

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO CAMPUS RIO VERDE

DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE
CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA**

Autora: Priscila Paula de Faria

Orientadora: Dr^a. Cibele Silva Minafra

Rio Verde - GO
Novembro – 2020

BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA

Autora: Priscila Paula de Faria

Orientadora: Dr^a. Cibele Silva Minafra

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Zootecnia.

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

F224b DE FARIA, PRISCILA PAULA
BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS
DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA / PRISCILA
PAULA DE FARIA; orientadora CIBELE SILVA MINAFRA. --
Rio Verde, 2020.
80 p.

Dissertação (Mestrado em ZOOTECNIA) -- Instituto
Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

1. cálcio. 2. fatores antinutricionais. 3.
fosfatase alcalina. 4. sangue. 5. tecido ósseo. I.
SILVA MINAFRA, CIBELE, orient. II. Título.



INSTITUTO FEDERAL
Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIIF Goiano
Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Priscila Paula de Faria

Matrícula: 2018202310240010

Título do Trabalho: BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: [] Não [X] Sim, justifique: Este documento foi submetido à publicação.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: 28/01/2023

O documento está sujeito a registro de patente? [] Sim [X] Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? [] Sim [X] Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde _____ 28/01/2021
Local Data

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA

Autora: Priscila Paula de Faria
Orientadora: Cibele Silva Minafra

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração em Zootecnia/Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 30 de novembro de 2020.

Prof^ª. Dra. Christiane Silva Souza
Avaliadora externa
UFRRJ/RJ

Prof^ª. Dra. Ana Paula Cardoso
Gomide
Avaliadora interna
IF Goiano/RV

Prof^ª. Dra. Cibele Silva Minafra
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que permitiu essa oportunidade maravilhosa de crescimento pessoal e profissional. Por ter me dado paciência para conduzir essa caminhada com sabedoria aproveitando cada momento, podendo tirar lições para a vida.

Conheci pessoas incríveis boas de coração e espírito, as quais me estenderam as mãos quando mais precisei ou simplesmente pararam um pouco do seu dia para conversar dando palavras de ânimo e força para continuar.

Não tenho palavras para Prof.^a Dr.^a Cibele Silva Minafra, que viu potencial e confiou na minha capacidade num momento que eu passava por conflito pessoal. Capacitou-me e orientou, fez acreditar que terminaria com êxito e que poderia ir além. Pessoas como ela são raridades, precisam ser reconhecidas e admiradas. Emanam luz, paz e sabedoria permitindo não apenas crescimento acadêmico, mas crescimento pessoal.

À coordenadora Prof. Dr.^a Ana Paula Cardoso Gomide, que foi amiga nos momentos difíceis e me apoiou permitindo que novos caminhos fossem possíveis. Pelo exemplo de pessoa e profissional a seguir, sendo sempre muito ética e agradável.

Ao Prof. Dr. Marco Antônio Pereira da Silva, que ensinou sobre pesquisa e técnicas para escrita científica. É uma pessoa muito dedicada e exigente, merece todo respeito. Adquiri crescimento pessoal ao lado dele.

Ao meu pai Dr. Alcione Nunes de Paula e a Dra. Maria Aparecida de Oliveira, que mesmo precisando muito da minha presença, permitiram que eu me ausentasse de muitas obrigações para que esse mestrado pudesse ser concluído, agradeço a compreensão e o amor de vocês.

À minha mãe Rosimeire, minha filha Alícia Paula, meus irmãos Amanda, Ana Paula e Teófilo, pelo apoio e compreensão por ter me ausentado de momentos de lazer e comunhão em família.

Ao meu namorado Leonardo, pela paciência, por compreender a minha ausência, pelo apoio e cuidado comigo.

A equipe do Laboratório de Bioquímica e Metabolismo Animal (LABMA) formada por Lorryne Moraes, Janaína Borges, Stéfane Alves, Karine Oliveira, Elísio Marques pela amizade e auxílio técnico.

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação e Mestrado em produção animal, em especial Thiago, Robério e Jean por começarmos e finalizarmos a caminhada juntos com companheirismo, respeito e amizade.

Aos professores do programa de pós-graduação em zootecnia do Instituto Federal Goiano Campus – Rio Verde: Katia Cylene, Adriano, Karen e Tiago pelos conhecimentos transmitidos durante esses dois anos de mestrado.

Ao Instituto Federal Goiano, por ter me concedido a oportunidade de ampliar meus conhecimentos e poder conquistar o título de Mestre em Zootecnia.

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de mestrado que possibilitou a concretização do meu objetivo.

“Os que confiam no Senhor recebem sempre novas forças. Voam nas alturas como águias, correm e não perdem as forças, andam e não se cansam.”

Isaías – Bíblia Sagrada

BIOGRAFIA DO AUTOR

Priscila Paula de Faria, filha de Alcione Nunes de Paula e Rosimeire Silva Faria. Nascida em 31 de julho de 1984 na cidade de Rio Verde – Goiás. Iniciou sua formação profissional ao ingressar no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Mato Grosso, concluindo seus estudos em 2009. Dedicando a vida profissional na área de clínica de pequenos animais, em 2017 finalizou a Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais pela Universidade Castelo Branco, pelo Instituto Qualittas de Pós-Graduação. Atuou na área de Medicina Veterinária com ênfase em Patologia Clínica Animal e Anestesiologia. No segundo semestre de 2018, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, campus Rio Verde, concluindo em novembro de 2020.

SUMÁRIO

	Pág.
CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Quirera de soja.....	17
2.2. Fatores antinutricionais da soja crua.....	17
2.2.1. Inibidores de proteases.....	18
2.2.2. Lipoxigenases.....	20
2.2.3. Lectinas.....	21
2.2.4. Saponinas.....	22
2.2.5. Glicosídeos cianogênicos.....	22
2.2.6. Proteínas alergênicas.....	23
2.2.7. Taninos.....	24
2.2.8. Ácido fítico ou fitato.....	26
2.2.9. Oligossacarídeos.....	27
2.2.10. Alcaloides.....	28
2.2.11. Urease.....	28
2.3. Enzimas na alimentação de frangos de corte.....	29
2.3.1. Protease.....	30
2.4. Tecido ósseo.....	31
2.4.1. Células do tecido ósseo.....	33
2.4.2. Matriz extracelular.....	34
2.4.3 Formação e crescimento ósseo.....	36
2.4.4. Mineralização óssea.....	37
2.4.5. Fatores que influenciam o desenvolvimento e a resistência óssea.....	39
2.5. Bioquímica dos minerais.....	41
2.5.1 Cálcio.....	42
2.5.2. Fósforo.....	43
2.5.3. Fosfatase Alcalina ALP ou FA.....	43
3. REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO II - BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA	

1. INTRODUÇÃO.....	54
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
2.1.Local e animais.....	56
2.2.Delineamento e tratamentos experimentais.....	56
2.3.Perfil bioquímico do sangue.....	59
2.4.Biometria dos ossos tíbias e fêmures.....	59
2.5.Análise estatística.....	59
3. RESULTADOS.....	60
4. DISCUSSÃO.....	73
5. CONCLUSÃO.....	76
6. REFERÊNCIAS.....	77

Índice de tabelas

	Pág.
Tabela 1. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das dietas 0, 3, 6, 9 e 12% de quirera de soja da fase pré-inicial, inicial, crescimento e final.....	59
Tabela 2. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos sete dias de idade.....	61
Tabela 3. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 14 dias de idade.....	62
Tabela 4. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 21 dias.....	63
Tabela 5. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 42 dias.....	64
Tabela 6. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos sete dias.....	65
Tabela 7. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 14 dias.....	66
Tabela 8. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 21 dias.....	67
Tabela 9. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 42 dias.....	68
Tabela 10. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 7 dias.....	69
Tabela 11. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 14 dias.....	70
Tabela 12. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 21 dias.....	71
Tabela 13. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de quirera de soja e protease aos 42 dias.....	72

Índice de figuras

	Pág.
Figura 1. Estrutura primária do inibidor de tripsina da soja tipo Bowman-Birk.....	20
Figura 2. Estrutura química do tanino hidrolisável, constituído de um açúcar ligado a radicais, representado aqui pelo ácido gálico.....	26
Figura 3. Estrutura química do tanino condensado.....	26
Figura 4. Estrutura química do fitato.....	28

Lista de símbolos, siglas, abreviações e unidades

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma
Ca	Cálcio
Comp	Comprimento
FA	Fosfatase alcalina
G	Gramas
IS	Índice de seedor
Kcal	Quilocaloria
KOH	hidróxido de potássio
Mg	Miligrama
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
P	Fósforo
PB	Proteína bruta

RESUMO

FARIA, Priscila Paula de Faria. Bioquímica sanguínea e biometria óssea de frangos de corte alimentados com quirera de soja. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Goiás, Brasil, 2020. 80p.

Objetivou-se avaliar o efeito de níveis crescentes de quirera de soja em substituição ao farelo de soja, com e sem protease sobre a correlação do perfil bioquímico dos minerais e biometria óssea de tíbia e fêmur em frangos de corte. Foram utilizadas 500 aves da linhagem Cobb[®], níveis de 0, 3, 6, 9 e 12% de quirera de soja e protease, durante o período experimental de 42 dias. O delineamento foi inteiramente ao acaso, sendo dez tratamentos e cinco repetições contendo dez aves por repetição. Os tratamentos consistiram na substituição do farelo de soja por quirera de soja, com e sem adição da enzima protease nas rações à base de milho e farelo de soja. Foram determinados os níveis de cálcio (Ca), fósforo (P) e fosfatase alcalina (FA) no sangue e análise da biometria da tíbia e fêmur e suas correlações sobre as fases de sete, 14, 21 e 42 dias de idade. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa R quando o teste F foi significativo, foi aplicada a análise de regressão polinomial, a 5% de probabilidade. Os níveis de quirera de soja afetaram significativamente ($p < 0,05$) tanto as concentrações sanguíneas do cálcio e fósforo quanto o peso da tíbia e fêmur para todas as fases crescimento. Concluiu-se que a utilização de até 3% da quirera de soja em substituição ao farelo de soja na alimentação de frangos de corte pode ser utilizado sem causar problemas na absorção de cálcio e fósforo. Porém, a partir de 6% de quirera de soja, houve influência negativa comprovada pelas alterações séricas dos minerais e pelo aumento da fosfatase alcalina indicando que houve remodelamento ósseo. O índice de Seedor apresentou redução significativa com níveis crescentes de quirera, acarretando a redução da densidade óssea levando a formação de ossos frágeis gerando problemas locomotores e consequente perdas econômicas na produção.

Palavras-chave: cálcio, fatores antinutricionais, fosfatase alcalina, sangue, tecido ósseo

ABSTRACT

FARIA, Priscila Paula de Faria. Blood biochemistry and bone biometry of broilers fed with ground soybean coproduct. Dissertation (MSc in Animal Science), Instituto Federal Goiano (Goiano Federal Institute), Rio Verde Campus, Goiás, Brazil, 2020. 80p.

The objective of this study was to evaluate the effect of increasing levels of soybeans in substitution to soybean meal, with and without protease on the correlation of the minerals biochemical profile and bone biometry of tibia and femur in broilers. A total of 500 birds of the Cobb® line fed with levels of 0, 3, 6, 9 and 12% of soybean and protease were used during the 42-day experimental period. The design was completely randomized, with ten treatments and five repetitions containing ten birds per repetition. The treatments consisted of replacing soybean meal by grind whole soybean, with and without the addition of the protease enzyme in diets based on corn and soybean meal. The levels of calcium (Ca), phosphorus (P) and alkaline phosphatase (FA) in the blood were determined as well as the analysis of the tibia and femur biometrics and their correlations over the seven, 14, 21 and 42 days of age. The results were submitted to analysis of variance by the R program when the F test was significant, polynomial regression analysis was applied, at 5% probability. The levels of grind whole soybean significantly affected ($p < 0.05$) both the blood concentrations of calcium and phosphorus and the weight of the tibia and femur for all growth phases. It was concluded that the use of up to 3% of the grind whole soybean replacing soybean meal in broiler chickens can be used without causing problems in the absorption of calcium and phosphorus. However, from 6% of soybeans, there was a negative influence, confirmed by the serum alterations of minerals and by the increase in alkaline phosphatase, indicating that there was bone remodeling. The Seedor index showed a significant reduction with increasing levels of grind whole soybean, which leads to a reduction in bone density producing fragile bones, generating locomotor problems and consequent economic losses in production.

Keywords: antinutritional factors, alkaline phosphatase, blood, bone tissue, calcium

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de carne de frango possui papel de destaque no cenário mundial. Em 2019 produziu 13,245 milhões de toneladas ficando em terceiro lugar. Desta produção foi destinado para o consumo interno 68% e ao mercado internacional 32%, atingindo o primeiro lugar em exportação a nível mundial. Os brasileiros também aumentaram o consumo per capita para a carne avícola de 41,99 quilos/ano em 2018, para 42,84 quilos/ano em 2019 (ABPA, 2019).

Os programas de melhoramento genético induziram ao aumento da produção avícola, pois permitiram que frangos fossem comercializados mais pesados em menos tempo. O peso vivo aumentou e a idade ao abate reduziu nas últimas décadas (ALVES; URPIA, 2017).

Para Araújo et al. (2012) o desenvolvimento do tecido ósseo não tem acompanhado estes processos fisiológicos, aumentando assim a incidência de problemas de pernas e fragilidade do osso. Além da genética, a alimentação inadequada e a presença de fatores antinutricionais na ração, podem influenciar no metabolismo ósseo diminuindo a resistência óssea e trazendo problemas locomotores.

Os problemas locomotores são observados com maior frequência na metade final do crescimento e são atribuídos na maioria dos casos pelo aumento de ganho de peso e do desenvolvimento desproporcional do músculo do peito que cria um desbalanço esquelético biomecânico. Isto resulta em animais com baixo desempenho, rejeição de carcaça, aumento da mortalidade e redução na eficiência da produção comercial (LOPES, 2009).

Estes problemas são preocupantes para a indústria avícola, principalmente pelo comprometimento do bem-estar animal, prejuízos e transtornos causados durante o transporte, abate e processamento da carne (ONO et al., 2017).

Segundo Procópio (2020) problemas com a qualidade das carcaças resultam em condenações, que podem ser parciais ou totais, e acarreta perdas significativas para o setor. A condenação total pode ser por fatores operacionais ao longo do processo produtivo ou fatores patogênicos. Por isso, é importante o conhecimento da causa para que haja prevenção e consequente diminuição das perdas econômicas.

A alimentação é um fator determinante na produção animal e representa grande parte dos custos na produção avícola. O uso de coprodutos agroindustriais na alimentação animal representa alternativa viável, tanto no enfoque nutricional como econômico. Estudos vêm sendo desenvolvidos

objetivando a diminuição dos custos de produção com redução do preço final do frango de corte ao consumidor, trazendo também benefícios ao meio ambiente (LOPES, 2009).

O uso de resíduo de limpeza de soja pode ser uma alternativa para muitos criadores em substituição ao farelo de soja nas rações, que apresenta preço elevado pela grande utilização para aves e suínos (CAÇÃO et al., 2014).

Todavia, a sua utilização na avicultura deve ser avaliada, devido à concentração de compostos fenólicos e a presença dos fatores antinutricionais que podem interferir no aproveitamento das proteínas e dos demais nutrientes das dietas pelo animal, além de desencadear efeitos fisiológicos não desejados, resultando em inibição de crescimento, hipoglicemia, flatulência ou danos a tecidos como pâncreas ou fígado. Os mais evidenciados são os inibidores de proteases, as pectinas, proteínas alergênicas, taninos e saponinas. (LIMA et al., 2015).

Os taninos representam o grupo mais importante de polifenóis na nutrição animal, em função dos efeitos deletérios no aproveitamento das rações e no desempenho produtivo dos animais. Em monogástricos os taninos condensados afetam o valor nutricional dos alimentos, como consequência da formação de complexos com as proteínas da dieta, com carboidratos e outros nutrientes. Atuam inibindo a atividade de várias enzimas digestivas, pela diminuição da absorção de outros nutrientes através da parede celular, pela formação de complexos com íons divalentes de metais e pela erosão de células epiteliais do intestino. Inibem enzimas relacionadas com a digestão de carboidratos (α -amilase, α -glicosídeos), de lipídios (lipase pancreática e gástrica) e de proteínas (tripsina e proteases diversas) (CASTEJON, 2011).

Os fatores antinutricionais podem ser modificados ou reduzidos por diferentes métodos de processamento, como aquecimento, aplicação de enzimas, irradiação, fermentação, métodos mecânicos como descasque e moagem, processamento de alta pressão, micro-ondas e extrusão (NIKMARAM et al., 2017).

A suplementação enzimática é uma opção nutricional que tem auxiliado na promoção de melhor desempenho das aves. A adição de proteases em dietas para frangos de corte aumenta a disponibilidade de aminoácidos melhorando o valor nutricional por meio da hidrólise de determinados tipos de proteínas que resistem ao processo digestivo das aves. Permite o melhor aproveitamento das proteínas, com a liberação de peptídeos e aminoácidos, melhorando a energia metabolizável das rações, aprimorando o desempenho zootécnico dos animais e reduzindo o custo de produção (MENEGETTI et al., 2011).

A nutrição desempenha papel essencial para a obtenção de um tecido ósseo de alta qualidade. Dentre os nutrientes o cálcio (Ca) e fósforo (P) são os principais formadores da matriz mineral óssea,

contribuindo com 95%. Nas aves, o cálcio é o mineral encontrado em maior quantidade, estando presente quase que em sua totalidade (99%) no tecido ósseo, sendo requerido em quantidade maior que qualquer outro mineral (ARAÚJO et al, 2012).

Do mesmo modo que o cálcio, o fósforo é importante no desenvolvimento ósseo do animal. Juntos formam o principal constituinte da matriz inorgânica, a hidroxiapatita. O cálcio e o fósforo, no organismo interagem de tal forma que a deficiência ou excesso de um deles pode prejudicar a utilização do outro. Assim, a relação Ca:P deve ser mantida dentro do nível adequado (LOPES, 2009).

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima que está ligada, principalmente, ao metabolismo do cálcio e fósforo, participando das atividades condrogênicas e osteoblásticas, sendo um ponto chave no crescimento das aves. O aumento da atividade sérica de FA não se deve ao extravasamento da enzima, mas sim a maior produção celular (RAJMAN et al., 2006).

Dessa forma, os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo são substâncias importantes, são capazes de medir a atividade dos osteoblastos e osteoclastos, informando sobre a formação e reabsorção óssea. Essa avaliação auxilia na prevenção de fraturas decorrentes da perda de massa óssea (LOPES, 2009).

Os estudos sobre a utilização de quirera de soja na alimentação animal ainda são escassos, mas o aumento no incentivo de pesquisas neste segmento pode surgir trazendo benefícios à saúde animal, ao custo de produção e ao impacto ambiental.

Portanto, objetivou-se avaliar o efeito de níveis crescentes de quirera de soja em substituição ao farelo de soja, com e sem protease sobre a correlação do perfil bioquímico dos minerais e biometria óssea de tíbia e fêmur em frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Quirera de Soja

Na avicultura, existe o interesse contínuo por ingredientes alternativos que possam ser incorporados como parte das rações dos frangos de corte, sem comprometer o desempenho e que sejam capazes de reduzir ou manter os custos das rações (VELA, 2016).

A quirera de soja é oriunda do resíduo da limpeza da soja, é o material que resta da pré-limpeza da soja, após a recepção na indústria de grãos, justificando a presença de terra, pequenos insetos, casca de soja, pequenos grãos de soja e grãos quebrados. A utilização do resíduo de limpeza da soja tem sido empregado por produtores como alternativa para redução dos custos com a alimentação para os animais, em substituição ao farelo de soja que possui valor superior (CAÇÃO et al., 2014).

O resíduo da pré-limpeza de soja é encontrado em grande quantidade no pátio das indústrias de beneficiamento e dos secadores das fazendas, acarretando sérios transtornos caso não seja removido para locais mais afastados, antes que o processo de fermentação se inicie. Pelo fato de ser um material com considerável valor nutritivo esse resíduo vem se destacando como fonte alternativa na alimentação animal (PATUSSI et al., 2011).

Segundo Cação et al. (2014), o resíduo de limpeza da soja possui 90% de matéria seca, 32% de proteína bruta, 11% de extrato etéreo, 8% fibra bruta e 85% de nutrientes digestíveis totais.

A quirera de soja, usada como fonte alternativa de proteína destinada à nutrição animal, enfrenta algumas problemáticas, entre elas, os fatores antinutricionais que estão associados a menor qualidade proteica, menor metabolizabilidade dos nutrientes e baixa aceitação por parte dos animais (GOUVEIA et al., 2020).

Os resíduos da produção agrícola e da agroindústria necessitam de estudos para serem bem aproveitados na alimentação dos animais domésticos. Devido à necessidade de se fornecer alimentos alternativos e viáveis economicamente, aos animais, sem concorrer diretamente com alimentação humana e que o destino destes resíduos seja ambientalmente correto.

2.2 Fatores antinutricionais da soja crua

A soja *Glycine max* (L.) desempenha papel importante na alimentação de aves e suínos. Contudo, o valor nutricional do grão e seus subprodutos pode ser inferior ao esperado pela presença de fatores antinutricionais (FANs). Esses fatores atuam como antagonistas diretos, ou indiretos dos nutrientes presentes no grão, restringindo a inclusão da soja *in natura* na dieta, principalmente de animais jovens (GOUVEIA et al., 2020).

Na planta os FANs são capazes de transportar e armazenar certos nutrientes, de proteger a planta contra os raios ultravioleta e de atrair agentes polinizadores e dispersores de sementes. Porém, sua função de destaque é a defesa ao ataque de insetos herbívoros e patógenos (GOUVEIA et al., 2020).

