadas com aditivos nutricionais como os microminerais é feita em laboratórios de Universidades e centros de pesquisa onde a preocupação com o biossegurança e higienização do local é alta, impedindo assim a observação do real efeito sobre o organismo dos animais.
- Como consideração para novas pesquisas, alunos e pesquisadores devem ter em mente que para se obter resultados efetivos e que expressem o real efeito dos aditivos nutricionais são necessárias reproduções dos mesmos desafios sanitários e ambientais observados na produção de frangos de corte em escala comercial.
- Mais estudos são necessários para elucidar como os microminerais interagem entre si e como influenciam nos sistemas biológicos, principalmente no que se diz do sistema imunológico.