O termo FANs é empregado para descrever compostos ou classes de compostos presentes em diversos alimentos de origem vegetal, que após serem ingeridos diminuem o valor nutricional, podendo prejudicar a digestibilidade, absorção e aproveitamento dos nutrientes. Quando ingeridos exercem efeitos deletérios sobre a saúde e produtividade dos animais. Esses efeitos podem variar de subclínicos a manifestações clínicas evidentes de toxicidade. Os efeitos no animal dependem das características físico-químicas dos FANs e do grau de interação destes com os tecidos e enzimas endógenas do animal (NIKMARAM et al., 2017).

Os FANs podem ser classificados de acordo com sua aptidão em resistir aos processamentos térmicos. Os termolábeis que são os inibidores de protease, fitatos, lectinas, antivitaminas e os termoestáveis que são as saponinas, os oligossacarídeos e taninos. Podem também serem divididos pelo modo de ação em quatro grupos: substâncias que comprometem a digestão e utilização dos nutrientes, como os inibidores de proteases, taninos e lectinas; substâncias que alteram a utilização dos minerais, como o fitato e oxalatos; as antivitaminas que inativam ou inibem a função de uma vitamina como cofator enzimático; e substâncias diversas, como glicosídeos cianogênicos, saponinas, alcaloides e oligossacarídeos capazes de causar alergias ou hipersensibilidade (SOUZA et al., 2019).

2.2.1 Inibidores de Proteases

Os inibidores de proteases (IPs) são proteínas encontradas nas sementes de cereais, leguminosas e solanáceas. Representam de 5 a 15% da proteína total, concentrando-se, principalmente nos cotilédones e no endosperma da soja e do milho, respectivamente. Atuam como proteína de armazenamento que protege a planta contra proteinases microbianas e também para regular as proteinases endógenas nas plantas (VAGADIA et al., 2017).

São compostos proteicos que se complexam com a tripsina, quimotripsina e carboxipeptidase, enzimas proteolíticas pancreáticas formando compostos de difícil dissociação que prejudicam a digestão de proteínas. Esses inibidores são os principais fatores antinutricionais presentes na soja crua (JARDIM, 2019).

Os inibidores de tripsina podem ser classificados em 2 grupos principais: inibidores do tipo Kunitz e inibidores do tipo Bowman-Birk. O primeiro se liga com uma molécula de tripsina em

ativação de zimogênios e transporte transmembrana. Estas contêm um íon metálico (Zn^{+2} , Ca^{+2} , Mn^{+2}), ou um único resíduo de aspartato, cisteína ou serina no sítio ativo e são encontradas no fígado, esperma (acrosina), pele e mastócitos (CORTÉS, 2012).

A inativação da tripsina e quimotripsina aumentam a secreção de enzimas pancreáticas no trato gastrointestinal por meio de um feedback negativo. Com o aumento da atividade metabólica do pâncreas para elevar a produção de enzimas ocorre consequente hipertrofia desse órgão. O aumento da atividade metabólica em órgãos viscerais, como o pâncreas, aumenta o gasto de energia influenciando negativamente no desenvolvimento do animal. Assim, os inibidores de tripsina podem reduzir a digestibilidade dos nutrientes e a taxa de crescimento de porcos e aves ao se ligar a tripsina e a quimotripsina (WOYENGO et al., 2017).

A liberação da tripsina pelo pâncreas é mediada pela colecistoquinina, portanto, o inibidor de tripsina aumenta a produção de colecistoquinina. A colecistoquinina atua inibindo a ingestão de ração, sendo assim, o inibidor de tripsina da dieta pode reduzir a ingestão voluntária de ração através do aumento da produção de colecistoquinina. Os inibidores de tripsina também reduzem a digestibilidade dos aminoácidos (AA), levando a baixa disponibilidade ou ao fornecimento desequilibrado de AA aos animais. A absorção de AA de forma inadequada leva a redução da ingestão voluntária de alimentos (WOYENGO et al., 2017).

Os inibidores de tripsina presentes na soja afetam o processo de digestão, absorção e metabolismo de nutrientes, como os aminoácidos essenciais presentes no alimento, podendo complexar com proteases pancreáticas, limitando a atividade enzimática na porção inicial do intestino delgado. Diante desta situação, o pâncreas aumenta a secreção enzimática gerando aumento no tamanho do órgão (HEGER et al., 2016).

O efeito antinutricional causado pelos inibidores de tripsina pode ser desativado por métodos de processamentos que incluem tratamentos físicos, químicos e enzimáticos em diferentes condições de temperatura e tempo (VAGADIA et al., 2017).

2.2.2 Lipoxigenases

Nas sementes maduras de soja são observados três principais lipoxigenases (LOX), LOX-1 (lipoxigenase-1), LOX-2 (lipoxigenase-2) e LOX-3 (lipoxigenase-3). A soja também contém alta quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, predominantemente ácido linoleico (C18: 2) a cerca de 50% e ácido linolênico (C18: 3) até 11% (WANG et al., 2019).

As LOXs catalisam a oxidação de ácidos graxos insaturados e produz hidroperóxidos conjugados, que são convertidos em compostos carboxílicos voláteis como aldeídos, cetonas e

álcoois. Responsáveis pela característica do sabor amargo da soja. A farinha de soja com gordura total é especialmente propensa a essa deterioração e tem sabor desagradável difícil de mascarar (WANG et al., 2019).

A concentração de LOX é influenciada pelas variações genotípicas entre cultivares, as condições climáticas durante a germinação e desenvolvimento e pela presença de outros FANs na semente. Estão envolvidas na biossíntese de compostos regulatórios necessários para o crescimento e senescência da planta, como a traumatina e o ácido jasmônico (SOUZA et al., 2019).

2.2.3 Lectinas

Existem vários tipos de lectinas, a encontrada na soja é a do tipo aglutinina que apresenta principalmente alta capacidade de aglutinar hemácias. Essas aglutininas são glicoproteínas que se ligam especificamente a *N*- acetil-galactosamina ou galactose, cada subunidade possui uma cadeia oligossacarídica ligada covalentemente. É mais estável do que as outras lectinas de leguminosas por causa do grande número de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre os dois monômeros da molécula (PAN et al., 2018).

Essas glicoproteínas são tetraméricas e se acumulam durante a embriogênese, possuem peso molecular de 120 kDa, são classificadas em cinco grupos de acordo com o monossacarídeo pelo qual exibem a maior afinidade (CORTÉS, 2012).

Devido à estabilidade da estrutura das aglutininas da soja, pode resistir à degradação das enzimas presentes no duodeno e jejuno, neste local são capazes de destruir as vilosidades intestinais, afetando assim a absorção dos nutrientes, reduzindo a secreção enzimática e aumentando a secreção de muco. Depois de combinar com a superfície intestinal, as aglutininas da soja podem adentrar as células da mucosa intestinal e chegar na corrente sanguínea, levando a ampla gama de efeitos antinutricionais sistêmicos como a capacidade de aglutinar as hemácias dos animais (YASOTHAI, 2016).

Nas plantas as lectinas estão envolvidas no armazenamento e transporte de carboidratos nas sementes, no crescimento das plantas, na ligação de bactérias fixadoras de nitrogênio à raiz, na inibição do crescimento de fungos e nos mecanismos de defesa contra insetos fitófagos. Essas proteínas atuam como agentes de defesa contra predadores e patógenos. Uma característica essencial de um agente de defesa ativo é a capacidade de reconhecer especificamente o patógeno (CASAS et al., 2016).

A literatura destaca que, quando consumidas por aves e ratos as lectinas causam mudanças dramáticas na morfologia celular. Estas mudanças incluem: alteração da proliferação e *turnover* dos

enterócitos, rompimento da membrana de borda em escova e redução a área absorptiva superficial. Entretanto, a magnitude dos efeitos deletérios exercidos pelas lectinas também depende do status sanitário do animal, da composição da dieta e das características físico-químicas da lectina (CORTÉS, 2012).

2.2.4 Saponinas

As saponinas são glicosídeos esteroidais presentes nas leguminosas e em algumas plantas usadas como especiarias. São caracterizadas por apresentarem sabor amargo e capazes de formar complexos insolúveis de difícil digestão. Na soja podem-se encontrar teores de 0,46 a 0,50% de saponinas (LIMA et al., 2015).

A soja *in natura* contém três tipos de saponinas: α g, β a e β g. Estas substâncias formam complexos insolúveis com 3- β -hidroxiesteróides e interferem com a absorção de lipídeos, colesterol, sais biliares e vitaminas lipossolúveis presentes na dieta. Além disso, são capazes de lisar hemácias e reduzir a digestibilidade da proteína através da formação de complexos com proteínas da dieta (SOUZA et al., 2019).

Seus efeitos antinutricionais estão relacionados com as modificações na permeabilidade da mucosa intestinal, inibindo o transporte de alguns nutrientes. São hidrolisadas pela microbiota do ceco de frangos e camundongos dando origem as sapogeninas e açúcares. Esses por sua vez inibem o transporte ativo de nutrientes e alteram a permeabilidade da mucosa do intestino delgado, resultando em penetração de bactérias e macromoléculas como toxinas (LIENER, 1994).

As saponinas possuem ação adjuvante e está relacionada com as cadeias ramificadas de açúcar, resíduos acila e grupos aldeído. A cadeia principal da aglicona e as cadeias laterais do açúcar são responsáveis pela atividade adjuvante das saponinas (NAVEED et al., 2020).

Atualmente, saponinas triterpenoides derivadas de plantas estão sendo estudadas como adjuvantes de vacina, pois possuem capacidade de mediar respostas imunes celulares e humorais (NAVEED et al., 2020).

2.2.5 Glicosídeos cianogênicos

Os glicosídeos cianogênicos são metabólitos secundários derivados de aminoácidos que estão presentes em várias plantas, incluindo o sorgo, mandioca, linhaça e soja. Servem como agentes protetores da planta. Assim como os glucosinolatos, os glicosídeos cianogênicos são encontrados nos tecidos das plantas próximos à β -glucosidase, a enzima que degrada os glicosídeos cianogênicos (WOYENGO et al., 2017).

A ruptura do tecido da planta por processos como a mastigação resulta na degradação da β -glicosidase em cianeto de hidrogênio que é tóxico. O cianeto de hidrogênio produz um tipo único de odor que impede os herbívoros de consumir plantas ou produtos vegetais que contêm essa molécula. Além disso, o cianeto de hidrogênio é amargo e pode ligar e inativar várias metaloenzimas, incluindo o citocromo C oxidase, que está envolvido no metabolismo do oxigênio podendo levar à hipóxia (WOYENGO et al., 2017).

O processamento comercial do grão, como a trituração e o dano mecânico ocasionados pela ação de insetos herbívoros, libera a enzima e promove a degradação dos glicosídeos cianogênicos, armazenados em compartimentos celulares diferentes, liberando substâncias tóxicas como cianeto de hidrogênio, nitrilos e goitrinas (CORTÉS, 2012).

Nos animais a desintoxicação do cianeto de hidrogênio é realizada pelo fígado e rins, portanto o seu excesso pode aumentar e ou necrosar esses órgãos.. O aumento da ingestão de cianeto de hidrogênio por frangos de corte de 0,02 a 0,17 mg / ave / dia através da inclusão de mandioca descascada em dietas formuladas com um teor semelhante de fibra reduziu o ganho de peso corporal, a ingestão de alimentos e a contagem de glóbulos vermelhos (AKAPO et al., 2014). A ingestão de cianeto de potássio por codornas a 3,0 mg / ave / dia resultou em vacuolação tóxica de hepatócitos (ROCHA; SILVA, 2010).

Estes compostos agem como agentes antitireoidianos, ou seja, interferem no tamanho, estrutura e função da glândula tireóide, inibindo a síntese e secreção dos hormônios tireoidianos, prejudicando a eficiência alimentar e o ganho de peso. Entretanto, estes compostos são suscetíveis à hidrólise microbiana do TGI e seus efeitos deletérios podem ser reduzidos pela interação com outros FANs presentes, como os taninos (CORTÉS, 2012).

2.2.6 Proteínas alergênicas

As proteínas antigênicas são representadas pelas proteínas glicinina e β -conglucina. A antigenicidade é determinada pela sua estrutura. Diferentes grupos funcionais na cadeia polipeptídica e a composição especial de aminoácidos formam a base da antigenicidade da proteína. Estas proteínas causam atrofia das vilosidades e provocam reação de hipersensibilidade nas microvilosidades do intestino delgado reduzindo a capacidade de absorção dos nutrientes (YIN et al., 2019).

A glicinina (11S) é a proteína de reserva predominante na soja, apresenta-se como hexámero de peso molecular entre 320 a 375 kDa e pode conter até cinco subunidades. Cada subunidade é composta por um polipeptídio ácido (~35 kDa) e um polipeptídio básico (~20 kDa) ligados por uma ponte dissulfeto. As glicinas podem ser classificadas em dois grupos segundo sua sequência

aminoacídica. O grupo I contém maiores quantidades de metionina, seis a sete resíduos por subunidade e o grupo II contém de dois a cinco resíduos de metionina. Do ponto de vista nutricional, a glicinina é a fração mais disponível e contém de três a cinco vezes mais AAS em relação à β -conglucina (CORTÉS, 2012).

A antigenicidade da β -calicininina é determinada pela sua estrutura. Diferentes grupos funcionais na cadeia polipeptídica e a composição especial de aminoácidos formam a base da antigenicidade da proteína. Representa a cerca de 20% a 30% da proteína total da soja. Essa molécula é uma glicoproteína formada pela ligação do grupo amino de cadeia lateral da asparagina com acetilglucosamina através de ligações β -N-glicosídicas para formar o total de três subunidades, α , α' , e β . Um trímero com um peso molecular na faixa de 180 a 200 kDa é formado entre essas subunidades, ligando-se às moléculas de água através de ligações de hidrogênio (YIN et al., 2019).

Nas reação de hipersensibilidade, observa-se alterações fisiológicas e morfológicas a nível de intestino. Essas alterações incluem atrofia dos vilos, maior profundidade de cripta, aumento no número de enterócitos imaturos e, conseqüentemente, diminuição da capacidade absorviva e maior suscetibilidade a doenças entéricas (CORTÉS, 2012).

2.2.7 Taninos

Taninos são compostos polifenólicos solúveis em água, presentes naturalmente em leguminosas podem apresentar peso molecular até 30 kDa. São observados nos tecidos vasculares de folhas, brotos, sementes, raízes e caules. Na soja, o conteúdo de taninos pode variar de 0.88 até 2.06 g/kg por amostra dependendo da variedade e da origem da semente (NIKMARAM et al., 2017).

Esses compostos formam complexos fortes com proteínas e outras macromoléculas, devido a presença de grupos hidroxila-fenólicos que permite a formação de ligações cruzadas estáveis. Em baixas concentrações, contribui para a manutenção das características sensoriais do alimento, como a aparência, cor, sabor, além de proteger seu conteúdo nutricional (CORTÉS, 2012).

Estão presentes em duas formas, hidrolisáveis e condensadas, cada forma tem diferentes efeitos nutricionais e tóxicos. Os taninos hidrolisáveis são unidos por ligações éster-carboxila que são quebradas em condições ácidas ou básicas liberando ácidos fenólicos, gálico, cafeico, elágico e um açúcar, sendo geralmente uma D-glicose, que é a sua unidade estrutural básica (Figura 2). São degradados pelo organismo animal, formando compostos menores que podem entrar na corrente sanguínea e exercer efeitos tóxicos a órgãos como o fígado e rim (LOPES, 2009).

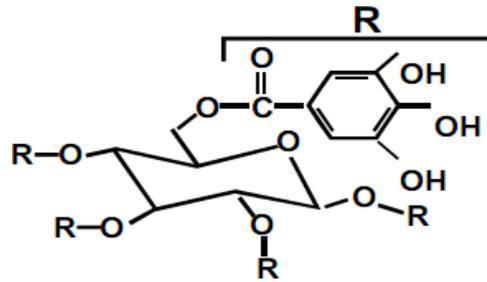


Figura 2 - Estrutura química do tanino hidrolisável, constituído de um açúcar ligado a radicais, representado aqui pelo ácido gálico. Fonte: LOPES 2009.

Nos monogástrico, os taninos hidrolisáveis podem ser absorvidos e metabolizados, pois formam compostos menores que ao entrar na corrente sanguínea são capazes de exercer efeitos tóxicos. São excretados pela via urinária, exigindo a suplementação de enxofre na forma pura ou via aminoácidos como a metionina para excreção dos metabólitos (SOUZA et al., 2019).

Os taninos condensados são polímeros de alto peso molecular, de estrutura complexa, presentes na fração fibra alimentar de diferentes alimentos utilizados na ração animal como sorgo, soja, canola e girassol. São mais resistentes à hidrólise e se não é hidrolisado, não é absorvido durante a digestão. Os efeitos antinutricionais dos taninos incluem interferência na digestão por ligação a proteínas ou minerais. O complexo tanino-proteína é a consequência da formação de múltiplas ligações de hidrogênio entre o grupo hidroxila dos taninos e o grupo carbonila das proteínas (Figura 3). Os taninos tendem a se ligar a proteínas da dieta e enzimas digestivas resultando na formação de complexos que não são facilmente digeríveis (NIKMARAM et al., 2017)

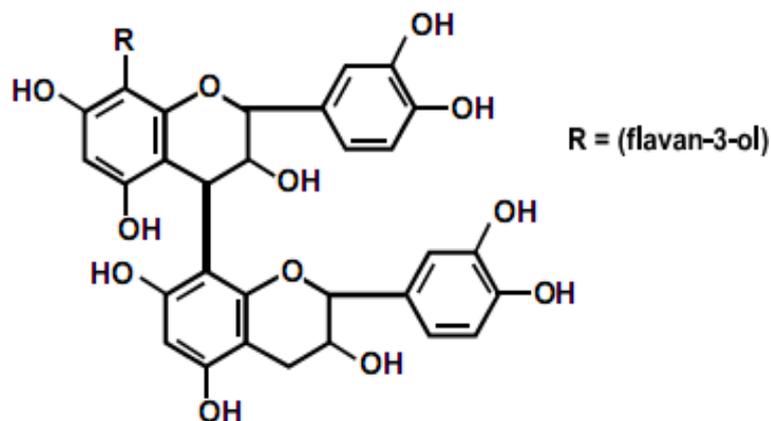


Figura 3 - Estrutura química do tanino condensado. Fonte: LOPES, 2009.

Esses taninos geralmente formam um complexo tanino-enzima que são proteínas capazes de inibir enzimas digestivas, como tripsina, α -amilase e lipase. Assim, os taninos da dieta desencadeiam inúmeros problemas nutricionais, pois reduzem o consumo de ração, o crescimento, o peso dos ovos, a digestibilidade de nitrogênio e proteína. São capazes de influenciar a disponibilidade e absorção de minerais como Ca, P, Mg, Na, K e Fe alterando o processo de formação óssea. Além de outros efeitos como hepatotoxicidade, nefrose tóxica e danos à mucosa intestinal (TOMASZEWSKA et al., 2018).

2.2.8 Ácido fítico ou fitatos

O fitato, também conhecido hexafosfato de mioinositol é a forma de sal do ácido fítico, encontrado em cereais e leguminosas. O ácido fítico faz com que a biodisponibilidade de minerais essenciais diminua e os transforma em compostos insolúveis cuja absorção e digestão é menor no intestino delgado (THAKUR et al., 2019).

Os fitatos são a principal forma de armazenamento de fósforo nas plantas. A presença de fitatos na soja é influenciada pelas características do solo e pelos fatores climáticos. Solos ácidos e baixas temperaturas durante a germinação, presença de óxidos de ferro e alumínio são fatores desfavoráveis para a mineralização do fósforo, produzindo assim baixos níveis de fitato nos grãos. Contrariamente, sojas cultivadas em solos com pH neutro, alto conteúdo de matéria orgânica e sob altas temperaturas exibem maiores teores de fitatos (SOUZA et al., 2019).

A maior parte do fósforo contido no ácido fítico é indisponível aos animais pela ausência da enzima fitase no trato digestivo de animais monogástricos. No frango existe uma relação inversa significativa entre ácido fítico e a disponibilidade de cálcio, magnésio, fósforo e zinco em alimentos com esse composto. O ácido fítico age como forte quelante, formando complexos de proteínas e minerais, o resultado é a redução da biodisponibilidade de proteínas e minerais (THAKUR et al., 2019).

O fitato com seis grupos fosfato reativos é um forte agente quelante na natureza (Figura 4). Dependendo do tipo de cátion, pode se ligar a um ou mais grupos fosfato de um fitato ou fazer a ponte com duas ou mais moléculas de fitato. Conseqüentemente, o fitato tem a capacidade de formar complexos insolúveis com metais podendo reduzir a absorção de minerais como ferro, zinco, magnésio e cálcio e causar severa deficiência de minerais em monogástricos (NIKMARAM et al., 2017).

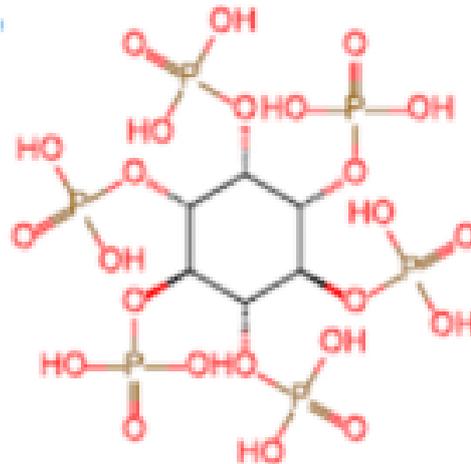


Figura 4 - Estrutura química do fitato. Fonte: NIKMARAM et al., 2017.

A interação de cálcio, fitato e proteína de soja pode ser afetada pelo pH do meio e pela concentração de cálcio. Em pH menor que 4 o fitato se associa com a proteína da soja para formar complexos insolúveis nos quais a participação do cálcio dependerá de sua concentração. Em pH < 4 o excesso de cálcio pode deslocar o fitato do complexo fitato-proteína e torná-lo solúvel. Em pH maior que 6,5 com concentração de cálcio elevada, o fósforo precipita e a proteína permanece solúvel como resultado da formação de complexos cálcio e fitato insolúveis. Quando este quelato está complexado ao ferro evita a associação deste íon a gastroferrina, que é uma glicoproteína produzida pela mucosa gástrica importante na absorção de ferro no duodeno (LIMA et al., 2015).

Os complexos formados pelo ácido fítico com proteínas são resistentes à ação da pepsina e provocam hipersecreção de ácido clorídrico (HCL), com aumento concomitante do bicarbonato de sódio (NaHCO_3), de modo a tamponar o excesso de HCL. Assim, a depleção de sódio (Na^+), induzida pelo fitato, compromete o funcionamento dos sistemas de transporte Na^+ -dependentes, afetando a absorção intestinal dos aminoácidos da dieta e a reabsorção dos aminoácidos endógenos (SOUZA et al., 2019).

2.2.9 Oligossacarídeos

A soja crua possui quantidades relevantes de polissacarídeos não amiláceos (PNA's) na forma de pectinas, hemiceluloses e oligossacarídeos. Os oligossacarídeos, estaquiose e rafinose representam de 4 a 6% do conteúdo nutricional da soja. Esses componentes aumentam a viscosidade da digesta, reduzindo a digestibilidade dos nutrientes pela pouca interação entre substratos e enzimas na mucosa intestinal. Não só a soja *in natura*, mas o farelo de soja, quando não oriundo da extração com etanol, também apresenta altos níveis de oligossacarídeos do tipo rafinose e estaquiose (LIMA et al., 2015).

Os oligossacarídeos são derivados da sacarose, possuem efeito positivo para a energia metabolizável, mas por sua ligação α -1,6-glicosídica, os animais monogástricos são incapazes de digerir. Os oligossacarídeos não digeridos passam pelo intestino superior do animal e são fermentados por microrganismos anaeróbios no intestino inferior. Essa fermentação produz dióxido de carbono, metano e hidrogênio causando flatulência e distúrbios digestivos no animal (VALENTINE et al., 2017).

Os frangos de corte não digerem os polissacarídeos não amiláceos presentes nos grãos que compõem a ração, por não possuírem enzimas endógenas digestivas capazes de realizar essa digestão. Os polissacarídeos não amiláceos afetam de forma negativa a morfologia e a fisiologia do organismo animal, com efeito sobre a digestão e absorção de nutrientes, como: glicose, lipídios, minerais e aminoácidos, devido ao aumento da viscosidade intestinal e redução do tempo de esvaziamento gástrico (AL LOMAN et al., 2016).

Na fase pré-inicial das aves a presença desses fatores antinutricionais associados à imaturidade do trato digestivo reduz ainda mais a digestibilidade e disponibilidade de energia (PARSONS et al., 2000).

2.2.10 Alcaloides

São substâncias químicas sintetizadas pelas plantas a partir de aminoácidos. A descarboxilação de aminoácidos produz aminas que reagem com óxidos de amina para formar aldeídos. O anel heterocíclico característico em alcaloides é formado a partir da condensação do tipo Mannich de grupos aldeído e amina (THAKUR et al., 2019).

Representam amplo grupo de compostos estruturalmente diversos, são metabólitos secundários, básicos, derivados de diversos precursores de natureza proteica encontrados nas leguminosas (SOUZA et al., 2019).

Os alcaloides podem agir no sistema nervoso, sendo capazes de interromper ou aumentar inapropriadamente a transmissão eletroquímica. Além de efeitos neurotóxicos, podem ser hepatóxicos, alterar as propriedades organolépticas do grão e diminuir o consumo alimentar em algumas espécies (THAKUR et al., 2019).

2.2.11 Urease

A urease da soja *Glycine max* possui três isoformas, a urease ubíqua, expressa em níveis baixos em todos os tecidos vegetais, é responsável pela reciclagem da ureia derivada do metabolismo. A urease embrião-específica, altamente expressa em embriões em desenvolvimento e acumulada em

sementes maduras. E, a terceira descoberta teve o gene codificado e apresenta maior similaridade com a urease embrião-específica. (GOUVEIA et al., 2020).

A urease da soja se acumula, particularmente, nas fases posteriores de desenvolvimento, sugerindo que esta participa no transporte do nitrogênio proveniente da fixação biológica e na utilização das proteínas de reserva da semente durante a germinação concomitantemente com a arginase (SOUZA et al., 2019).

As ureases catalisam a hidrólise da ureia produzindo amônia e carbamato. Em pH fisiológico, o carbamato é hidrolisado espontaneamente para formar gás carbônico e uma segunda molécula de amônia. A planta aproveita o nitrogênio presente na ureia após ser catalisada pela urease. Portanto, a urease está envolvida na remobilização do nitrogênio, bem como na assimilação de nitrogênio primário (DELMASHIO, 2018).

Além da função enzimática, teria papel importante na defesa química da planta contra insetos predadores, com ação inseticida e fungitóxica pela alta toxicidade da amônia liberada (SOUZA et al., 2019).

2.3 Enzimas na alimentação de frangos de corte.

As enzimas são utilizadas na alimentação animal com a finalidade de complementar as enzimas endógenas e fornecer enzimas que o organismo não sintetiza, principalmente para a degradação das fibras, que dificultam a digestão e impedem a ação das enzimas endógenas nos substratos a serem digeridos. A suplementação, além de suprir as deficiências enzimáticas e melhorar a utilização de matérias-primas possibilita o uso de ingredientes alternativos (BARBOSA et al., 2014).

As enzimas são proteínas que podem se ligar ou não a cofatores que possuem propriedades catalíticas específicas, são responsáveis por acelerar a velocidade das reações químicas no organismo, agem conforme condições específicas de temperatura, umidade, pH e em tempo definido. Todas as reações bioquímicas que acontecem nos organismos vivos são catalisadas por alguma enzima. (DELMASCHIO, 2018).

Há várias enzimas comercialmente disponíveis, como as amilases, carboidrases, fitase, lipase e protease. Estudos com a utilização da combinação das enzimas xilanase, protease e fitase em dietas de frangos podem se constituir em excelente ferramenta para minimizar os efeitos dos fatores antinutricionais e permitir ganhos na disponibilização de nutrientes promovidos pelas enzimas, intensificando os efeitos extrafosfóricos (DELMASCHIO, 2018).

O uso de enzimas exógenas nas dietas de aves auxilia o processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta, pois promovem a quebra dos componentes da fibra e aumentam a disponibilidade de nutrientes para a digestão reduzindo os fatores antinutricionais. Melhorando assim o desempenho, pois a ave gasta menos energia para realizar processos de digestão, e resulta em mais energia disponível para os processos produtivos (BARBOSA et al., 2014).

Além de melhorarem o desempenho animal, também reduzem a quantidade de excretas produzidas, e diminui o potencial contaminante do ambiente de produção, os animais apresentam fezes mais secas e sem resíduo do alimento (DALÓLIO et al., 2016).

As enzimas são alternativas para reduzir os custos de produção dos animais, uma vez que a melhora da digestibilidade dos alimentos permite alterações nas formulações das rações de forma a minimizar o custo, maximizando o uso de ingredientes energéticos e proteicos nas rações (ARAÚJO et al., 2007).

2.3.1 Protease

As proteases exógenas são hidrolases responsáveis pela catálise das ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas e sua adição inativa fatores antinutricionais presentes em determinados alimentos e podem maximizar a disponibilidade de aminoácidos, colaborando com a energia metabolizável das rações e, por conseguinte, aprimorando o desempenho zootécnico dos animais e reduzindo o custo de produção (CAMPOS et al., 2017).

Essas enzimas podem ser produzidas por microrganismos ou plantas. Os microrganismos são excelente fonte de proteases, por sua variedade bioquímica e facilidade de manipulação genética. Numerosas proteases são produzidas por microrganismos distintos, dependendo da espécie, ou até mesmo de cepas dentro da mesma espécie, uma vez que uma mesma cepa pode produzir diferentes proteases de acordo com as condições em que são manipuladas. As proteases bacterianas parecem ser mais efetivas em degradar inibidores de tripsina do que as proteases fúngicas (THORPE; BEAL, 2001).

A adição de proteases exógenas pode representar um potencial desejável para a inativação de fatores antinutricionais, tais como lecitinas, proteínas antigênicas e inibidores de tripsina, presentes em determinados alimentos, particularmente em leguminosas, podendo também suplementar a atividade proteolítica em animais jovens, liberando peptídeos menores e facilitando a ação das enzimas endógenas (COWIESON et al., 2006).

As proteases também são enzimas endógenas, com ação proteolítica e podem ser classificadas como endopeptidases ou exopeptidases. Ambos os tipos de enzimas atacam ligações peptídicas de

proteínas e polipeptídeos. A diferença entre elas é que as endopeptidases limitam seu ataque a ligações de dentro da molécula proteica, quebrando grandes cadeias de peptídeos em segmentos de polipeptídeos menores (DALÓLIO et al., 2016).

A suplementação enzimática de protease nas rações pode ser usada com o objetivo de reduzir a proteína dietética e proporcionar o mesmo desempenho dos frangos de corte. Em dietas com menor teor de proteína, porém com perfil de aminoácidos equilibrado é possível que a excreção de nitrogênio no ambiente diminua com a redução do uso de alimentos proteicos da ração, o que ainda tem a vantagem de reduzir os custos de produção (YU et al., 2007).

Outras ações das proteases em dietas avícolas têm sido atribuídas ao aumento da produção endógena de peptidase. É possível reduzir os níveis de aminoácidos sintéticos suplementados nas dietas de frangos de corte, considerando digestibilidade de até 40% superior a real, quando se utiliza protease, não afetando os parâmetros de desempenho, rendimento de carcaça e cortes para abates até os 42 dias de idade (CAMPOS et al., 2017).

Law et al. (2018) investigaram os efeitos de dietas com baixa proteína e suplementação de protease em frangos de corte em um ambiente tropical quente e úmido. Concluíram que a suplementação de protease pode compensar os efeitos prejudiciais causados pela redução da proteína bruta da dieta no desempenho de crescimento, morfologia intestinal e rendimento de carcaça em frangos de corte criados em condições tropicais quentes e úmidas. A magnitude da compensação pode depender do tipo e dosagem da protease suplementada.

Stefanello et al. (2016) avaliaram os efeitos de uma protease exógena adicionada a dietas com farelo de soja de duas áreas geográficas do Brasil. Perceberam que as melhorias na digestibilidade do AA derivadas de quaisquer proteases exógenas também dependem dos ingredientes proteicos usados na formulação da ração.

O uso da protease em dietas de frangos de corte pode resultar em benefício ambiental, além da redução do nitrogênio das excretas, melhora na qualidade da cama e diminuição da amônia. Leinonen e Williams (2015) relataram que o uso de protease nas dietas de frangos de corte reduziu os impactos ambientais da produção das matérias-primas utilizadas nas rações e na produção de frangos. Sendo na produção de frangos, principalmente pela redução das emissões de amônia que tem benefício substancial na indústria avícola.

2.4 Tecido ósseo

O sistema esquelético pode ser influenciado por fatores físicos, nutricionais e fisiológicos. O tecido ósseo é constituído por matriz orgânica mineralizada e por população heterogênea de células

que formam um tecido conjuntivo dinâmico e vascular. Apresenta aplicabilidades mecânicas, biológicas e químicas, como o armazenamento e proteção de células, sustentação estrutural e o controle da homeostase mineral (PIZAURO JR, 2002).

As linhas de frangos de corte modernas comumente apresentam anormalidades esquelética como o raquitismo, flexão das pernas e sofrem alta incidência de fraturas ósseas que resultam em aumento da mortalidade e consequente perda econômica. A má qualidade óssea em frangos de corte se deve principalmente a baixa calcificação e alta porosidade, tornando os ossos fracos e sujeitos às deformações e ou fraturas (SANCHES RODRIGUES et al., 2019).

Problemas esqueléticos e má qualidade óssea em aves estão associados com as taxas de crescimento inicial muito rápidas, uma vez que o desenvolvimento ósseo não consegue acompanhar o ritmo de aumento tão rápido do peso corporal. Frangos de crescimento lento produzem ossos mais fortes com maior mineralização e ou porosidade reduzida. (SANTOS et al., 2019).

O osso se compõe de 69,0% de materiais inorgânicos, 22,0% de matriz orgânica e 9,0% de água. A matriz orgânica, constituída de colágeno, contribui para a tenacidade óssea, modula a resistência do tecido e as propriedades de crescimento, fornecendo suporte orientado para a matriz mineral e contribuindo para a resistência à tração do osso. Aproximadamente 30% da porção orgânica da matriz extracelular são formados por proteínas colagenosas (PC), sendo 90% colágeno tipo I e os 10% restantes constituídos por proteoglicanas e proteínas não colagenosas (PNC), como osteocalcina, osteonectina e alguns fatores de crescimento (VIEITES et al., 2017).

O tecido ósseo desempenha funções importantes, como proteção mecânica de tecidos e órgãos, suporte estrutural para o corpo, atuação como sistema de alavancas transformando as contrações musculares em movimentos úteis e alojamento da medula óssea (ARAÚJO et al., 2012).

Minerais como o cálcio (Ca) e fósforo (P) são encontrados nos ossos nas formas catiônicas e aniônicas, respectivamente. São mobilizados para o plasma durante alterações da homeostase e para manutenção das funções metabólicas. As concentrações desses minerais no organismo estão relacionadas com a eficiência da absorção intestinal, filtração glomerular, reabsorção tubular renal, mobilização e transporte do sangue para o osso e perdas tanto endógenas como intestinais. As eficiências dos referidos processos se modulam por vários hormônios, com destaque para o paratormônio (PTH) e o calcitriol (1,25-dihidroxitamina-D₃ - 1,25(OH)₂D₃), forma hormonal da vitamina D (VIEITES et al., 2017).

Os ossos podem ser divididos em ossos longos (fêmur), chatos (esterno), irregulares (vértebras) e curtos (tarsos). Os ossos longos são delimitados externamente pelo perióstio, que é formado por tecido conjuntivo denso, fibroso em sua parte externa, abundante em células

osteoprogenitoras e vasos sanguíneos na parte interna. Importante durante o crescimento e reparo de fraturas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As extremidades ou epífises são formadas por osso trabecular envolvido por fina camada compacta. A parte cilíndrica ou diáfise é formada em maior parte por osso compacto e a região interna por pequena quantidade de osso trabecular, delimitando o canal medular. Internamente, o endóstio, reveste o canal medular por uma camada de células osteogênicas achatadas, (PIZAURO JR, 2002).

O crescimento e a remodelação dos ossos longos das aves sofrem influência dos fatores endógenos e exógenos, como produção hormonal, nutrição, temperatura, potencial genético, tendo a possibilidade de haver variações na massa óssea durante todas as fases da vida (ARAÚJO et al., 2012).

As propriedades mecânicas do osso não são determinadas apenas pela massa óssea total, mas também por sua distribuição geométrica, grau de mineralização, porosidade, sua organização estrutural em diferentes escalas, ou seja, ósteons, fibras de colágeno, nanocristais de apatita e as propriedades dos materiais constituintes do osso, isto é, cristalinidade mineral e reticulação de colágeno (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019).

2.4.1 Células do tecido ósseo

Segundo Rath et al. (2000) os principais componentes celulares do osso são os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Estes elementos celulares são responsáveis pela síntese da matriz óssea e mineralização são determinantes para os fatores químicos, geométricos e resistência do osso.

Os osteoblastos são responsáveis pela formação do osso, pois sintetizam e regulam a mineralização da matriz orgânica do tecido ósseo. Secretam a matriz orgânica intercelular ao seu redor e ao redor dos prolongamentos citoplasmáticos que atuam como moldes para a formação de canalículos (ARAÚJO et al, 2012).

Os canalículos fornecem o meio de comunicação entre os osteoblastos adjacentes e a superfície do osso que está sendo formada. Eles permitem a passagem de fluidos dos vasos capilares para o tecido ósseo, a troca de nutrientes entre as células da matriz e a matriz intercelular assim como a troca de nutrientes entre matriz, fluido do osso e fluido extracelular. O osteoblasto sintetiza a matriz óssea que é uma substância com alta presença de colágeno (principalmente tipo I) e essencial para a posterior mineralização (GAY et al., 2000).

A fosfatase alcalina é secretada pelos osteoblastos durante o processo de mineralização óssea, atuando na clivagem do pirofosfato. Removendo a influência estabilizadora e aumentando a concentração local de fosfato através da sua atuação sobre a hexose mono fosfato, produto da quebra

do glicogênio que promove a cristalização óssea. A fosfatase alcalina também tem ação indireta no processo de reabsorção óssea por secretar fatores como interleucina-6 e prostaglandina que estimulam os osteoclastos (PIZAURO JR, 2002)

O osteócito é um osteoblasto maduro aprisionado dentro da matriz óssea. Cada osteócito ocupa um espaço, ou lacuna, dentro da matriz da qual partem canalículos ou prolongamentos que estabelecem contato com as células adjacentes. São as células mais abundantes do osso, são achatadas e responsáveis por sintetizar e reabsorver a matriz óssea (ARAÚJO et al, 2012).

Os osteoclastos são células de origem hematopoiética e pertencem à família de monócitos-macrófagos. Morfologicamente são células polinucleadas móveis, gigantes e ramificadas, formadas pela fusão de precursores mononucleados da superfície óssea, oriundos da medula óssea e conhecidos como pré-osteoclastos. Estas células liberam ácidos, enzimas colagenases e hidrolases que atuam digerindo a matriz orgânica e dissolvendo os sais de cálcio durante a reabsorção óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteoclastos realizam a desmineralização óssea e a digestão da matriz do osso. Eles apresentam receptores de estrogênio, cujo efeito primário é o de inibir o recrutamento de osteoclastos (DE SOUZA, 2012). Durante o crescimento ósseo, os osteoclastos são necessários para a reabsorção de cartilagem calcificada e modelação óssea. Além da remodelação óssea em animais adultos, elas mantêm as exigências de cálcio necessário para a homeostase (GAY et al., 2000).

Na porção interna do periósteo, no endósteo e nos canais ósseos que contêm vasos sanguíneos estão as células osteoprogenitoras ou pré-osteoblastos. São células derivadas do mesênquima, permanecem em repouso e são capazes de se dividirem, podendo posteriormente se diferenciar em osteoblastos (ARAÚJO et al., 2012).

2.4.2 Matriz extracelular

A matriz extracelular é composta por colágeno em maior parte e pela substância fundamental. O colágeno é uma proteína fibrosa, sintetizada por fibroblastos e células relacionadas, tais como os condroblastos da cartilagem e os osteoblastos do osso. Os colágenos podem ser subdivididos com base na sua função em seis classes fibrilar, fibrilar associado, rede formadora, filamentosos, pequena cadeia e cadeia longa, classificados de acordo com o tamanho das cadeias (ARAÚJO et al., 2012).

O colágeno é sintetizado inicialmente no retículo endoplasmático rugoso das células produtoras, como o fibroblasto e o osteoblasto, na forma de procolágeno. A formação de fibrilas de colágeno envolve reações no meio intracelular e extracelular. No interior da célula ocorre síntese de moléculas de protocólagenos, hidroxilação de resíduos de prolina e lisina e glicosilação dos resíduos

de hidroxilisina, para formar monômeros de pró-colágeno sendo secretado para o exterior da célula na forma de tripla hélice de configuração helicoidal. No exterior da célula, há uma hidrólise proteolítica limitada do pró-colágeno, para formar o tropocolágeno que irá se polimerizar e transformar em fibras de colágeno. A composição primária do colágeno de diferentes espécies contém em média, 35% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina e 9% de hidroxiprolina (FREITAS, 2002).

O colágeno fibrilar tipo I é encontrado no osso enquanto o colágeno fibrilar tipo II está predominantemente na cartilagem, podendo os dois tipos serem encontrados em tecidos sujeitos ao estresse de compressão e tensão. Eles formam uma rede fibrilar na matriz extracelular que são estabilizadas pela formação de ligações cruzadas intra e intermoleculares, formadas tanto enzimaticamente quanto não enzimaticamente, por condensação de resíduos de aminoácidos. Tais ligações cruzadas são as principais responsáveis pela estabilização da molécula e das fibras de colágeno e pela regulação das propriedades de resistência à tração conferida ao osso pelo colágeno, conferindo força ao tecido para suportar pressões. Alterações na síntese ou na organização das fibras do colágeno afetam as propriedades de resistência do osso (ARAÚJO et al., 2012)

A substância fundamental é um complexo viscoso e altamente hidrofílico formado por macromoléculas aniônicas de glicosaminoglicanos e proteoglicanos, glicoproteínas multiadesivas compostas por laminina e fibronectina que se ligam a proteínas receptoras denominadas integrinas presente nas superfícies das células. Está entre as fibras de colágeno do tecido e é contínua com o líquido intersticial e apresenta vários graus de condensação, sendo conhecida como o componente amorfo extracelular e interfibrilar do tecido conjuntivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os proteoglicanos e glicosaminoglicanos têm importância na formação estrutural do colágeno. Os proteoglicanos são macromoléculas que apresentam em sua estrutura proteica ligações covalentes com moléculas de carboidratos conhecidos como glicosaminoglicanos. Os glicosaminoglicanos polímeros de dissacarídeos sulfurados que possui carga negativa responsável pela interação iônica com a água (VELLEMAN, 2000).

Os glicosaminoglicanos ligados aos proteoglicanos de núcleo proteico central incluem a condroitina, heparina sulfato e queratina sulfato. A estrutura estável dos proteoglicanos forma agregados de proteoglicanos e ácido hialurônico na cartilagem que atrai as moléculas de água para hidratar a cartilagem. A alta tenacidade do agregado de condroitina e a cadeia de queratina sulfato são diretamente responsável pela hidratação da matriz da cartilagem extracelular e gera resistência mecânica da cartilagem, porém, se a estrutura do agregado de proteoglicano é modificada, a integridade da matriz da cartilagem extracelular é alterada (VELLEMAN, 2000).

As proteínas não colagenosas possuem funções importantes nas células ósseas, como a regulação da mineralização das fibras de colágeno, a modulação da divisão, migração, diferenciação e maturação celular. A principal é a osteocalcina que corresponde de 10% a 20% do total de proteínas não colagenosas ou 1% do total da proteína do osso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A osteocalcina possui baixo peso molecular, formada por aminoácidos, sintetizada pelos osteoblastos e incorporada à matriz óssea extracelular. É regulada e sintetizada pela 1,25-di hidroxivitamina D. A vitamina K funciona como cofator essencial na formação dos resíduos de γ -carboxiglutâmico, aminoácido resultante da reação de carboxilação pós-traducional do resíduo glutamil. O γ -carboxiglutâmico confere à proteína a capacidade de se ligar aos cristais de hidroxiapatita controlando o processo de mineralização da matriz óssea formada (SARAIVA; LAZARETTI CASTRO, 2002).

A osteonectina é uma glicoproteína fosforilada específica do osso com 32.000 daltons, representa 23% das proteínas não colagenosas. Demonstram alta afinidade pelo cálcio, hidroxiapatita e colágeno tipo I. A osteonectina é responsável pelo início da mineralização ativa em tecidos esqueléticos normais, é composta por proteína tecido-específica que se liga a fase mineral e ao colágeno do osso (DE SOUZA, 2012).

2.4.3 Formação e crescimento ósseo

A osteogênese ocorre inicialmente pela formação da matriz não mineralizada o osteoide pelos osteoblastos, seguido pela mineralização. A formação do osso ou ossificação pode ser classificada como endocondral, no caso de o modelo de cartilagem servir de precursor do tecido ósseo formado ou intramembranoso se no osso formado não houver a intervenção de um precursor cartilaginoso (PIZAURO JR, 2002).

O processo de ossificação intramembranosa é responsável pelo crescimento dos ossos chatos pela adição de tecido ósseo na superfície de estruturas pré-existentes, e o processo de ossificação endocondral por sua vez é responsável pelo crescimento dos ossos longos, ocorrendo o crescimento do osso a partir do tecido cartilaginoso, com o tecido ósseo sendo depositado em uma espécie de rede de tecido cartilaginoso pré-calcificado (DE SOUZA, 2012).

Durante o desenvolvimento embrionário o processo de ossificação intramembranosa, inicia-se pela diferenciação de células mesenquimatosas em osteoblastos, que são responsáveis pela síntese de osteoide no mesênquima e pelo aparecimento dos osteócitos. A ossificação intramembranosa nos ossos longos é responsável pelo aparecimento do centro primário de ossificação na parte central do

osso e vai crescer radialmente, produzindo uma rede de trabéculas ósseas (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004).

As placas de crescimento são formadas por condrócitos e matriz extracelular, com alta concentração de proteoglicanos e colágeno tipo II, nesse local os condrócitos estão organizados de acordo com o seu estágio de maturação atuando no processo de ossificação endocondral (ARAÚJO et al., 2012).

A ossificação endocondral consiste em dois processos, na primeira etapa, a cartilagem hialina se modifica por hipertrofia dos condrócitos que acabam morrendo e deixando cavidades separadas por finos trabiques de matriz cartilaginosa que se calcificam. Na segunda etapa, as cavidades de cartilagem calcificada são invadidas por células mesenquimatosas que se diferenciam em osteoblastos (PIZAURO JR, 2002).

Condrócitos são as células responsáveis pela calcificação no disco epifisário que possui cartilagem que forma uma estreita faixa de ligação entre a epífise proximal e diáfise podendo ser dividido em algumas regiões: zona de reserva, zona de proliferação, zona de maturação, zona hipertrófica e zona de calcificação. Em cada uma dessas regiões é possível observar o desenvolvimento dos condrócitos, e é na zona de maturação que ocorre a síntese e secreção de matriz com participação da fosfatase alcalina. E, por fim, na zona de calcificação os condrócitos são degenerados para que ocorra o depósito de fosfato de cálcio no interior das vesículas (PIZAURO JR et al., 2002).

Nas epífises de forma não simultânea, forma-se o centro de ossificação secundária. Esses centros são semelhantes ao centro primário da diáfise, mas seu crescimento é radial em vez de longitudinal. Quando o tecido ósseo formado nos centros secundários ocupa a epífise, o tecido ósseo cartilaginoso fica reduzido a dois locais a cartilagem articular, que não contribui para a formação óssea, e a cartilagem epifisária que é constituída por disco cartilaginoso que não foi penetrado pelo osso em expansão e que será responsável pelo crescimento longitudinal do osso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Nas aves durante o desenvolvimento dentro do ovo a formação do tecido ósseo pela ossificação endocondral é baixa. Após a eclosão, o crescimento passa de 3% no primeiro dia de vida para 20% ao dia no quinto dia, mantendo assim durante os primeiros 15 dias de vida. O processo de ossificação endocondral pode ocorrer em menos de 24 horas, durante o pico de crescimento dos frangos de corte (ARAÚJO et al., 2011).

O fim do crescimento longitudinal do osso varia de acordo com a espécie e ocorre quando a cartilagem se torna cada vez mais delgada e a epífise e a metáfise se fundem. Segundo Rath et al., 2000, o crescimento longitudinal dos ossos de frango continua até a 25 semana de vida.

As deformações ósseas e a incidência de fraturas representam sérios problemas para a produção avícola e causam reduções na produção pelas dificuldades de acesso à água e ração. A ocorrência de problemas ósseos durante a criação das aves é responsável por perdas econômicas em todo o mundo (SANTOS et al., 2019).

2.4.3 Mineralização óssea

O processo de mineralização ocorre através dos osteoblastos se inicia pela produção e liberação de vesículas extracelulares, possuem altas concentrações de fosfatase alcalina, (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A mineralização afeta a resistência óssea que é determinada pelo volume do tecido ósseo, pela organização da microarquitetura e pelo grau de mineralização da matriz óssea. Os osteoblastos que são derivados de células mesenquimais primitivas na medula óssea formam a matriz extracelular do osso, várias etapas são seguidas para desenvolver o osso totalmente mineralizado. Mais de 90% do Ca em aves é encontrado nos ossos que se combina com P para formar cristais de fosfato de cálcio ou hidroxiapatita com a fórmula molecular $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Os osteócitos catabolizam a matriz óssea e os osteoclastos reabsorvem o tecido ósseo (SHIM et al., 2012).

O modelamento do osso está associado ao crescimento e termina quando a maturidade óssea é alcançada. Esse processo é adaptativo, responsável pelo aumento da resistência óssea, pelo ganho de massa e corresponde principalmente ao tamanho ósseo (BARBOSA, 2005).

A remodelagem ocorre pela presença de unidades multicelulares básicas, como o osteoclasto e osteoblasto. O fenômeno é um processo contínuo que compreende dois mecanismos, primeiro ocorre a reabsorção, feita pelos osteoclastos, e em seguida a formação óssea, realizada pelos osteoblastos. Esse termo é usado para descrever processos de reabsorção e formação de tecido mineralizado, responsável pela manutenção do esqueleto, massa óssea e morfologia nas aves adultas (SARAIVA; LAZARETTI-CASTRO, 2002).

Os osteoblastos são responsáveis pelo depósito da nova matriz óssea que se torna subsequentemente mineralizada. Em situações fisiológicas, a reabsorção e a formação são fenômenos acoplados e dependentes. O predomínio de um sobre o outro e a concentração de cálcio, pode resultar em ganho ou perda de massa óssea, sendo assim a manutenção de concentrações adequadas de cálcio no sangue é prioritária sobre a manutenção da integridade estrutural do osso (ARAÚJO et al., 2012).

O processo de remodelamento é regulado por hormônios e por fatores de crescimento produzidos em vários tecidos e células. Os hormônios envolvidos na formação óssea incluem insulina, hormônio de crescimento e estrogênio, e os que estão envolvidos na reabsorção 1,25-dihidroxicalciferol (vitamina D3), paratormônio, hormônio da tireoide e glicocorticoide. O paratormônio estimula a reabsorção óssea ativando os osteoclastos, quando o nível de Ca no sangue está baixo. A calcitonina atua inversamente inibindo a reabsorção óssea (SOUZA et al, 2020).

A remodelação óssea envolve a renovação e reestruturação interna do osso, sendo responsável pela manutenção do tecido e estrutura do esqueleto adulto. A interação celular com o ciclo de remodelação está dividida em quatro eventos, ativação, reabsorção, modelagem e formação. Resumidamente, no processo de modelação ocorre ganho de massa do esqueleto e mudanças na sua morfologia enquanto no processo de remodelação ocorre a manutenção do esqueleto (DE SOUZA, 2012).

A mineralização afeta a resistência óssea, o que permite que o esqueleto suporte a gravidade e cargas adicionais. A resistência óssea é determinada não apenas pela massa do tecido ósseo e organização da microarquitetura, mas também, pelo grau de mineralização da matriz óssea (ARAÚJO et al.,2012).

A composição dos minerais nos ossos não é fixa, entretanto reflete o estado de equilíbrio químico do organismo animal. Em casos de distúrbios severos haverá mobilização dos minerais que alterarão suas concentrações (MINAFRA et al., 2009).

2.4.4 Fatores que influenciam o desenvolvimento e a resistência óssea

O crescimento e o desenvolvimento ósseo das aves são influenciados principalmente por fatores nutricionais como toxinas, fatores antinutricionais, deficiências e desbalanços, fatores genéticos, sexo, idade, fatores endócrinos, patológicos, estresses e práticas de manejo (TALATY et al., 2009).

A nutrição desempenha papel essencial para a obtenção de um tecido ósseo de alta qualidade. Dentre os nutrientes o cálcio e fósforo são os principais formadores da matriz mineral contribuindo com 95% (RATH et al., 2000).

O desequilíbrio de cátions e ânions na dieta pode influenciar na incidência de problemas de pernas em frangos de corte, visto que estes são aves de crescimento extremamente rápido. Drásticas alterações nesse equilíbrio podem acarretar severos danos em seu desempenho (VIEITES et al., 2011).

A vitamina D consiste em um grupo de moléculas semelhantes aos esteroides denominadas de secosteroides, dentre os quais, o colicalciferol (Vitamina D3) e o ergosterol (Vitamina D2) são os compostos que participam da regulação do desenvolvimento do tecido ósseo, do metabolismo e da homeostase do cálcio (PIZAURO JR et al., 2002).

A vitamina D pode ser obtida pela alimentação ou ser produzida pelo organismo, desde que haja luz suficiente. A absorção da vitamina D seja de origem exógena ou endógena é realizada da mesma forma que a absorção dos lipídios, através de micelas. A vitamina D absorvida pelo intestino é transportada pela corrente sanguínea para vários tecidos do organismo, principalmente o fígado e é convertida em 25- hidroxicalciferol que é levado até os rins, para ser convertido em 1,25- dihidroxicolecalciferol. Posteriormente, este composto é direcionado pelo sangue ao intestino e ossos (SHIM et al., 2012).

O 1,25-dihidroxicolecalciferol atua de forma semelhante a um hormônio esteroide regulando a transcrição do DNA nas microvilosidades intestinais e induzindo a síntese de RNAm específico para a produção da proteína transportadora de cálcio, que é responsável pela absorção de cálcio existente no intestino (SOUZA et al., 2020).

A vitamina D3 ativada age no intestino estimulando a absorção de cálcio no osso, aumentando o recrutamento de osteoclastos, estimulando a síntese de proteínas pelos osteoblastos e participando na mineralização da matriz (SOUZA; VIEITES, 2014).

Fritts e Waldroup (2003) realizaram um experimento com intuito de avaliar duas fontes com diferentes níveis de vitamina D, sendo elas: vitamina D3 com níveis de 125, 250, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 IU/kg e uma fonte comercial de 25-OH-D3 com níveis de 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µg/kg. Concluíram que tanto a fonte quanto os níveis de vitamina D influenciaram a cinza do osso aos 21 e 42 dias. A incidência e severidade de discondroplasia tibial foram significativamente influenciadas pela suplementação com 25-OH-D3, ou seja, as aves alimentadas com esta fonte tiveram menor incidência de discondroplasia tibial.

Uma das possíveis maneiras de se combater as anomalias ósseas e os demais problemas relacionados com a repentina elevação na taxa de atividade metabólica dos frangos de corte seria diminuir a velocidade de crescimento, principalmente no período que ocorre de maneira mais acelerada, no início do ciclo da criação. Uma das técnicas utilizadas para desacelerar a taxa de crescimento das aves, ou melhor, a mais utilizada é a restrição alimentar que consiste em diminuir por um período de tempo o alimento ingerido pelo animal, seja em quantidade, restrição quantitativa, ou em composição, restrição qualitativa (BRUNO, 2002).

Trabalho realizado por Bruno et al. (2002) mostrou que frangos submetidos à restrição alimentar quantitativa e diferentes temperaturas apresentaram redução no crescimento dos ossos longos.

Pelicano et al. (2005) avaliaram o efeito da restrição alimentar qualitativa, proteica ou energética, sobre o ganho de peso e o desenvolvimento ósseo de frangos criados em diferentes temperaturas ambientais. A restrição proteica resultou em menor ganho de peso e menor diâmetro do fêmur no 14º dia de idade. Não foram observadas diferenças nessas características a partir do 21º dia de idade. O ganho de peso e o crescimento do fêmur não foram influenciados pela restrição energética. A alta temperatura ambiente (33°C) influenciou negativamente o ganho de peso e o diâmetro do fêmur, a partir do 21º dia, e o comprimento do fêmur, no 42º dia de idade. Tanto a restrição proteica na segunda semana, quanto à temperatura alta do ambiente, a partir do 21º dia de idade, reduziram o ganho de peso e o crescimento do fêmur de frangos.

Os fatores reguladores sistêmicos que são em sua maioria hormônios, com destaque para o hormônio paratireoideano (PTH), hormônio paratireoideano peptídiorelacionado, (PTHrP), dihidroxivitamina D3 (um metabólito da vitamina D3, também conhecido por 1,25(OH)2D3, calcitonina, estrogênios, glicocorticoides e retinóis. Dentre os fatores de ação local, destacam-se as interleucinas, fatores de crescimento (tais como o IGF-I e II), prostaglandinas (especialmente a PGE2), neuropeptídeos e citoquinas (VIEITES et al., 2011).

O 1,25-diOH-D3 estimula a mobilização de cálcio e fosfato dos ossos por um processo que requer síntese de proteínas e a presença de PTH. O resultado é o aumento do cálcio e fosfato plasmáticos. Assim, o osso é um importante reservatório de cálcio que pode ser mobilizado para manter os níveis plasmáticos (SOUZA et al., 2020).

Hormônios como paratormônio, estrógenos e diidroxicolecalciferol coordenam as principais atividades do metabolismo ósseo, com vistas ao seu aumento em diâmetro e comprimento durante o crescimento das aves (SILVA et al., 2001).

O IGF-1 é um polipeptídeo presente na circulação sistêmica, produzido no fígado e secundariamente por vários tecidos, incluindo o tecido ósseo. O esqueleto é o maior depósito extravascular de IGF-1, que exerce funções importantes como diferenciação, maturação e recrutamento de osteoblastos. A prostaglandina age estimulando a proliferação de condrócitos na placa de crescimento dos ossos longos (PIZAURO et al., 2002).

2.5 Bioquímica dos minerais (Ca:P)

O cálcio e o fósforo são minerais de extrema importância para funções vitais do organismo,

como a taxa de crescimento e mineralização óssea. Por serem os minerais mais abundantes no tecido ósseo, ambos apresentam alta correlação sendo que a deficiência ou excesso de um pode interferir na utilização do outro. Em animais jovens a escassez desses minerais pode causar o raquitismo e em animais adultos a osteomalácia (VIEITES et al., 2011).

A relação 2:1 de cálcio e fósforo é importante para que a condição de homeostase seja mantida e em caso de deficiência ou excesso, o metabolismo desses minerais irá atuar para que a situação seja estabilizada. Os sinais clínicos da deficiência de cálcio e fósforo são visíveis em animais jovens, sendo as principais ocorrências: inibição do crescimento, baixo ganho de peso e perda de apetite além dos sinais aparentes nos ossos (MINAFRA et al., 2010).

A redução na mineralização óssea pode resultar em fraturas e problemas locomotores em todas as idades, e é comum a deformação dos ossos. O tecido esponjoso, costelas, vértebras, esterno e extremidade esponjosa dos ossos longos são os primeiros a serem afetados na deficiência de cálcio e fósforo. Os eixos compactos dos ossos longos (úmero, fêmur e tíbia) são prejudicados em seguida (PIZAURO et al., 2002).

O excesso de cálcio pode afetar a disponibilidade de outros minerais como fósforo, magnésio, manganês e zinco, promovendo deficiência secundária. As aves têm a capacidade de regular o consumo de ração de acordo com o nível de cálcio da dieta e a deficiência deste mineral aumenta o consumo (SOUZA et al., 2020).

2.5.1 Cálcio (Ca)

O cálcio é o mineral de maior concentração no organismo da ave, sendo parte relevante na formação dos ovos, da casca do ovo, além de participar de muitas reações bioquímicas importantes. Os valores totais de cálcio aviário podem ser muito mais altos em circunstâncias fisiológicas normais do que seriam tolerados por um mamífero (GOUVEIA et al., 2020).

O cálcio plasmático é essencial para a coagulação sanguínea, permeabilidade de membrana, excitabilidade neuromuscular, transmissão do impulso nervoso e ativação de sistemas enzimáticos. A cerca de metade do cálcio plasmático é encontrada na forma livre, como porção ativa de cálcio (cálcio iônico), enquanto a outra metade se encontra inativa, ligada à albumina, que é a forma geralmente mensurada (MINAFRA et al., 2009).

O controle do metabolismo do cálcio é complexo e efetuado por diversas substâncias, mas tem a maior parte fundamentada em uma tríade formada pelo paratormônio (PTH), calcitonina e calciferol (vitamina D3). O sistema endócrino renal associado com a vitamina D está relacionado com

o aumento da absorção intestinal de cálcio durante o ciclo ovulação-oviposição de galinhas poedeiras (SOUSA et al., 2016).

O fosfato se une ao cálcio formando compostos que conferem rigidez aos ossos, participa do metabolismo energético, metabolismo de carboidratos, aminoácidos e gordura, nos processos bioquímicos do sangue, crescimento do esqueleto, transporte de ácidos graxos e outros lipídios. Participa também como constituinte de ácidos nucleicos e componentes de coenzimas, além de estar envolvido no armazenamento e na transferência de energia em compostos fosforilados da glicose e seus derivados (VIEITES et al., 2011).

Minafra et al. (2010) avaliaram o efeito sérico da suplementação do extrato contendo α -amilase em dietas pré-iniciais e iniciais para frangos de corte sobre os parâmetros sanguíneos. As concentrações séricas de cálcio na dieta basal variaram entre 5,7 mg/dl na fase pré-inicial e 6,05 mg/dl na fase inicial.

Elevações das concentrações séricas de cálcio podem ser observadas em dietas com excesso de vitamina D3 e em condições neoplásicas que provocam lesões ósseas. Também podem ocorrer em respostas vacinais pelo reconhecimento do antígeno pelas células T receptoras, mediados pela ativação da calcineurina. Este efeito foi observado em frangos de corte vacinados contra coccidiose (SCHIMIDT et al., 2007).

Níveis baixos de cálcio sérico resultam em tetania, ocorre principalmente em aves submetidas a estresse. Os distúrbios renais podem causar diminuição do cálcio sérico pela perda de proteínas, que leva a hipoalbuminemia ou pela diminuição da reabsorção do cálcio (SCHIMIDT et al., 2007).

2.5.2 Fósforo (P)

O fósforo, assim como o cálcio é parte importante na formação dos ossos e tem participação na regulação do metabolismo acidobásico e na produção de energia. Essa última função, em virtude da presença de grandes quantidades de compostos fosfatados nas hemácias, confere às aves a baixa afinidade com o oxigênio, oferecendo vantagem para a regulação do transporte do oxigênio. (REZENDE et al., 2019).

A concentração de fósforo plasmático é mantida principalmente por excreção renal. Aves jovens têm um nível normal de fósforo no plasma mais alto que os adultos, tendo seu valor sérico variando de 5 a 7 mg/dL em condições normais (THRALL et al., 2012).

Níveis de fósforo no plasma inferiores a 5 mg/ dL é considerado hipofosfatemia e podem ser observados em casos de deficiência por vitamina D3, terapia de longa duração por corticosteroides e períodos prolongados de jejum (CAMPBELL, 2004).

A elevação dos níveis de fósforo acima 7 mg/dL é indicativo de hiperfosfatemia e ocorre nos casos de distúrbio renal severo pela diminuição da filtração glomerular, excesso de vitamina D3 que leva ao aumento da absorção intestinal de fósforo e pelo excesso de fósforo na dieta. Os falsos aumentos podem ser atribuídos a hemólise e quando o sangue total não é separado pode levar a um vazamento de fósforo intracelular no plasma (CAPITELLI; CROSTA, 2013).

Os valores séricos de cálcio e fósforo podem ser correlacionados e expressa a razão entre os dois. Em perdizes em oviposição foi observado que elevações desta razão está relacionada com a diminuição de 70% na probabilidade de sobrevivência dos filhotes. Assim, estes componentes são interdependentes sendo que a falta ou excesso de um deles pode prejudicar a absorção ou utilização do outro (REZENDE, 2017).

2.5.3 Fosfatase alcalina ALP ou FA

A atividade da fosfatase alcalina está ligada, principalmente, com o metabolismo do cálcio e fósforo, participando das atividades condrogênicas e osteoblásticas, sendo um ponto chave no crescimento das aves. Esses animais também apresentam produção dessa enzima nos pulmões, tecidos músculo esquelético, testículos, rins, músculo cardíaco e pouca produção no fígado. O aumento da atividade sérica de FA não se deve ao extravasamento da enzima, mas sim a maior produção celular (RAJMAN et al., 2006).

Por estar associada ao metabolismo do cálcio e fósforo e com participação nas atividades osteoblásticas e condrogênicas, o aumento da FA estará relacionado ao crescimento ósseo, consolidação de fraturas, osteomielite, neoplasia, hiperparatireoidismo nutricional secundário, fase de pré-ovulação e calcificação medular em galinhas (CAMPBELL, 2004).

Há muitos métodos para determinar a sua atividade, dificultando a comparação de resultados entre laboratórios ocorrendo bastante discordância entre os autores em relação a utilização dos níveis de fosfatase alcalina circulante como indicativo de doença hepática (SOUSA, 2016).

3. REFERÊNCIAS

ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, Relatório Anual 2019.

AKAPO, A. O.; OSO, A. O.; BAMGBOSE, A. M.; SANWO, K. A.; JEGEDE, A. V.; SOBAYO, R. A.; OLORUNSOLA, R. A. Effect of feeding cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root meal on growth performance, hydrocyanide intake and haematological parameters of broiler chicks. **Tropical animal health and production**, v. 46, n. 7, p. 1167-1172, 2014.

AL LOMAN, A.; JU, L. K. Towards complete hydrolysis of soy flour carbohydrates by enzyme mixtures for protein enrichment: a modeling approach. **Enzyme and microbial technology**, v. 86, p. 25-33, 2016.

ALVES, W. F.; URPIA, A. G. B. C. Derivativos financeiros-instrumentos de hedge: uma análise da crise no setor avícola brasileiro. 2017.

ANDRADE, T. V. Adição de enzimas em dietas de frangos de corte a base de milho de diferentes qualidades. 2020.

ARAÚJO, G. M.; VIEITES, F. M.; SOUZA, C. S. Importance of bone development in poultry. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 79-89, 2012.

BARBOSA, A. A. Aspectos químicos, bioquímicos, físicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte. 86f. Tese (Doutorado em Bioquímica agrícola) – Programa de Pós graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

BARBOSA, N. A. A.; BONATO, M. A.; SAKOMURA, N. K.; DOURADO, L. R. B.; FERNANDES, J. B. K.; KAWAUCHI, I. M. Digestibilidade ileal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com enzimas exógenas. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 4, p. 361-369, 2014.

BRUNO, L.D.G.; FURLAN, R.L., MALHEIROS, E.B. et al. Influence of early quantitative food restriction on long bone growth at different environmental temperatures in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.*, v.41, p.389-394, 2000.

CAÇÃO, M. M. D. F.; SANTOS, G. B.; CAVALETTI, M.; BUENOS, M. S.; NARDON, R. F.; PEREIRA, J. A. Resíduo de limpeza de soja em substituição ao farelo de soja na dieta de cordeiro em terminação. **B. Industr. Anim.**, p. 106-113, 2014.

CAMPBELL, T.W. Clinical Chemistry of Birds. In: THRALL, M.A. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, p. 479-492, 2004.

CASAS, C. Z. Y.; REYES, M. E. A; VEGA, C. N. A. Lectinas con dominio de leguminosa: características estructurales y utilidad como agentes insectistáticos e insecticidas. **Chilean journal of agricultural & animal sciences**, v. 32, n. 2, p. 157-169, 2016.

CASTEJON, F. V. Taninos e saponinas. **Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação–Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, v 30, p. 1292-1298, 2011.

CORTÉS, M. E. M. Efeitos de uma protease monocomponente em dietas de frangos de corte com níveis crescentes de inibidores de tripsina. 2012.

COWIESON, A. J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Supplementation of corn–soy-based diets with an *Escherichia coli*-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. **Poultry Science**, v. 85, n. 8, p. 1389-1397, 2006.

DALÓLIO, F. S.; MOREIRA, J.; VAZ, D. P.; ALBINO, L. F. T.; VALADARES, L. R.; PIRES, A. V.; PINHEIRO, S. R. F. Exogenous enzymes in diets for broilers. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 2, p. 149-161, 2016.

DELMASCHIO, I. Enzimas na alimentação de animais monogástricos-revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP**, v. 2, n. 1, p. 06-20, 2018.

ERDAW, M. M.; BHUIYAN, M. M.; IJI, P. A. Response of broiler chicks to non-steam-or steam-pelleted diets containing raw, full-fat soybean meal. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 26, n. 2, p. 260-272, 2017.

FREITAS, H. T. **Efeitos de composição das dietas com níveis de proteínas e de nutrientes sobre o desempenho e as características ósseas de pintos de corte**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 144p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

FRITTS, C. A.; WALDROUP, P. W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, n. 1, p. 45-52, 2003

GAUTIER, A. E.; WALK, C. L.; DILGER, R. N. Influence of dietary calcium concentrations and the calcium-to-non-phytate phosphorus ratio on growth performance, bone characteristics, and digestibility in broilers. **Poultry Science**, v. 96, n. 8, p. 2795-2803, 2017.

GAY, C. V.; GILMAN, V. R.; SUGIYAMA, T. Perspectives on osteoblast and osteoclast function. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 1005-1008, 2000.

GOUVEIA, A. B. V. S.; DE PAULO, L. M.; DA SILVA, J. M. S.; DA SILVA, W. J.; DE SOUSA, F. E.; DE ALMEIDA JÚNIOR, E. M.; MINAFRA, C. S. Biometria da tíbia e fêmur de codornas japonesas alimentadas com níveis crescentes de soja extrusada. **Research, Society and Development**, n. 9, v. 2, p. e199922249-e199922249, 2020.

GOUVEIA, A. B. V. S.; DE PAULO, L. M.; DA SILVA, J. M. S.; DE SOUSA, F. E.; DOS SANTOS, F. R.; MINAFRA, C. S. Subprodutos da soja na alimentação de aves: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e471974187-e471974187, 2020.

HEGER, J.; WILTAFSKY, M.; ZELENKA, J. Impact of different processing of full-fat soybeans on broiler performance. **Czech J. Anim. Sci**, v. 61, p. 57-66, 2016.

JARDIM, M. M. et al. Avaliação estatística das variáveis relacionadas a qualidade de farelo de soja para frangos de corte. 2019.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 10ª edição. **Rio de Janeiro**, 2004.

LAW, F. L.; ZULKIFLI, I.; SOLEIMANI, A. F.; LIANG, J. B.; AWAD, E. A. The effects of low-protein diets and protease supplementation on broiler chickens in a hot and humid tropical environment. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 31, n. 8, p. 1291, 2018.

LEINONEN, I.; WILLIAMS, A. G. Effects of dietary protease on nitrogen emissions from broiler production: a holistic comparison using Life Cycle Assessment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 95, v. 15, p. 3041-3046, 2015.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science e Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 31-67, 1994.

LIMA, C. B.; COSTA, F. G. P.; LUDKE, J. V.; DE LIMA JÚNIOR, D. M.; DE ALBUQUERQUE MARIZ, T. M.; PEREIRA, A. A.; DE ALMEIDA, A. C. A. Fatores antinutricionais e processamento do grão de soja para alimentação animal. **Agropecuária científica no semiárido**, v. 10, n. 4, p. 24-33, 2015.

LOPES, RITA DE CÁSSIA STAMPINI OLIVEIRA. **Avaliação de fêmures de frangos de corte alimentados com farelo de resíduo de manga**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, 2009.

MENEGHETTI, C.; BERTECHINI, A. G.; RODRIGUES, P. B.; FASSANI, E. J.; BRITO, J. A. G.; REIS, M. P.; GARCIA JR, A. A. P. Altos níveis de fitase em rações para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 63, v. 3, p. 624-632, 2009.

MINAFRA, C. S.; MORAES, G. H. K.; LOPES, A. C. C.; LOPES JÚNIOR, C. O.; VIEITES, F. M.; REZENDE, C. S. M.; VIU, M. A. O. Balanço eletrolítico e proteico dietéticos sobre as aminotransferases hepáticas, renais e séricas e teores séricos de magnésio e cloro de frangos de corte. 2009.

MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. D. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.

MUKHERJEE, R.; CHAKRABORTY, R.; DUTTA, Abhishek. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal—a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, n. 11, p. 1523, 2016.

NAVEED, G.; EHTISHAM-UL-HAQUE, S.; KHAN, I.; UR RAHMAN, S.; ANAM, S.; USMAN, M.; ANJUM, F. R. Enhancement in humoral response against inactivated Newcastle disease vaccine in broiler chickens administered orally with plant-derived soyasaponin. **Poultry Science**, 2020.

NIKMARAM, N.; LEONG, S. Y.; KOUBAA, M.; ZHU, Z.; BARBA, F. J.; GREINER, R.; ROOHINEJAD, S. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. **Food Control**, n. 79, p. 62-73, 2017.

OLIVEIRA, A. S. **Produção e caracterização físico-química e biológica da cadeia alfa da lectina recombinante de *Canavalia brasiliensis***. Tese de Doutorado. PhD Thesis. Federal University of Ceara: Brazil, 2017.

ONO, R. K.; PALUDO, E.; IBELLI, A. M. G.; PEIXOTO, J. D. O.; PETRY, B.; PANDOLFI, J. R. C.; LEDUR, M. Fatores relacionados à variação na expressão gênica no fêmur de frangos de corte. In: **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, Anais. Ribeirão Preto: SBMA, 2017.

PAN, L.; FAROUK, M. H.; QIN, G.; ZHAO, Y.; BAO, N. The influences of soybean agglutinin and functional oligosaccharides on the intestinal tract of monogastric animals. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 2, p. 554, 2018.

PARSONS, C. M.; ZHANG, Y.; ARABA, M. Nutritional evaluation of soybean meals varying in oligosaccharide content. **Poultry Science**, v. 79, n. 8, p. 1127-1131, 2000.

PATUSSI, R. A., DE SOUZA, K. A., DE OLIVEIRA, E. R., DE MENEZES GRESSLER, M. G., LIMA, H. L., DA SILVA BRABES, K. C., DE ARAÚJO GABRIEL, A. M. Composição bromatológica e degradabilidade ruminal de resíduos da pré-limpeza de soja utilizados na alimentação de ovinos. **PUBVET**, v. 5, p. 1192-1198, 2011.

PELICANO, E. R. L.; BERNAL, F. E. M.; FURLAN, R. L.; MALHEIROS, E. B.; MACARI, M. Efeito da temperatura ambiente e da restrição alimentar protéica ou energética sobre o ganho de peso e crescimento ósseo de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 353-360, 2005.

PIZAURO JUNIOR, J. M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Tibial dyschondroplasia: mechanisms of the lesion and control. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 3, p. 169-186, 2002.

PROCÓPIO, D. P. Principais causas e a perda econômica de condenações totais de carcaças de aves em frigoríficos abatedouros supervisionados pelo SIF no rio grande do sul de 2006 a 2019. **South American Development Society Journal**, v. 6, n. 16, p. 94, 2020.

RADA, V.; LICHOVNIKOVA, M.; SAFARIK, I. The effect of soybean meal replacement with raw full-fat soybean in diets for broiler chickens. **Journal of Applied Animal Research**, v. 45, n. 1, p. 112-117, 2017.

RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOŠOVÁ, D.; MÁČAJOVÁ, M.; SEDLAČKOVÁ, M.; KOŠŤÁL, E.; VÝBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n.145, v. 3, p. 363-371, 2006.

RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, W.E. E.; BALOG, J.M. Fatores que regulam a maturidade e resistência óssea em aves. **Ciência avícola**, n. 79, v. 7, p. 1024-1032, 2000.

REZENDE, M. S.; SILVA, P. L.; GUIMARÃES, E. C.; LELLIS, C. G.; MUNDIM, A. V. Variações fisiológicas, influência da idade e sexo no perfil bioquímico sanguíneo de aves da linhagem pesada de frango de corte na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 71, v. 5, p. 1649-1658, 2019.

ROCHA-E-SILVA, R. C.; CORDEIRO, L. A. V.; SOTO-BLANCO, B. Cyanide Toxicity and Interference with Diet Selection in Quail. **Poisoning By Plants, Mycotoxins, and Related Toxins**, p. 420, 2011.

SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; BENAVIDES-REYES, C., TORRES, C.; DOMINGUEZ-GASCA, N.; GARCIA-RUIZ, A. I.; GONZALEZ-LOPEZ, S.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B. Changes with age (from 0 to 37 D) in tibiae bone mineralization, chemical composition and structural organization in broiler chickens. **Poultry science**, v. 98, n. 11, p. 5215-5225, 2019.

SANTOS, F. R.; MINAFRA, C. S.; OLIVEIRA, N. R. D. Fontes de fibra solúvel e insolúvel sobre características de carcaça e qualidade de carne de frangos de crescimento lento. 2019.

SANTOS, F. R.; SANTANA, R. O.; CARVALHO, E. D. A.; COSTA, N. A.; MINAFRA, C. S.; OLIVEIRA, P. R. Desempenho e perfil sérico bioquímico de frangos de corte alimentados com rações contendo produtos homeopáticos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 394-405, 2014.

SARAIVA, G. L.; LAZARETTI-CASTRO, M. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 72-78, 2002.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A. C. Patologia clínica em aves de produção—uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola—revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, 2007.

SELLE, P. H. et al. Implications of sorghum in broiler chicken nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 156, n. 3-4, p. 57-74, 2010.

SHIM, M. Y. et al. The effects of growth rate on leg morphology and tibia breaking strength, mineral density, mineral content, and bone ash in broilers. **Poultry Science**, v. 91, n. 8, p. 1790-1795, 2012.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 3-9, Apr. 2000.

SILVA, F. A. D.; MORAES, G. H. K. D.; RODRIGUES, A. C. P.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; OLIVEIRA, M. G. D. A.; FANCHIOTTI, F. E. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina D3 nos fêmures e tibiotarsos de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 2067-2077, 2001.

SILVA, F, M. N. Principais problemas locomotores na avicultura industrial. **PUBVET**, v. 6, p. 1369, 2016.

SOUZA, C. G.; DE MOURA, A. K. B.; DA SILVA, J. N. P.; SOARES, K. O.; DA SILVA, J. V. C.; VASCONCELOS, P. C. Fatores antinutricionais de importância na nutrição animal: Composição e função dos compostos secundários. **PUBVET**, v. 13, p. 166, 2019.

SOUZA, C. S.; VIEITES, F. M. Vitamina D3 e seus metabólitos para frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 241, p. 11-24, 2014.

DE SOUZA, A. F. G. O. TECIDO ÓSSEO EM FRANGOS DE CORTE. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.9, n° 01 p.1663- 1679, 2012.

STEFANELLO, C.; VIEIRA, S. L.; RIOS, H. V.; SIMÕES, C. T.; SORBARA, J. O. B. Energy and nutrient utilisation of broilers fed soybean meal from two different Brazilian production areas with an exogenous protease. **Animal Feed Science and Technology**, v. 221, p. 267-273, 2016.

TALATY, P. N.; KATANBAF, M. N.; HESTER, P. Y. Life cycle changes in bone mineralization and bone size traits of commercial broilers. **Poultry science**, v. 88, n. 5, p. 1070-1077, 2009.

THAKUR, A.; SHARMA, V.; THAKUR, A. Uma visão geral dos fatores anti-nutricionais nos alimentos. **IJCS**, v. 7, n. 1, p. 2472-2479, 2019.

THORPE, J.; BEAL, J.D. Vegetable protein flours and the effects of enzymes. BEDFORD, MR; PARTRIDGE, GG **Enzimas na nutrição agrícola**. Londres: Cab International, p. 125-143, 2001.

TOMASZEWSKA, E.; DOBROWOLSKI, P.; KLEBANIUK, R.; KWIECIEŃ, M.; TOMCZYK-WARUNEK, A.; SZYMAŃCZYK, S.; MUSZYŃSKI, S. Gut-bone axis response to dietary replacement of soybean meal with raw low-tannin faba bean seeds in broiler chickens. **Plos one**, v. 13, n. 3, p. e0194969, 2018.

VAGADIA, B. H.; VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor—A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p. 115-125, 2017.

VALENTINE, M. F.; DE TAR, J. R.; MOOKKAN, M.; FIRMAN, J. D.; ZHANG, Z. J. Silencing of soybean raffinose synthase gene reduced raffinose family oligosaccharides and increased true metabolizable energy of poultry feed. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 692, 2017.

VELA, C. G. **O balanço de nutrientes, o uso aparente fornece energia e digestibilidade aparentes e padronizados, dois aminoácidos de farelo de trigo, farelo de arroz, sorgo, farelo de canola, farelo de Girassol, milho, farelo de soja e soja integral extrudida, incluindo isolados e combinados de multi-carboidratos e fitase, em francos cortados dois a 14 anos e 21 dias a partir da idade** . 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VELLEMAN, S. G. The role of the extracellular matrix in skeletal development. **Poultry science**, v. 79, p. 985-989, 2000.

VIEITES, F. M.; FRAGA, A. L.; SOUZA, C. S.; ARAÚJO, G. M.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; NUNES, R. V.; CORRÊA, G. S. S. Desempenho de frangos de corte alimentados com altos valores de balanço eletrolítico em região de clima quente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 2, p. 441-447, 2011.

WALK, C. L.; POERNAMA, F. Evaluation of phytase, xylanase, and protease in reduced nutrient diets fed to broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 1, p. 85-93, 2019.

WANG, J.; KUANG, H.; ZHANG, Z.; YANG, Y.; YAN, L.; ZHANG, M.; GUAN, Y. Generation of seed lipoxygenase-free soybean using CRISPR-Cas9. **The Crop Journal**, 2019.

- WARREHAM, C. N.; WISEMAN, J.; COLE, D. J. A. Processing and antinutritive factors in feedstuffs. **Principles of Pig Science**. **DJA Cole, J. Wiseman and MA Varley Eds, Nottingham Press, Nottingham, United Kingdom**, p. 141-167, 1994.
- WEDEKIND, K. J.; CHEN, J.; YAN, F.; ESCOBAR, J.; VAZQUEZ-ANON, M. Efficacy of a mono-component protease is affected by trypsin inhibitor concentration in soybean meal. **Animal Feed Science and Technology**, p. 114502, 2020.
- WOYENGO, T. A.; BELTRANENA, E.; ZIJLSTRA, R. T. Effect of anti-nutritional factors of oilseed co-products on feed intake of pigs and poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 233, p. 76-86, 2017.
- YANG, A.; SMYTH, H.; CHALIHA, M.; JAMES, A. Sensory quality of soymilk and tofu from soybeans lacking lipoxygenases. **Food science & nutrition**, v. 4, n. 2, p. 207-215, 2016.
- YASOTHAI, R. Antinutritional factors in soybean meal and its deactivation. **International Journal of Science, Environment and Technology**, v. 5, n. 6, p. 3793-3797, 2016.
- YIN, H.; JIA, F.; HUANG, J.; ZHANG, Y.; ZHENG, X.; ZHANG, X. Effect of extrusion on the structure and antigenicity of soybean β -conglycinin. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 67-72, 2019.
- YU, B.; WU, ST.; LIU, CC.; GAUTHIER, R.; CHIOU, PW. Effects of enzyme inclusion in a maize–soybean diet on broiler performance. **Animal feed science and technology**, v. 134, n. 3-4, p. 283-294, 2007.

CAPÍTULO II – BIOQUÍMICA SANGUÍNEA E BIOMETRIA ÓSSEA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM QUIRERA DE SOJA

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de níveis crescentes de quirera de soja em substituição ao farelo de soja, com e sem protease sobre a correlação do perfil bioquímico dos minerais e biometria da tíbia e fêmur em frangos de corte. Foram utilizadas 500 aves da linhagem Cobb[®], níveis de 0, 3, 6, 9 e 12% de quirera de soja e protease, durante o período experimental de 42 dias. O delineamento foi inteiramente ao acaso, sendo dez tratamentos e cinco repetições contendo dez aves por repetição. Os tratamentos consistiram na substituição do farelo de soja por quirera de soja, com e sem adição da enzima protease nas rações à base de milho e farelo de soja. Foram determinados os níveis de cálcio (Ca), fósforo (P) e fosfatase alcalina (FA) no sangue e análise da biometria da tíbia e fêmur e suas correlações sobre as fases de sete, 14, 21 e 42 dias de idade. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa R quando o teste F foi significativo foi aplicada a análise de regressão polinomial a 5% de probabilidade. Os níveis de quirera de soja afetaram significativamente ($p < 0,05$) tanto as concentrações sanguíneas do cálcio e fósforo quanto o peso da tíbia e fêmur para todas as fases crescimento. Concluiu-se que a utilização de até 3% da quirera de soja em substituição ao farelo de soja na alimentação de frangos de corte pode ser utilizado sem afetar o metabolismo de cálcio e fósforo. Faz-se necessário evidenciar que a partir de 6% de quirera de soja, houve influência negativa comprovada pelas alterações séricas dos minerais e pelo aumento da fosfatase alcalina indicando que houve remodelamento ósseo. O Índice de Seedor apresentou redução significativa com níveis crescentes de quirera, e denotou a redução da densidade óssea que levou a formação de ossos frágeis e problemas locomotores.

Palavras-chave: cálcio, fatores antinutricionais, fosfatase alcalina, sangue, tecido ósseo

CHAPTER II - BLOOD BIOCHEMISTRY AND BONE BIOMETRY OF BROILERS FED WITH GROUND SOYBEAN COPRODUCT

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of increasing levels of grind whole soybeans in substitution to soybean meal, with and without protease on the correlation of the biochemical profile of minerals and biometry of the tibia and femur in broilers. A total of 500 birds of the Cobb® line fed with levels of 0, 3, 6, 9 and 12% of soybean and protease chicks, were used during the 42-day experimental period. The design was completely randomized, with ten treatments and five repetitions containing ten birds per repetition. The treatments consisted of replacing soybean meal by grind whole soybean, with and without the addition of the protease enzyme in diets based on corn and soybean meal. The levels of calcium (Ca), phosphorus (P) and alkaline phosphatase (FA) in the blood were determined as well as the analysis of the tibia and femur biometrics and their correlations over the seven, 14, 21 and 42 days of age. The results were submitted to analysis of variance by the R program when the F test was significant, polynomial regression analysis was applied, at 5% probability. The levels of grind whole soybean significantly affected ($p < 0.05$) both the blood concentrations of calcium and phosphorus and the weight of the tibia and femur for all growth phases. It was concluded that the use of up to 3% of grind whole soybeans in substitution to soybean meal in broiler chickens can be used without affecting the metabolism of calcium and phosphorus. It is necessary to highlight that from 6% of grind whole soybeans, there was a negative influence confirmed by the serum alterations of minerals and by the increase in alkaline phosphatase indicating that there was bone remodeling. The Seedor Index showed a significant reduction with increasing levels of grind whole, which denoted the reduction in bone density that led to the formation of fragile bones and locomotor problems.

Keywords: alkaline phosphatase, antinutritional factors, blood, bone tissue, calcium

1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um fator determinante na integridade do organismo animal e representa grande parte dos custos na produção avícola. O uso de coprodutos agroindustriais na alimentação animal representa alternativa viável, tanto no enfoque nutricional como econômico. Estudos vêm sendo desenvolvidos objetivando a diminuição dos custos de produção com redução do preço final do frango de corte ao consumidor, trazendo também benefícios ao meio ambiente (SOUZA et al., 2019).

O uso da quirera de soja, resíduo de limpeza da soja pode ser uma alternativa para muitos criadores em substituição ao farelo de soja nas rações, que apresenta preço elevado por sua grande utilização para aves e suínos (CAÇÃO et al., 2014).

Todavia, a utilização na avicultura deve ser avaliada, pois apresenta algumas problemáticas, entre elas, os fatores antinutricionais que estão associados a menor qualidade proteica, menor metabolizabilidade dos nutrientes e baixa aceitação por parte dos animais (LIMA et al., 2015).

Os fatores antinutricionais estão presentes em diversos alimentos de origem vegetal, após ingeridos, diminuem o valor nutricional, podendo prejudicar a digestibilidade, absorção e aproveitamento dos nutrientes. Esses fatores podem ser modificados ou reduzidos por diferentes métodos de processamento, como aquecimento, aplicação de enzimas, irradiação, fermentação, métodos mecânicos como descasque e moagem, processamento de alta pressão, micro-ondas e extrusão (NIKMARAM et al., 2017).

O uso de enzimas exógenas melhora os índices de absorção de nutrientes e, conseqüentemente, elevam a eficiência produtiva dos animais, reduzem o descarte de resíduos que poderiam ser reaproveitados e evita a poluição ambiental, ainda com a possibilidade de redução do custo de produção na avicultura (COWIESON et al., 2019).

A enzima protease tem o potencial de melhorar a digestibilidade da proteína dos ingredientes utilizados nas dietas para frangos, promovendo a redução da quantidade de proteína e o uso racional dos aminoácidos sintéticos (DESSIMONI, et al 2019).

As deformidades ósseas são causadas por alterações no processo de crescimento e homeostase no tecido ósseo. O esqueleto constitui o maior reservatório de cálcio (Ca) e fósforo (P) do organismo animal. Esses elementos são os principais formadores da matriz mineral contribuindo com 95%. No organismo esses elementos interagem de tal forma que a deficiência ou excesso pode prejudicar suas respectivas funções metabólicas. Ajustes nos ingredientes da dieta podem afetar o desenvolvimento ósseo e, conseqüentemente, problemas relacionados à locomoção (VIEITES et al., 2017).

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima que está ligada, principalmente, ao metabolismo do cálcio e fósforo, participando das atividades condrogênicas e osteoblásticas, sendo um ponto chave sobre alterações ósseas, remodelamento e crescimento das aves. Na tentativa de controlar as disfunções ósseas, bioquímicas e alterações do metabolismo, vários estudos são conduzidos para avaliar nutrientes, a fim de obter informações sobre cálcio, fósforo, fosfatase alcalina no soro sanguíneo (MINAFRA et al., 2008).

Os estudos sobre a utilização de quirera de soja na alimentação animal são escassos, mas o aumento no incentivo de pesquisas neste segmento pode trazer benefícios à saúde animal e humana, ao custo de produção e ao impacto ambiental.

Portanto, objetivou-se avaliar o efeito de níveis crescentes de quirera de soja em substituição ao farelo de soja, com e sem protease sobre a correlação do perfil bioquímico dos minerais e biometria óssea de tíbia e fêmur em frangos de corte.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e animais

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de ética em Pesquisa com Uso de Animais sob o protocolo de número 6197300816. O experimento foi conduzido em aviário e laboratório localizados na cidade de Rio Verde – Goiás, Brasil, latitude 17°48'28"S e longitude 50°53'57"O.

O procedimento de limpeza e desinfecção das instalações do galpão atendeu as normas do Manual de Criação de aves Cobb® (equipamentos, piso, telas, cortinas e área externa) e foi realizado no período de sete dias, sendo dois dias para a realização da limpeza e cinco dias para o vazio sanitário, com desinfetante à base de amônia quaternária e glutaraldeído.

Foram utilizadas 500 aves de um dia de idade, machos, da linhagem Cobb®, adquiridos de incubatório comercial, devidamente vacinados, com peso inicial $47 \pm 0,1$ gramas. O período experimental foi de 42 dias em que as aves foram alojadas em baterias de aço galvanizado, com quatro andares, dimensões de 0,90 x 0,60 x 0,40 m e número de 10 aves/ gaiola. As temperaturas foram dentro das faixas de normalidade para criação.

O programa de luz adotado foi de 24 horas, utilizando iluminação natural durante o dia e artificial à noite com lâmpadas fluorescentes de 100 watts, a água e as rações experimentais forma disponibilizada à vontade com bebedouro e comedouro linear por parcela (unidade experimental).

2.2 Delineamento e tratamentos experimentais

O delineamento foi inteiramente ao acaso (DIC), sendo dez tratamentos e cinco repetições contendo dez aves por repetição.

Os tratamentos consistiram na substituição do farelo de soja por quirera de soja, com e sem adição da enzima proteolítica nas rações à base de milho e farelo de soja. Foi realizado em esquema fatorial 5x2, em que: T1 - Dieta controle à base de milho e farelo de soja sem adição enzimática; T2 - Ração de milho e 3% de quirera de soja sem adição de protease; T3 - Ração de milho e 6% de quirera de soja sem adição de protease; T4 - Ração de milho e 9% de quirera de soja sem adição de protease; T5 - Ração de milho e 12% quirela de soja sem adição de protease; T6 - Dieta controle à base de milho e farelo de soja com adição de enzima proteolítica; T7 - Ração de milho e 3% de quirera de soja com adição de protease; T8 - Ração de milho e 6% de quirera de soja com adição de protease; T9 - Ração de milho e 9% de quirera de soja com adição de protease; T10- Ração de milho e 12% quirela de soja com adição de protease.

As rações, para cada fase, foram feitas um dia anterior à disponibilização aos animais, para que a ação da enzima sobre a dieta fosse efetiva. A quirera de soja foi obtida na região do município

de Rio Verde – Goiás, doada pela empresa Produtos Alimentícios Orlândia S/A, conhecida como Brejeiro, localizada na rodovia BR 060 – Km 426,7 – Rio Verde – GO – 75901.970.

O resíduo da soja foi acondicionado em sacos de 60 kg e levados ao local da pesquisa em Rio Verde – GO. Posteriormente, formulou-se as rações de acordo com as exigências nutricionais durante os 42 dias seguindo-se Rostagno et al. (2017).

A composição química centesimal (%) da quirera de soja foi de umidade 11,83%, proteína bruta (PB) 31,91%, matéria mineral (MM) 8,29%, solubilidade proteica KOH 0,2% de 87,49%, atividade ureática de 2,04 incluída nas rações experimentais.

Foram utilizados 200g/tonelada da enzima protease com inclusão “on top”. Esta enzima é uma protease produzida da fermentação de *Bacillus licheniformis*, contendo genes transcritos de *Nocardopsis prasina*. A atividade enzimática para esta enzima é definida pela quantidade de enzima necessária para degradar 1 μmol de p-nitroaniline a partir de 1 μM do substrato (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-N-succinyl Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide) por minuto, em um pH de 9,0 e 37 °C. O Produto utilizado tem 75000 unidades de protease/g de enzima.

Adicionou-se a quirera de soja à ração experimental em diferentes níveis de substituição ao farelo de soja, com e sem a enzima protease, de maneira a ajustar as composições dietéticas experimentais, mantendo os mesmos índices nutricionais de todas as rações.

As rações foram formuladas considerando um programa alimentar de quatro fases: pré-inicial, inicial, crescimento e final de acordo com Rostagno et al. (2017), as quais foram fabricadas na própria instituição.

Em seguida, foi fornecido a dieta em comedouros tipo calha para os animais durante todo o período experimental. E fornecido água à vontade em bebedouros tipo calha.

Na tabela 1 está apresentada a composição centesimal e níveis nutricionais calculados das rações experimentais, com os níveis de 0, 3, 6, 9 e 12% de quirera de soja que foram utilizadas durante o período experimental de 42 dias. As rações foram isoaminoacídicas e isonutrientes.

Tabela 1. Composição centesimal e níveis nutricionais calculados das dietas 0, 3, 6, 9 e 12% de quirera de soja da fase pré-inicial, inicial, crescimento e final.

Ingredientes (%)	Pré-inicial					Inicial					Crescimento					Final				
	0%	3%	6%	9%	12%	0%	3%	6%	9%	12%	0%	3%	6%	9%	12%	0%	3%	6%	9%	12%
Milho 8,58%	51.19	49.96	48.50	47.20	45.97	52.65	51.25	50.46	49.47	48.26	59.19	57.80	56.59	55.39	54.14	67.25	65.30	64.09	62.87	61.59
Farelo de Soja 46%	43.25	41.48	39.74	37.97	36.20	40.84	39.09	37.23	35.42	33.63	35.65	34.94	32.15	30.35	28.60	27.90	26.14	24.35	22.57	20.80
Quirera de Soja	0.00	3.00	6.00	9.00	12.00	0.00	3.00	6.00	9.00	12.00	0.00	3.00	6.00	9.00	12.00	0.00	3.00	6.00	9.00	12.00
Óleo de Soja	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	2.95	2.95	2.60	2.40	2.30	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Calcário	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.75	0.80	0.80	0.80	0.90	0.35	0.40	0.40	0.35	0.35	0.05	0.05	0.05	0.05	0.00
Fosfato Bicálcico	2.50	2.50	2.70	2.70	2.70	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	2.70	2.75	2.75	2.80	2.80	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10
*Premix	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
DL-Metionina	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Lisina e	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.50	0.05	0.05	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Sal Comum	0.53	0.53	0.53	0.60	0.60	0.50	0.60	0.60	0.60	0.60	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.45	0.45	0.45	0.45	0.50
BHT	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
E. Metabolizável (Kcal/kg)	3000	3000	3000	3000	3000	3100	3100	3100	3100	3100	3200	3200	3200	3200	3200	3250	3250	3250	3250	3250
Proteína Bruta, (%)	25.31	25.31	25.31	25.31	25.31	24.27	24.27	24.27	24.27	24.27	22.60	22.60	22.60	22.60	22.60	19.54	19.54	19.54	19.54	19.54
Lisina digestível (%)	1.27	1.28	1.29	1.30	1.31	1.21	1.22	1.23	1.24	1.25	1.20	1.21	1.22	1.23	1.24	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09
Metionina digestível (%)	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.60	0.60	0.60	0.61	0.61	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
Cálcio (%)	1.04	1.04	1.08	1.07	1.06	0.91	0.92	0.91	0.90	0.94	0.93	0.96	0.95	0.94	0.93	1.14	1.13	1.13	1.12	1.11
Fósforo disponível (%)	0.85	0.83	0.85	0.84	0.83	0.47	0.46	0.46	0.46	0.45	0.61	0.62	0.61	0.62	0.61	0.86	0.86	0.85	0.85	0.84
Sódio (%)	0.23	0.23	0.23	0.25	0.25	0.22	0.26	0.26	0.25	0.25	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.20	0.20	0.20	0.20	0.22

*Premix Vitamínico Mineral (Níveis Nutricionais por Quilo de Produto) – Ácido fólico (MIN) 100mg/kg, Ácido Patotênico (MIN) 2000 mg/kg, Biotina (MIN) 13,34 mg/kg, Cobre (MIN) 8,800 mg/kg, Colina (MIN) 52,02 g/kg, Ferro (MIN) 3,340 mg/kg, Fitase (MIN) 66,66 FTU/kg, Iodo (MIN) 160 mg/kg, Manganês (MIN) 9340 mg/kg Selênio (MIN) 45 mg/kg, Vitamina A (MIN) 1000000 mg/kg, Vitamina B1 (MIN) 200 mg/kg, Vitamina b12 (MIN) 2400 mcg/kg, Vitamina B2 (MIN) 640 mg/kg, Vitamina B6 (MIN) 300 mg/kg, Vitamina D3 (MIN) 200.000 UI/kg, Vitamina E (MIN) 2.800 UI/kg, Vitamina K3 (MIN) 320 mg/kg, Zinco (MIN) 7.334 mg/kg.

2.3 Perfil bioquímico do sangue

Para determinação do perfil bioquímico sérico, foi abatida uma ave de cada repetição de cada tratamento aos sete, 14, 21 e 42 dias de vida. O sangue dos animais sacrificados foi colhido no momento do deslocamento cervical das aves e posterior degola, e as amostras foram identificadas e processadas segundo metodologia de (MINAFRA et al., 2010).

As amostras sanguíneas após identificadas foram centrifugadas a 6.000 rpm por 10 minutos, para separação do soro, que foi imediatamente congelado. Para posterior análise das concentrações séricas de cálcio (Ca), fósforo (P) e fosfatase alcalina (FA).

As amostras foram analisadas no espectrofotômetro da marca Spectrum Celer®, a metodologia utilizada para dosagem de cálcio foi Arsenazo III, fósforo o método Gomori modificado e para fosfatase alcalina o método cinético DGKC.

2.4 Biometria Tíbias e fêmures

Os parâmetros ósseos avaliados foram peso, comprimento, espessura e Índice Seedor. A partir das aves abatidas para determinação do perfil bioquímico (aos sete, 14, 21 e 42 dias) foram retiradas as tíbias e fêmures das pernas direitas que foram descarnadas, identificadas e limpas de tecido aderente, resíduos de carne e cartilagem.

Para determinar o peso das tíbias, foi utilizado uma balança analítica de 0,01g, as medidas de comprimento e espessura mediana, por meio de paquímetro digital de precisão (Jomarca®) de 0,02mm. O índice de Seedor (IS) foi obtido dividindo o peso, em mg, pelo comprimento, em mm (SEEDOR et al., 1991).

2.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa R quando o teste F foi significativo, foi aplicada a análise de regressão polinomial, a 5% de probabilidade.

Modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$

$$k = 1, 2, \dots, n$$

em que:

μ é o efeito da média geral;

τ_i é o efeito do i-ésimo nível do fator linha A;

β_j é o efeito do j-ésimo nível do fator coluna B;

$(\tau\beta)_{ij}$ é o efeito da interação entre τ_i e β_j ; ε_{ijk} é o componente de erro aleatório.

3 RESULTADOS

Aos sete dias de idade os teores de cálcio sérico das aves diferiram ($p < 0,05$) tanto para níveis crescentes de quirera quanto para a presença e ausência da enzima protease. A interação entre crescentes níveis de quirera e protease não foi significativa ($p > 0,05$). A equação linear $y = 7,95 + (-0,13x)$ [$R^2 = 0,90$] do cálcio para diferentes níveis de quirera, mostra que quanto maior a porcentagem de quirera na alimentação dos frangos menor é o nível de cálcio sérico presente nesses animais (Tabela 2).

Tabela 2. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos sete dias de idade.

	Bioquímica Sérica – sete dias										
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EMP ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	QxP ⁵
	Cálcio (mg/dl)										
Sem	7,41	7,14	6,41	6,29	6,17	6,69 ^b	0,13	10,2	0,006 ⁶	0,003	0,230
Com	8,12	8,20	8,41	6,85	6,51	7,62 ^a	0,28				
Média	7,76	7,67	7,41	6,57	6,34						
	Fósforo (mg/dl)										
Sem	4,15	3,81	3,67	3,54	3,16	3,67	0,16	13,02	0,005 ⁷	0,387	0,999
Com	4,32	3,96	3,79	3,61	3,33	3,80	0,18				
Média	4,23	3,88	3,73	3,57	3,24						
	Fosfatase Alcalina (UI/L)										
Sem	59,07	57,69	67,93	84,00	88,00	71,33	2,96	5,76	0,001 ⁸	0,872	0,310
Com	59,55	62,66	64,49	81,75	87,18	71,12	2,70				
Média	59,31	60,17	66,21	82,87	87,59						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação linear $y = 7,95 + (-0,13x)$ [$R^2 = 0,90$]; 7 Equação linear $y = 4,19 + (-0,07x)$ [$R^2 = 0,97$]; 8 Equação Quadrática $y = 57,99 + 0,89x + 0,14x^2$ [$R^2 = 0,94$]

Os teores de fósforo aos sete dias foram significativos ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera e não foram significativos ($p > 0,05$) para a presença e ausência de protease nem para a interação. A Equação linear $y = 4,19 + (-0,07x)$ [$R^2 = 0,97$] do fósforo para diferentes níveis de quirera, mostra que quanto maior o nível de quirera menor a concentração sérica de fósforo (Tabela 2).

Aos sete dias a fosfatase alcalina (FA) apresentou valores séricos significativos ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera e não foram significativos ($p > 0,05$) para presença e ausência de protease nem para interação. A equação quadrática $y = 57,99 + 0,89x + 0,14x^2$ [$R^2 = 0,94$] da FA para diferentes níveis de quirera, mostra que até 3% de quirera ocorre diminuição da FA em relação ao grupo controle. A partir de 6% de quirera para cima os valores de FA começam a aumentar (Tabela 2).

Aos 14 dias o cálcio apresentou valores séricos significativos ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera, não foram significativos ($p > 0,05$) para presença e ausência de protease e para interação.

A equação linear $y=7,71+(-0,10x)$ [$R^2=0,97$] mostra que quanto maior o nível de quirera menor o valor sérico de cálcio (Tabela 3).

Tabela 3. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 14 dias de idade.

Bioquímica Sérica – 14 dias											
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EMP ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
Cálcio (mg/dl)											
Sem	7,65	7,41	6,88	6,76	6,61	7,06	0,11	5,97	0,002 ⁶	0,538	0,279
Com	7,89	7,19	7,48	6,84	6,37	7,15					
Média	7,77	7,3	7,18	6,80	6,49						
Fósforo (mg/dl)											
Sem	4,07	3,81	3,55	3,34	3,09	3,57 ^b	0,11	10,44	0,002 ⁷	0,034	0,950
Com	4,46	4,20	3,79	3,55	3,22	3,84 ^a					
Média	4,26	4,00	3,67	3,44	3,15						
Fosfatase Alcalina (UI/L)											
Sem	56,25	55,19	73,00	83,00	82,25	69,93	2,91	7,3	0,001 ⁸	0,198	0,704
Com	60,67	60,83	73,75	83,50	81,71	72,09	2,53				
Média	58,46	58,01	73,37	83,25	81,98						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear $y=7,71+(-0,10x)$ [$R^2=0,97$]; 7 Equação Linear $y=4,26+(-0,09x)$ [$R^2=0,99$]; 8 Equação Quadrática $y=55,54+3,088x+(-0,056x^2)$ [$R^2=0,87$]

O fósforo sérico aos 14 dias (Tabela 3) foi significativo ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera, para presença e ausência de protease e não foi significativo ($p>0,05$) para interação entre quirera e protease. A equação linear $y=4,26+(-0,09x)$ [$R^2=0,99$], mostra que quanto maior o nível de quirera menor o valor sérico de fósforo. Animais que se alimentaram da ração com protease apresentaram valores séricos de fósforo maiores que os animais que comeram sem a protease.

Aos 14 dias (Tabela 3) a FA apresentou valores séricos significativos ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera, não foram significativos ($p>0,05$) para presença e ausência de protease e para interação. A equação quadrática $y=55,54+3,088x+(-0,056x^2)$ [$R^2=0,87$] mostra que os valores de FA diminuíram até o nível de 3% de quirera e aumentaram a partir de 6%.

Na bioquímica sérica aos 21 dias (Tabela 4), o valor de cálcio foi significativo ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera e para presença e ausência de protease. Indicando que a presença da protease aumentou a concentração de cálcio no sangue. Não foi significativo ($p>0,05$) para interação entre quirera e protease. A equação linear $y=7,68+(-0,15x)$ [$R^2=0,98$], mostra que quanto maior o nível de quirera menor a concentração sérica de cálcio.

Tabela 4. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 21 dias de idade.

Bioquímica Sérica – 21 dias											
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EMP ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
Cálcio (mg/dl)											
Sem	7,34	7,26	6,51	6,01	5,86	6,59	0,16	6,71	0,002 ⁶	0,022	0,639
Com	7,86	7,77	6,98	6,59	5,84	6,94	0,18				
Média	7,60	7,51	6,74	6,30	5,85						
Fósforo (mg/dl)											
Sem	4,20	3,64	3,58	3,40	3,00	3,76	0,11	8,88	0,005	0,071	0,169
Com	3,87	3,90	3,82	3,74	3,45	3,56	0,07				
Média	4,03	3,77	3,70	3,57	3,22						
Fosfatase Alcalina (UI/L)											
Sem	62,19	64,64	67,52	84,00	87,00	72,57	3,06	7,97	0,003 ⁷	0,136	0,704
Com	62,12	62,28	65,02	77,21	82,48	69,82	2,34				
Média	62,15	63,46	66,27	80,60	84,74						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interações Quirera x Protease; 6 Equação Linear $y=7,68+(-0,15x)$ [$R^2=0,98$]; 7 Equação Quadrática $y=61,12+0,36x+0,14x^2$ [$R^2=0,93$]

Aos 21 dias (Tabela 4) os valores de fósforo foram significativos ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera e não foi significativo ($p>0,05$) para presença e ausência de protease nem para interação. Quanto maior a porcentagem de quirera na ração menor a concentração de fósforo sérico. Demonstrando que o aumento de quirera na ração de frangos de corte influenciou na absorção de fósforo.

A FA aos 21 dias apresentou valores significativos ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera e não significativos ($p>0,05$) para presença e ausência de protease e interação. A equação quadrática $y=61,12+0,36x+0,14x^2$ [$R^2=0,93$] mostra que os valores de FA foram semelhantes até o nível de 3% de quirera em relação ao grupo controle e aumentaram a medida que subiu a porcentagem de quirera na ração desses animais, por questão de ajuste ao R^2 foi considerada a equação quadrática (Tabela 4).

A bioquímica sérica aos 42 dias o cálcio apresentou valores séricos significativos ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera. Não foram significativos ($p>0,05$) para presença e ausência de protease e para interação. A equação linear $y=8,55+(-0,16x)$ [$R^2=0,97$] mostra que quanto maior o nível de quirera menor o valor sérico de cálcio (Tabela 5).

Tabela 5. Bioquímica sérica do cálcio, fósforo e fosfatase alcalina de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 42 dias de idade.

Bioquímica Sérica – 42 dias											
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EMP ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
Cálcio (mg/dl)											
Sem	8,52	8,00	7,57	6,70	6,55	7,47	0,20	7,31	0,01 ⁶	0,33	0,97
Com	8,67	8,00	7,67	7,05	6,80	7,64	0,18				
Média	8,59	8,00	7,62	6,87	6,67						
Fósforo (mg/dl)											
Sem	4,25	4,13	3,77	3,50	3,35	3,80 ^a	0,10	6,82	0,001 ⁷	0,004	0,566
Com	4,17	3,64	3,55	3,36	3,08	3,56 ^b	0,08				
Média	4,21	3,88	3,66	4,91	3,21						
Fosfatase Alcalina (UI/L)											
Sem	69,69	65,50	70,57	85,25	91,00	76,40	2,55	8,48	0,002 ⁸	0,706	0,745
Com	70,17	70,33	72,99	85,26	87,15	77,18	2,21				
Média	69,93	67,91	71,78	85,25	89,07						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficiente de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear $y=8,55+(-0,16x)$ [$R^2=0,97$]; 7 Equação Linear $y=4,17+(-0,08x)$ [$R^2=0,99$]; 8 Equação Quadrática $y=68,71+(-0,17x)+0,16x^2$ [$R^2=0,91$]

O fósforo sérico aos 42 dias (Tabela 5) foi significativo ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera e para presença e ausência de protease. Não foi significativo ($p>0,05$) para interação entre quirera e protease. A equação linear $y=4,17+(-0,08x)$ [$R^2=0,99$] mostra que quanto maior o nível de quirera menor o valor sérico de fósforo. Os animais que se alimentaram sem a protease apresentaram valor sérico de fósforo maior que os animais que receberam ração com protease.

Aos 42 dias a FA apresentou valores séricos significativos ($p<0,05$) para níveis crescentes de quirera. Não foram significativos ($p>0,05$) para presença e ausência de protease nem para interação. A equação quadrática $y=55,54+3,088x+(-0,056x^2)$ [$R^2=0,87$] mostra que os valores de FA diminuíram até o nível de 3% de quirera e a partir de 6% houve aumento da FA (Tabela 5).

Nas tabelas da biometria da tíbia e do fêmur (Tabelas 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 e 16) os níveis de quirera apresentaram efeito significativo ($p<0,05$) para todos os pesos dos ossos das fases sete, 14, 21 e 42 dias.

O peso, o comprimento e o Índice de Seedor do fêmur aos sete dias apresentaram efeito significativo ($p<0,05$) tanto para níveis crescentes de quirera como para presença e ausência de protease. O diâmetro não sofreu efeito significativo ($p>0,05$) para quirera, para presença e ausência de protease nem para interação (Tabela 6).

Tabela 6. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos sete dias de idade.

	Biometria do fêmur sete dias										
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EPM ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	QxP ⁵
PESO (g)											
Sem	0,41	0,43 ^a	0,41 ^a	0,34	0,34	0,37A	0,009	7,1	(1e ⁻⁰⁶) ⁶	(1e ⁻⁰⁶) ⁷	1e ⁻⁰⁶
Com	0,41	0,35 ^b	0,34 ^b	0,34	0,34	0,35B	0,007				
Média	0,41	0,39	0,36	0,34	0,34						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	29,60	30,31	30,05	30,61	30,02	30,12 ^b	0,11	2,11	(8e ⁻⁰⁴) ⁸	2e ⁻⁰⁴	0,12
Com	29,87	30,39	30,98	31,48	31,49	30,84 ^a	0,18				
Média	29,73	30,35	30,51	31,05	30,75						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	3,37	3,50	3,43	3,46	3,52	3,50	0,04	6,03	0,06	0,44	0,58
Com	3,22	3,56	3,56	3,58	3,59	3,45	0,04				
Média	3,29	3,53	3,50	3,52	3,55						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	13,78	14,22 ^a	13,02 ^a	11,21	11,36	12,72	0,29	6,52	0,001 ⁹	(8e ⁻⁰⁵)	
Com	13,70	11,40 ^b	11,08 ^b	10,86	10,82	11,57	0,26				
Média	13,74	12,81	12,05	11,03	11,09						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficiente de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6- Equação Quadrática: $y=-0,0008x^2+0,0024x+0,42$ ($R^2:0,78$) 7- Equação Quadrática: $y=0,0001x^2+(-0,0165x)+0,40$ ($R^2: 0,90$); 8- Equação Linear: $y=0,09x+29,93$ ($R^2:0,77$); 9- Equação Linear: $y=-0,26x+14,29$ ($R^2:0,81$); 10- Equação Quadrática: $y=0,04x^2+(-0,65x)+13,50$ ($R^2:0,93$).

Para o fêmur aos sete dias (Tabela 6) o nível de quirera para peso apresentou a equação quadrática: $y=-0,0008x^2+0,0024x+0,42$, indicando que até o nível de 3% de quirera houve aumento do peso em relação ao controle. Acima de 3% de quirera na alimentação dos frangos o peso do fêmur diminuiu significativamente. O peso do fêmur aos sete dias foi maior nos animais que comeram a ração sem a protease que a dos animais que comeram com protease. Houve interação para níveis crescentes de quirera com e sem protease para peso e Índice de Seedor. O maior valor para peso e Índice de Seedor foi observado no nível de 3% de quirera.

O comprimento do fêmur aos sete dias em relação ao nível de quirera apresentou a equação linear: $y=0,09x+29,93$ ($R^2:0,77$), portanto quanto maior o nível de quirera maior o comprimento do fêmur. O comprimento do fêmur foi maior com protease que sem protease (Tabela 6).

O Índice de Seedor do fêmur aos sete dias em relação ao nível de quirera apresentou a equação linear: $y=-0,26x+14,29$ ($R^2:0,81$), portanto houve diminuição do Índice de Seedor à medida que se aumentou o nível de quirera. Em relação à protease o Índice de Seedor aos sete dias apresentou a equação quadrática: $y=0,04x^2+(-0,65x)+13,50$ ($R^2:0,93$) que demonstrou que os animais alimentados com protease apresentaram redução do Índice de Seedor (Tabela 6).

Aos 14 dias de idade, os níveis de quirera foram significativos para peso, diâmetro e Índice de Seedor do fêmur. Não sendo significativo para comprimento. O comprimento foi apenas alterado pela presença ou ausência de protease. Nenhum dos parâmetros foram influenciados pela interação dos fatores (Tabela 7).

Tabela 7. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 14 dias de idade.

Biometria do fêmur - 14 dias											
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EPM ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	1,51	1,55	1,46	1,16	1,18	1,32	0,04	8,13	0,01 ⁶	0,13	0,22
Com	1,48	1,53	1,31	1,23	1,07	1,37	0,03				
Média	1,49	1,54	1,38	1,19	1,12						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	39,88	39,16	39,09	38,27	39,75	39,23 ^b	0,22	2,3	0,10	0,001	0,26
Com	40,52	40,41	40,12	39,82	39,55	40,08 ^a	0,15				
Média	40,20	39,78	39,60	39,04	39,65						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	5,53	5,68	5,45	5,46	5,04	5,43	0,07	5,66	(2e ⁻⁰⁵) ⁷	0,07	0,34
Com	5,71	5,40	5,22	5,35	4,70	5,28	0,08				
Média	5,62	5,54	5,33	5,40	4,87						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	37,92	36,69	37,44	30,48	29,75	35,05 ^a	0,98	7,61	0,001 ⁸	0,01	0,24
Com	36,65	37,95	32,62	31,01	27,26	33,10 ^b	0,90				
Média	37,28	38,67	35,03	30,74	28,50						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6- Equação Quadrática: $y = -0,002x^2 + (-0,01x) + 1,53$ ($R^2:0,92$); 7- Equação Linear: $y = -0,055x + 5,68$ ($R^2:0,78$); 8- Equação Quadrática: $y = -0,063x^2 + (-0,087x) + 38,05$ ($R^2:0,92$)

A equação quadrática: $y = -0,002x^2 + (-0,01x) + 1,53$ ($R^2:0,92$), mostra que o peso do fêmur aos 14 dias sofreu aumento em relação ao controle até o nível de 3% de quirera, a partir do aumento para 6% de quirera houve diminuição do peso do fêmur (Tabela 7).

O diâmetro do fêmur aos 14 dias para níveis de quirera apresentou a equação linear $y = -0,055x + 5,68$ ($R^2:0,78$), indica que quanto maior o nível de quirera na alimentação menor é o diâmetro do fêmur desses animais (Tabela 7).

Aos 14 dias o Índice de Seedor do fêmur apresentou equação quadrática $y = -0,063x^2 + (-0,087x) + 38,05$ ($R^2:0,92$) para níveis de quirera mostrando que houve aumento até o nível de 3% de quirera em relação ao controle e que a partir de 6% de quirera houve decréscimo no Índice de Seedor. Os animais que se alimentaram sem a protease apresentaram Índice de Seedor maior que os animais que receberam ração com protease. Conforme são apresentados na tabela 7.

Aos 21 dias de idade houve diferença significativa do fêmur para todos os parâmetros de níveis de quirera e para protease do peso e Índice de Seedor. Houve efeito da interação para peso, diâmetro e Índice de Seedor (Tabela 8).

Tabela 8. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 21 dias de idade.

Biometria do fêmur - 21 dias											
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EPM ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	3,50	3,89	3,26	2,58 ^b	2,56	3,15	0,11	6,23	0,001 ⁶	0,01	(3e ⁻⁰⁵)
Com	3,50	3,78	3,20	3,26 ^a	2,79	3,30	0,07				
Média	3,50	3,83	3,23	2,92	2,67						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	50,6	50,8	48,1	47,9	47,8	49,01	0,32	1,86	0,001 ⁷	0,26	0,36
Com	49,7	49,8	48,4	47,9	47,9	48,72	0,23				
Média	50,1	50,3	48,2	47,9	47,8						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	7,74	7,72	7,36	6,62 ^b	6,96	7,28	0,11	4,89	(5e ⁻⁰⁵) ⁸	0,36	(2e ⁻⁰⁵)
Com	7,48	7,31	7,48	7,72 ^a	6,88	7,37	0,08				
Média	7,61	7,51	7,42	7,17	6,92						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	69,2	76,6	67,9	53,9 ^b	53,6	64,2	2,00	5,84	0,001 ⁹	0,02	(2e ⁻⁰⁵)
Com	70,6	76,0	66,1	68,1 ^a	58,2	67,8	1,34				
Média	69,9	76,3	67,0	61,0	55,9						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Quadrática: $y = -0,007x^2 + (-0,02x) + 3,67$ ($R^2: 0,79$); 7 Equação Linear: $y = -0,23x + 50,27$ ($R^2: 0,82$); 8 Equação Linear: $y = -0,08x + 7,81$ ($R^2: 0,74$); 9 Equação Quadrática: $y = -0,16x^2 + 0,19x + 72,04$ ($R^2: 0,78$)

Aos 21 dias o peso do fêmur (Tabela 8) em relação aos níveis de quirera apresentou a equação quadrática: $y = -0,007x^2 + (-0,02x) + 3,67$ ($R^2: 0,79$), mostrando que o peso do fêmur aumentou até o nível de 3% de quirera em relação ao controle, a partir de 6% de quirera o peso do fêmur diminuiu. Houve interação entre quirera e protease para o peso do fêmur aos 21 dias. A partir de 6% de quirera os animais alimentados com protease apresentaram peso do fêmur maior que os sem protease.

O comprimento do fêmur aos 21 dias para níveis crescentes de quirera apresentou a equação linear: $y = -0,23x + 50,27$ ($R^2: 0,82$), demonstrando que quanto maior a concentração de quirera menor o comprimento do fêmur.

O diâmetro do fêmur aos 21 dias para níveis crescentes de quirera apresentou a equação linear: $y = -0,08x + 7,81$ ($R^2: 0,74$), indicando que quanto maior a porcentagem de quirera na alimentação dos frangos menor foi o diâmetro do fêmur desses animais. O diâmetro do fêmur apresentou interação entre quirera e protease. A partir de 6% de quirera os animais alimentados com protease apresentaram o diâmetro maior que os animais sem protease (Tabela 8).

O Índice de Seedor do fêmur aos 21 dias apresentou a equação quadrática: $y = -0,16x^2 + 0,19x + 72,04$ ($R^2:0,78$) para níveis crescentes de quirera, demonstrando que até o nível de 3% de quirera o índice de Seedor apresentou aumento em relação ao controle, a partir de 6% de quirera houve diminuição do índice de Seedor para o fêmur aos 21 dias. Houve interação para níveis crescentes de quirera com e sem protease para o índice de Seedor. O maior valor foi observado no nível de 3% de quirera sem protease (Tabela 8).

Aos 42 dias o fêmur para níveis crescentes de quirera apresentou alteração significativa ($p<0,05$) para peso, comprimento, diâmetro e Índice de Seedor. Todos esses parâmetros não foram significativos ($p>0,05$) para protease e interação (Tabela 9).

Tabela 9. Perfil biométrico do fêmur de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 42 dias de idade.

Biometria do fêmur - 42 dias											
	Níveis de quirera					Média	EPM ¹	Probabilidade			
	0	3	6	9	12			CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	9,36	8,99	8,39	8,06	7,98	8,56	0,16	6,66	0,001 ⁶	0,29	0,56
Com	9,68	9,65	8,38	8,07	7,87	8,73	0,18				
Média	9,52	9,32	8,38	8,06	7,92						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	73,47	73,57	71,06	69,89	69,67	71,53	0,63	4,08	0,01 ⁷	0,83	0,75
Com	73,83	72,69	69,04	70,38	70,87	71,36	0,63				
Média	73,65	73,13	70,05	70,13	70,27						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	10,99	10,87	10,36	10,25	10,04	10,50	0,10	5,13	0,001 ⁸	0,43	0,96
Com	11,09	10,94	10,35	10,57	10,16	10,62	0,13				
Média	11,04	10,90	10,35	10,41	10,10						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	127	122	118	115	114	119	1,76	6,64	(5e ⁻⁰⁵) ⁹	0,22	0,33
Com	131	133	121	114	111	122	2,30				
Média	129	128	120	115	113						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear: $y = -0,14x + 9,53$ ($R^2: 0,92$); 7 Equação Linear: $y = -0,32x + 73,40$ ($R^2: 0,74$); 8 Equação Linear: $y = -0,07x + 11,04$ ($R^2: 0,90$); 9 Equação Linear: $y = -1,51x + 130$ ($R^2: 0,95$)

O peso do fêmur aos 42 dias para níveis crescentes de quirera apresentou a equação linear $y = -0,14x + 9,53$ ($R^2: 0,92$), indicando que quanto maior o nível de quirera menor o peso do fêmur.

O comprimento do fêmur aos 42 dias para níveis crescentes de quirera apresentou a equação linear: $y = -0,32x + 73,40$ ($R^2: 0,74$), demonstrando que quanto maior o nível de quirera menor o comprimento do fêmur (Tabela 9).

Aos 42 dias o diâmetro do fêmur apresentou a equação linear $y = -0,07x + 11,04$ ($R^2: 0,90$) para níveis crescentes de quirera, demonstrando que quanto maior o nível de quirera menor o diâmetro do fêmur.

O Índice de Seedor do fêmur aos 42 dias apresentou a equação linear $y = -1,51x + 130$ ($R^2: 0,95$) para níveis crescentes de quirera, indicando que quanto maior a porcentagem de quirera na ração menor o Índice de Seedor do fêmur (Tabela 9).

Para a tíbia aos sete dias o peso e o Índice de Seedor foram significativos ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera. Não foram significativos ($p > 0,05$) para presença e ausência de protease, nem para interação. O peso da tíbia apresentou a equação linear $y = -0,014x + 0,622$, pois à medida que se aumentou a concentração de quirera, houve decréscimo no peso da tíbia (Tabela 10).

Tabela 10. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com níveis crescentes de quirera de soja com e sem protease aos 7 dias de idade.

Biometria da tíbia - 7 dias											
	Níveis de quirera					Média	EPM ¹	Probabilidade			
	0	3	6	9	12			CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	0,626	0,572	0,544	0,460	0,444	0,529	0,02	10,06	0,01 ⁶	0,24	0,84
Com	0,632	0,570	0,552	0,492	0,490	0,547	0,02				
Média	0,629	0,571	0,548	0,476	0,467						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	40,37	41,18	39,87	40,86	39,99	40,45 ^b	0,16	2,03	0,37	0,01	0,19
Com	41,09	41,27	41,35	41,49	41,69	41,38 ^a	0,18				
Média	40,73	41,22	40,61	41,17	40,84						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	2,93	2,98	2,88	2,88	2,87	2,90 ^b	0,03	5,07	0,92	0,04	0,15
Com	2,90	2,91	3,02	3,06	3,08	2,99 ^a	0,02				
Média	2,91	2,94	2,95	2,97	2,97						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	15,51	13,91	13,68	11,27	11,10	13,09	0,40	9,7	0,01 ⁷	0,075	0,84
Com	15,39	13,76	13,29	11,86	11,75	13,20	0,36				
Média	15,45	13,83	13,48	11,56	11,42						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear: $y = -0,014x + 0,622$ ($R^2: 0,95$); 7 Equação Linear: $y = -0,343x + 15,214$ ($R^2: 0,93$)

Tanto o comprimento quanto o diâmetro da tíbia aos sete dias não foram significativos ($p < 0,05$) para níveis de quirera, mas foram significativos ($p > 0,05$) para a presença e ausência de protease. O comprimento e diâmetro da tíbia foram maiores com a protease (Tabela 10).

O Índice de Seedor aos sete dias foi significativo ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera e não foi significativo ($p > 0,05$) para presença e ausência de protease. A equação linear: $y = -0,343 + 15,214$ indica que quanto maior a concentração de quirera menor o Índice de Seedor (Tabela 10).

Aos 14 dias a tibia todos os parâmetros foram significativos ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera. O peso e o Índice de Seedor também foram significativos ($p < 0,05$) para protease. Apenas o diâmetro apresentou interação significativa ($p < 0,05$) entre quirera e protease (Tabela 11).

Tabela 11. Perfil biométrico da tibia de frangos de corte alimentados com crescentes níveis de quirera de soja com e sem protease aos 14 dias de idade.

Biometria da tibia - 14 dias											
	Níveis de quirera					Média	EPM ¹	Probabilidade			
	0	3	6	9	12			CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	2,10	2,27	2,04	1,85	1,85	2,02 ^A	0,05	8,84	0,01 ⁶	0,04	0,29
Com	2,05	2,15	2,08	1,77	1,55	1,91 ^B	0,05				
Média	2,07	2,21	2,06	1,81	1,70						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	55,59	54,93	54,87	53,62	53,98	54,59	0,29	2,72	0,02 ⁷	0,35	0,42
Com	55,79	56,62	54,27	54,63	53,66	54,99	0,36				
Média	55,69	55,77	54,57	54,12	53,82						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	4,66	4,95	4,57	4,47	4,43	4,61	0,07	6,22	0,01 ⁸	0,32	0,07
Com	5,04	4,90	4,39	4,19	4,16	4,53	0,09				
Média	4,85	4,92	4,48	4,33	4,29						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	37,77	41,42	37,12	34,45	34,24	37,00 ^a	0,78	7,61	0,01 ⁹	0,008	0,103
Com	36,70	37,91	38,38	32,31	28,92	34,84 ^b	0,85				
Média	37,23	39,66	37,75	33,38	31,58						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Quadrática: $y = -0,005x^2 + (0,018x) + 2,11$ ($R^2: 0,89$); 7 Equação Linear: $y = -0,179x + 55,87$ ($R^2: 0,90$); 8 Equação Linear: $y = -0,05x + 4,91$ ($R^2: 0,83$); 9 Equação Quadrática: $y = -0,086x^2 + 0,452x + 37,882$ ($R^2: 0,88$)

O peso da tibia aos 14 dias apresentou para níveis crescentes de quirera a equação quadrática $y = -0,005x^2 + (0,018x) + 2,11$ ($R^2: 0,89$), indicando que até o nível de 3% de quirera houve aumento do peso, a partir de 6% de quirera houve diminuição do peso da tibia. Sem a protease o peso da tibia foi maior.

Aos 14 dias o comprimento da tibia apresentou para níveis crescentes de quirera a equação linear $y = -0,179x + 55,87$ ($R^2: 0,90$), pois quanto maior a concentração de quirera menor o comprimento da tibia. O diâmetro apresentou equação linear $y = -0,05x + 4,91$ ($R^2: 0,83$), demonstrando que quanto maior o nível de quirera, menor o diâmetro da tibia (Tabela 11).

O Índice de Seedor da tibia aos 14 dias apresentou para níveis crescentes de quirera a equação quadrática $y = -0,086x^2 + 0,452x + 37,882$ ($R^2: 0,88$), demonstrando que até o nível de 3% de quirera em relação ao controle houve aumento desse parâmetro. A partir de 6% de quirera houve diminuição do Índice de Seedor. Sem a protease a tibia apresentou maior Índice de Seedor (Tabela 11).

Aos 21 dias todos os parâmetros para tibia foram significativos ($p < 0,05$) para crescentes níveis de quirera e não foram significativos ($p > 0,05$) para interação entre quirera e protease. Apenas o comprimento não foi significativo ($p > 0,05$) para protease (Tabela 12).

Tabela 12. Perfil biométrico da tibia de frangos de corte alimentados com crescentes níveis de quirera de soja com e sem protease aos 21 dias.

	Biometria da tibia - 21 dias										
	Níveis de quirera					Probabilidade					
	0	3	6	9	12	Média	EPM ¹	CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	5,05	5,34	4,51	4,48	4,50	4,77 ^b	0,08	7,31	0,01 ⁶	0,03	0,15
Com	5,71	5,36	4,91	4,68	4,40	5,01 ^a	0,12				
Média	5,38	5,35	4,71	4,58	4,45						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	70,57	71,32	69,08	67,54	67,36	69,17	0,43	2,49	(2e ⁻⁴) ⁷	0,24	0,22
Com	72,10	69,75	69,22	69,06	68,64	69,75	0,42				
Média	71,33	70,53	69,15	68,30	68,00						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	5,85	5,82	5,67	5,62	5,16	5,62 ^b	0,07	5,85	(3e ⁻⁴) ⁸	0,006	0,37
Com	5,96	6,39	5,93	5,65	5,58	5,90 ^a	0,08				
Média	5,90	6,10	5,80	5,63	5,37						
INDICE DE SEEDOR											
Sem	71,62	74,92	65,27	66,36	66,72	68,97	0,95	7,13	(1e ⁻⁵) ⁹	0,06	0,19
Com	79,18	76,84	70,93	67,73	63,96	71,72	1,63				
Média	75,40	75,88	68,10	67,04	65,34						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear: $y = -0,08x + 5,42$ ($R^2: 0,89$); 7 Equação Linear: $y = -0,29x + 71,24$ ($R^2: 0,96$); 8 Equação Quadrática: $y = -0,006x^2 + 0,03 + 5,96$ ($R^2: 0,92$); 9 Equação Linear: $y = -0,965x + 76,14$ ($R^2: 0,86$)

O peso da tibia aos 21 dias apresentou para níveis crescentes de quirera a equação linear $y = -0,08x + 5,42$ ($R^2: 0,89$), pois quanto maior o nível de quirera menor foi o peso da tibia. O peso da tibia foi maior com protease (Tabela 12).

O comprimento da tibia aos 21 dias apresentou para níveis crescentes de quirera equação linear $y = -0,29x + 71,24$ ($R^2: 0,96$), pois o comprimento da tibia foi decrescente à medida que o nível de quirera aumentou. Apresentados na tabela 12.

O diâmetro da tibia aos 21 dias apresentou para níveis crescentes de quirera a equação quadrática $y = -0,006x^2 + 0,03 + 5,96$ ($R^2: 0,92$), pois até o nível de 3% de quirera houve aumento do

diâmetro, a partir de 6% houve decréscimo do diâmetro da tíbia. Os animais alimentados sem protease apresentaram diâmetro da tíbia menor que os animais que receberam protease na alimentação.

O Índice de Seedor da tíbia aos 21 dias apresentou para níveis crescentes de quirera equação linear $y = -0,965x + 76,14$ ($R^2: 0,86$), portanto à medida que aumentou o nível de quirera o Índice de Seedor da tíbia diminuiu (Tabela 12).

Aos 42 dias de idade todos os parâmetros para a tíbia foram significativos ($p < 0,05$) para crescentes níveis de quirera e não foram significativos ($p > 0,05$) para interação entre quirera e protease. Apenas o comprimento não foi significativo ($p > 0,05$) para protease (Tabela 13).

Tabela 13. Perfil biométrico da tíbia de frangos de corte alimentados com crescentes níveis de quirera de soja com e sem protease aos 42 dias.

	Biometria da tíbia - 42 dias										
	Níveis de quirera					Média	EPM ¹	Probabilidade			
	0	3	6	9	12			CV(%) ²	Q ³	P ⁴	Q x P ⁵
PESO (g)											
Sem	14,46	14,33	12,12	11,69	11,49	12,82 ^b	0,29	4,99	0,01 ⁶	0,01	0,42
Com	14,82	14,74	13,00	12,89	12,72	13,63 ^a	0,22				
Média	14,64	14,53	12,56	12,29	12,10						
COMPRIMENTO (mm)											
Sem	108	107	103	102	102	104	0,81	3,23	(8e ⁻⁵) ⁷	0,12	0,95
Com	109	108	105	104	104	106	0,75				
Média	108	107	104	103	103						
DIÂMETRO (mm)											
Sem	9,88	10,12	9,78	9,49	9,17	9,69 ^b	0,14	5,7	(5e ⁻⁵) ⁸	0,01	0,40
Com	10,85	10,74	10,04	9,66	9,27	10,11 ^a	0,15				
Média	10,36	10,43	9,91	9,57	9,22						
ÍNDICE DE SEEDOR											
Sem	133	133	117	114	112	122 ^b	2,42	6,42	(0,01) ⁹	0,01	0,79
Com	135	136	123	123	122	128 ^a	1,95				
Média	134	134	120	118	117						

1 Erro Médio Padrão; 2 Coeficientes de variação; 3 Quirera; 4 Protease; 5 Interação Quirera x Protease; 6 Equação Linear: $y = -0,243x + 14,69$ ($R^2: 0,85$); 7 Equação Linear: $y = -0,52x + 108,70$ ($R^2: 0,91$); 8 Equação Linear: $y = -0,105x + 10,535$ ($R^2: 0,93$); 9 Equação Linear: $y = -1,686x + 135,36$ ($R^2: 0,82$)

O peso da tíbia aos 42 dias apresentou para quirera a equação linear $y = -0,243x + 14,69$ ($R^2: 0,85$), pois quanto maior o nível de quirera menor o peso da tíbia. Os animais que receberam a protease apresentaram o peso da tíbia maior que os alimentados sem protease (Tabela 13).

Aos 42 dias o comprimento da tíbia apresentou para níveis crescentes de quirera a equação linear $y = -0,52x + 108,70$ ($R^2: 0,91$), indicando que quanto maior a concentração de quirera na ração menor o comprimento da tíbia.

O diâmetro da tíbia aos 42 dias apresentou para quirera a equação linear: $y = -0,105x + 10,535$ ($R^2:0,93$), pois à medida que aumentou o nível de quirera na alimentação, o diâmetro da tíbia diminuiu de forma decrescente. A média do diâmetro da tíbia foi maior com protease.

O Índice de Seedor da tíbia aos 42 dias apresentou para quirera a equação linear $y = -1,686x + 135,36$ ($R^2:0,82$), demonstrando que os níveis crescentes de quirera, decresceram o Índice de Seedor. A média do Índice de Seedor foi maior com protease (Tabela 13).

4 DISCUSSÃO

Vários são os fatores que interferem na absorção de minerais pelas aves, tais como a composição do alimento, o tipo de processamento da matéria-prima, idade e espécie do animal. Os minerais exercem importantes funções biológicas no organismo animal. O cálcio e o fósforo contituem a principal base mineral, pois exercem importante função no crescimento esquelético, na formação da casca do ovo e outras atividades metabólicas (GAUTIER et al., 2017).

A limitação do uso da quirera de soja na alimentação de frangos de corte está relacionada principalmente com a presença de fatores antinutricionais que podem interferir na digestão e posterior absorção do cálcio e fósforo. Segundo Thakur et al. (2019) o ácido fítico, hexafosfato monoinositol, tem habilidade de formar quelatos com metais di e trivalentes, formando compostos pouco solúveis, que não são prontamente absorvidos no intestino. Portanto, existe relação inversa significativa entre ácido fítico e a disponibilidade de cálcio, magnésio, fósforo e zinco.

Neste experimento, as concentrações crescentes de quirera de soja afetaram os níveis sanguíneos de cálcio e fósforo para todas as fases criaçãodas aves, sete, 14, 21 e 42 dias. Quanto maior a concentração de quirera de soja menor os níveis de cálcio e fósforo no sangue. A redução desses minerais conforme o aumento da concentração de quirera na alimentação dos frangos, está relacionada com a influência dos fatores antinutricionais por se tratar de resíduo de soja de grãos crus.

Os níveis séricos de cálcio em aves segundo Campbell (2004) variam de 8 a 12 mg/dl. No trabalho de Costa et al. (2020) com extrato vegetal de noni, o grupo controle alimentado com farelo de soja e milho, apresentou concentração sérica de cálcio de 8,95 mg/dl aos sete dias, 11 mg/dl aos 21 dias e 9,44 mg/dl aos 35 dias de idade.

Neste trabalho a concentração média de cálcio diminuiu significativamente à medida que aumentaram os níveis de quirera na alimentação em todas as fases criatórias, principalmente devido aos inibidores de proteases, taninos, lectinas e substâncias que alteram a utilização dos minerais, como o fitato e oxalatos. Quanto a presença de protease se observou aumento na concentração média de cálcio aos sete dias apresentando o valor de 7,62 mg/dl e aos 21 dias de idade de 6,94 mg/dl, observando melhora na disponibilidade nutricional do cálcio pela presença da protease.

Tomaszewska et al. (2018) em estudo com frangos alimentados com crescentes concentrações de feijão fava cru, leguminosa que apresenta fatores antinutricionais, apresentaram aos 42 dias de idade níveis séricos de cálcio e fósforo menores que o grupo controle e menor peso das tíbias. Análise revelou redução da área da seção transversal e da espessura da parede, indicando declínio do eixo médio do osso, que influenciou os parâmetros densitométricos e os resultados dos ensaios mecânicos.

Souza et al. (2020) avaliaram frangos de corte fêmeas suplementadas com 1,25-dihidroxicolecalciferol e níveis reduzidos de 20% de cálcio e fósforo na alimentação. Observaram que a utilização de 1,25-dihidroxicolecalciferol é uma alternativa quando há menor disponibilidade de cálcio e fósforo na alimentação, sendo uma opção para reduzir gastos com a alimentação.

O fósforo (P) tem funções importantes na mineralização óssea, metabolismo de nutrientes e síntese de ácido nucleico. Os valores da concentração de fósforo nas aves variam de 5 a 7 mg/dl (THRALL et al., 2004). Animais jovens apresentam valores superiores aos adultos (CAPITELLI; CROSTA, 2013). Neste trabalho as concentrações de fósforo apresentadas foram menores que 5mg/dl.

Shao et al. (2019) investigaram a concentração sérica de fósforo e o desenvolvimento da tíbia, bem como suas correlações em diferentes idades para frangos de corte. Os pesquisadores observaram que a concentração de P no plasma e a atividade da fosfatase alcalina sofreram alterações conforme a idade. O conteúdo plasmático de fósforo aumentou com sete dias de idade, seguido por diminuição lenta aos 14 dias, permaneceu estável até os 28 dias, seguido por leve diminuição aos 42 dias de idade.

O cálcio e o fósforo coexistem em muitas funções biológicas, mas a necessidade alimentar desses minerais é interdependente. O excesso de cálcio na dieta reduz a absorção de fósforo pela formação de complexos insolúveis no lúmen intestinal. Além disso, um nível muito baixo de cálcio é insuficiente para a mineralização óssea, levando ao aumento na excreção de fósforo. Portanto, em vez de apenas níveis absolutos, a proporção cálcio: fósforo nas dietas deve ser considerada (ARAÚJO et al., 2010).

Segundo Minafra et al. (2010) a relação entre o cálcio e o fósforo considerada para manutenção da homeostase é de 2:1. Neste trabalho a relação cálcio e fósforo médio observado aos sete dias foi de 1,9:1, aos 14 dias de idade 1,88:1, aos 21 dias 1,84:1 e aos 42 dias de idade 2,03:1 valores bem próximos de 2:1 considerado o ideal.

A fosfatase alcalina é uma enzima sérica que está associada ao metabolismo de cálcio e fósforo, acredita-se que funciona como ponto chave da regulação do crescimento de aves participando das atividades condrogênicas, osteoblásticas (RAJMAN et al., 2006).

No trabalho de Santos et al. (2014) com produtos homeopáticos, no grupo controle o valor da fosfatase alcalina foi de 565,33 UI/L. Neste trabalho o kit comercial utilizado foi diferente, resultando na interferência dos valores observados.

Neste estudo a fosfatase alcalina apresentou alterações significativas ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera em todas as fases de crescimento. Desse modo, a equação quadrática para níveis crescentes de quirera em todas as idades indicou que até o nível de 3% houve redução da concentração

sérica da fosfatase alcalina e a partir de 6% houve aumento da atividade dessa enzima. Esse resultado sugeriu que a partir de 6% de quirera na alimentação de frangos ocorre maior atividade óssea pelo consequente remodelamento causado pelos altos níveis de fatores antinutricionais. A presença da protease não interferiu na atividade da fosfatase alcalina.

Segundo Minafra et al. (2008) a fosfatase alcalina aumenta a concentração de fósforo inorgânico e ativa fibras de colágeno para deposição de sais de cálcio na matriz óssea, portanto o nível sérico desta enzima é em geral indicador da velocidade de formação óssea.

Quanto à resistência óssea, os minerais cálcio e o fósforo presentes na matriz inorgânica dão rigidez ao osso e está intimamente ligada com a dureza e densidade mineral (OLIVEIRA et al., 2014).

Os ossos são tecidos que possuem a capacidade de movimentar, permitir entrada e saída de componentes minerais, essa disponibilidade pode ser mensurada pela densidade, assim utilizando o Índice de Seedor como indicativo da densidade óssea, pois, sabe-se que quanto maior o Índice de Seedor, maior a densidade óssea (PEREIRA et al., 2012).

Nas características ósseas, níveis crescentes de quirera na alimentação de frangos de corte afetaram significativamente ($p < 0,05$) o peso e o Índice de Seedor do fêmur em todas as fases de crescimento. O Índice de Seedor mais baixo demonstra que houve redução da densidade óssea. A redução da densidade óssea leva a formação de ossos frágeis, podendo gerar problemas locomotores culminando com perdas econômicas na produção.

Na análise da biometria da tíbia todos os parâmetros sofreram alterações significativas ($p < 0,05$) para níveis crescentes de quirera em todas as fases de crescimento. Até o nível de 3% de substituição quirera de soja pelo farelo de soja pode ser utilizado sem graves prejuízos aos parâmetros ósseos. A partir de 6% de quirera houve influência na disponibilidade e absorção de minerais, alterando o processo de formação óssea.

Houshmand et al. (2015) observaram efeitos negativos em frangos de corte aos 21 e 42 dias de vida alimentados com bolota de carvalho com alto teor de tanino (15%), as tíbias apresentaram menor teor de cinzas e menor resistência mecânica, mas sem alterações no comprimento e peso.

As patologias ósseas resultam em diminuição do bem-estar das aves, tendo em vista que prejudicam o deslocamento destas para se alimentar e beber água (Araújo et al., 2012).

Pode-se sugerir que a substituição de até 3% de quirera de soja na alimentação de frangos de corte é uma alternativa para diminuir os custos de produção sem acarretar problemas relacionados ao crescimento ósseo em frangos de corte. Em relação a protease as alterações observadas não trouxeram benefícios consideráveis.

5 CONCLUSÃO

A substituição de 3% de quirera de soja por farelo de soja na alimentação de frangos de corte com ou sem protease não afetou a bioquímica dos minerais Ca total e fosfato, enzimática (fosfatase alcalina) e biometria óssea.

6 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M.; ARAÚJO, C. S. D. S.; SAVIETTO, D.; ALBUQUERQUE, R. D.; BARBOSA, L. C. G. S. Níveis de fósforo disponível e tamanho de partícula do fosfato bicálcico na dieta de poedeiras comerciais de 24 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1223-1227, 2010.
- ARAÚJO, G. M.; SILVA, J. H. V. D.; VIEITES, F. M.; MORAES, G. H. K. D.; SOUZA, R. B. D.; BARBOSA, A. D. A.; CARAMORI JUNIOR, J. G. Anionic variation of diets on bone characteristics of broilers at 7 and 14 days of age. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 9, p. 2124-2128, 2012.
- ALVES CAMPOS, C. F.; RODRIGUÊS, K. F.; VAZ, R. G. M. V.; GIANNESI, G. C.; DA SILVA, G. F. Enzimas fúngicas em dietas com alimentos alternativos para frangos de crescimento lento. **DESAFIOS-Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins**, v. 4, n. 2, p. 35-53, 2017.
- CAÇÃO, M. M. D. F.; SANTOS, G. B.; CAVALETTI, M.; BUENOS, M. S.; NARDON, R. F.; PEREIRA, J. A. Resíduo de limpeza de soja em substituição ao farelo de soja na dieta de cordeiro em terminação. **B. Industr. Anim.**, p. 106-113, 2014.
- CAMPBELL, T.W. Clinical Chemistry of Birds. In: THRALL, M.A. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, p. 479-492, 2004.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 71-120, 2013.
- COWIESON, A. J.; KLUENTER, A. M. Contribution of exogenous enzymes to potentiate the removal of antibiotic growth promoters in poultry production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 250, p. 81-92, 2019.
- COSTA, NA; DUARTE, EF; GUIMARÃES, GS; MINAFRA, CS; SOUZA, L. do P .; SANTOS, FR dos. Extrato vegetal de noni (*Morinda citrifolia*) como promotor de crescimento de frangos de corte. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 9, n. 7, pág. e699973608, 2020.
- DESSIMONI, G. V.; DALÓLIO, F. S.; MOREIRA, J.; TEIXEIRA, L. V.; BERTECHINI, A. G.; HERMES, R. G. Protease Supplementation under Amino Acid Reduction in Diets Formulated with Different Nutritional Requirements for Broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 21, n. 1, 2019.
- GAUTIER, A. E.; WALK, C. L.; DILGER, R. N. Influence of dietary calcium concentrations and the calcium-to-non-phytate phosphorus ratio on growth performance, bone characteristics, and digestibility in broilers. **Poultry Science**, v. 96, n. 8, p. 2795-2803, 2017.
- HOUSHMAND, M.; HOJATI, F.; PARSAIE, S. Dietary nutrient manipulation to improve the performance and tibia characteristics of broilers fed oak acorn (*Quercus brantii* Lindl). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, n. 1, p. 17-24, 2015.
- LIMA, C. B.; COSTA, F. G. P.; LUDKE, J. V.; DE LIMA JÚNIOR, D. M.; DE ALBUQUERQUE MARIZ, T. M.; PEREIRA, A. A.; DE ALMEIDA, A. C. A. Fatores antinutricionais e processamento

do grão de soja para alimentação animal. **Agropecuária científica no semiárido**, v. 10, n. 4, p. 24-33, 2015.

MINAFRA, C. S.; MORAES, G. H. K. D.; RODRIGUES, A. C. P.; SILVA, F. A. D.; STRINGHINI, J. H.; REZENDE, C. S. M. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 11, p. 1973-1977, 2008.

MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M.; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. D. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691-2696, 2010.

NIKMARAN, N.; LEONG, S. Y.; KOUBAA, M.; ZHU, Z.; BARBA, F. J.; GREINER, R.; ROOHINEJAD, S. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. **Food Control**, n. 79, p. 62-73, 2017.

OLIVEIRA, A. F. G.; BRUNO, L. D. G.; MARTINS, E. N.; DE MORAES GARCIA, E. R.; MONTEIRO, A. C.; DE PAULA LEITE, M. C.; SANGALI, C. P. Efeito da densidade de criação e do grupo genético sobre a composição mineral e desenvolvimento de ossos longos de frangos de corte. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 1023-1033, 2014

PEREIRA, R.; MENTEN, J. F. M.; ROMANO, G. G.; SILVA, C. L. S.; ZAVARIZE, K. C.; BARBOSA, N. A. A. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 137-144, 2012.

RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOŠOVÁ, D.; MÁČAJOVÁ, M.; SEDLAČKOVÁ, M.; KOŠTÁL, L.; VÝBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n.145, v. 3, p. 363-371, 2006.

SANTOS, F. R.; SANTANA, R. O.; CARVALHO, E. D. A.; COSTA, N. A.; MINAFRA, C. S.; OLIVEIRA, P. R. Desempenho e perfil sérico bioquímico de frangos de corte alimentados com rações contendo produtos homeopáticos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 394-405, 2014.

SEEDOR, J. G.; QUARTUCCIO, H. A.; THOMPSON, D. D. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n. 4, p. 339-346, 1991.

SHAO, Y et al. Bone phosphorus retention and bone development of broilers at different ages. **Poultry science**, v. 98, n. 5, p. 2114-2121, 2019.

SOUZA, C. G.; DE MOURA, A. K. B.; DA SILVA, J. N. P.; SOARES, K. O.; DA SILVA, J. V. C.; VASCONCELOS, P. C. Fatores antinutricionais de importância na nutrição animal: Composição e função dos compostos secundários. **PUBVET**, v. 13, p. 166, 2019.

SOUZA, C. S.; VIEITES, F. M.; NUNES, R. V.; BRUSAMARELO, E.; REIS, T. L.; DE LIMA, C. A. R.; DE VARGAS JUNIOR, J. G. Suplemento de 1, 25-dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte fêmeas. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e119973975-e119973975, 2020.

THAKUR, A.; SHARMA, V. Uma visão geral dos fatores anti-nutricionais nos alimentos. **IJCS**, v. 7, n. 1, p. 2472-2479, 2019.

TOMASZEWSKA, E.; DOBROWOLSKI, P.; KLEBANIUK, R.; KWIECIEŃ, M.; TOMCZYK-WARUNEK, A.; SZYMAŃCZYK, S.; MUSZYŃSKI, S. Gut-bone axis response to dietary replacement of soybean meal with raw low-tannin faba bean seeds in broiler chickens. **Plos one**, v. 13, n. 3, p. e0194969, 2018.

VIEITES, F. M.; DROSGHIC, L. C. A. B.; SOUZA, C. S.; LIMA, C. A. R.; MORAES, G. H. K.; NUNES, R. V.; VARGAS JÚNIOR, J. G. 1, 25-dihydroxyvitamin-D3 over bony characteristics of female broilers. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 5, p. 1285-1293, 2017.