



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

OTONIEL FÉLIX DE SOUZA

**TORTA DE GIRASSOL E SUPLEMENTAÇÃO MULTIENZIMÁTICA EM RAÇÕES
PARA FRANGAS: DIGESTIBILIDADE, BALANÇO DE MINERAIS E
PARÂMETROS DE CRESCIMENTO E QUALIDADE ÓSSEA**

FORTALEZA

2019

OTONIEL FÉLIX DE SOUZA

TORTA DE GIRASSOL E SUPLEMENTAÇÃO MULTIENZIMÁTICA EM RAÇÕES PARA
FRANGAS: DIGESTIBILIDADE, BALANÇO DE MINERAIS E PARÂMETROS DE
CRESCIMENTO E QUALIDADE ÓSSEA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientador: Dr. Rafael Carlos Nepomuceno.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S239t Souza, Otoniel Félix de.
Torta de girassol e suplementação multienzimática em rações para frangas : digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de crescimento e qualidade óssea / Otoniel Félix de Souza. – 2019.
98 f.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Ednardo Rodrigues Freitas.
1. Alimento alternativo. 2. Enzimas exógenas. 3. Mineralização óssea. 4. Poedeiras em crescimento. I.
Título.

CDD 636.08

OTONIEL FÉLIX DE SOUZA

TORTA DE GIRASSOL E SUPLEMENTAÇÃO MULTIENZIMÁTICA EM RAÇÕES PARA
FRANGAS: DIGESTIBILIDADE, BALANÇO DE MINERAIS E PARÂMETROS DE
CRESCIMENTO E QUALIDADE ÓSSEA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Aprovada em: 17/05/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento (Conselheiro)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe (Conselheiro)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr. Silvana Cavalcante Bastos Leite (Conselheira)
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

A Deus, por ser meu guia e fortaleza.

Aos meus pais, Luiza Alice e José Félix, pelos ensinamentos e por acreditarem em mim.

À minha querida avó Maria Iza (in memoriam), pelo seu amor e carinho incondicional.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela saúde e pela força durante toda esta caminhada. Devo a ele a oportunidade de ter cursado a Pós-Graduação, pois muitos têm a capacidade de chegar onde cheguei, porém não tiveram a oportunidade que tive.

Agradeço aos meus Pais, por investirem na minha educação, independente das dificuldades.

A toda minha Família, pela compreensão nos momentos de ausência, pelo apoio e orações.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, grande profissional, pela paciência e estímulos durante a realização do curso de mestrado, além dos ensinamentos que levarei para sempre na memória.

Ao meu coorientador, Dr. Rafael Carlos Nepomuceno, pela disponibilidade, pela imensa contribuição intelectual e profissional, o qual foi imprescindível para a conclusão deste trabalho.

À Universidade Federal do Ceará e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de cursar a Pós-Graduação.

À Embrapa Agroindústria Tropical, pelo aparato laboratorial para a realização das análises do presente estudo. Em especial Marilena Braga e Dr. Carlos Taniguchi.

Aos colegas do NEPEAVI, pela amizade, momentos de descontração e aprendizado durante a realização dos experimentos.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFC e de outros cursos de Pós-graduação, pelo bom convívio e experiências compartilhadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos durante o mestrado.

A todos os amigos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação e para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

Este trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Se, encontrando a Desgraça e o Triunfo,
conseguires tratar da mesma forma esses dois
impostores”.

(Rudyard Kipling)

RESUMO

Foram realizados quatro experimentos objetivando avaliar o efeito da inclusão da torta de girassol e da suplementação de complexo multienzimático sobre a digestibilidade e balanço de minerais, parâmetros de crescimento e qualidade óssea de frangas leves e semipesadas. Para cada linhagem foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro para avaliar a inclusão de níveis de torta de girassol. O segundo experimento buscou avaliar a associação de dois níveis de torta de girassol e complexo enzimático. No experimento I, foram utilizadas 756 frangas de linhagem leve, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições de 21 aves cada, submetidas às rações com a inclusão de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% de torta de girassol. No experimento II, foram utilizadas 450 frangas de linhagem leves alojadas nas parcelas seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, totalizando cinco tratamentos com seis repetições de 18 aves, sendo testados dois níveis de torta de girassol (10 e 20%), com ou sem suplementação multienzimática, e uma ração controle a base de milho e farelo de soja. Nos experimentos com frangas semipesadas, III e IV, foram adotados os mesmos números de aves e delineamentos experimentais utilizados no experimento I e II, respectivamente, diferindo apenas para o nível de inclusão da torta de girassol que foram 0, 6, 12, 18, 24 e 30%, para o experimento III, e os níveis 12 e 24% no experimento IV. Em todos os experimentos no período entre a 14^a e 15^a semana, foram realizados ensaios de metabolismo por meio do método de coleta total de excretas para determinar o coeficiente de digestibilidade dos minerais das rações. Para avaliação da qualidade óssea, foi eutanasiada uma ave por parcela na 17^a semana de idade e os ossos da tíbia foram utilizados na mensuração do comprimento, peso, índice de Seedor, resistência, deformidade. As amostras de osso foram submetidas às análises de matéria seca, cinzas e minerais para determinação da composição. Nos experimentos em que foram testados apenas níveis de inclusão da torta de girassol na ração das aves, verificou-se que a inclusão de até 25% da torta de girassol para frangas leves e 30% para frangas semipesadas não influenciou a digestibilidade do cálcio, fósforo, magnésio e respectivos balanços, bem como não afetou a composição e os parâmetros de qualidade óssea. Nos experimentos II e IV, observou-se que não ocorreu interação entre os níveis de torta de girassol e a suplementação enzimática, bem como efeito do nível da torta de girassol para a digestibilidade e balanço do cálcio, fósforo e magnésio, composição e parâmetros de qualidade óssea. No entanto, em ambos os experimentos, a presença do complexo multienzimático proporcionou melhora significativa no coeficiente de digestibilidade do Ca, P

e Mg das rações. Conclui-se que a torta de girassol pode ser utilizada nas rações de crescimento até os níveis de 25% para frangas leves e 30% para frangas semipesadas. Além disso, a suplementação multienzimática nas rações contendo a torta de girassol melhora a digestibilidade dos minerais da dieta.

Palavras-chave: Alimento alternativo. Enzimas exógenas. Mineralização óssea. Poedeiras em crescimento.

ABSTRACT

Four objective experiments on the digestibility and mineral balance, growth parameters and bone quality of light and medium pullets were studied. For each seed, two experiments were conducted, and initially only one inclusion of sunflower cake. Already in the second experiment carried out for each lineage where the association of two levels of sunflower cake and enzymatic complex were tested. Thus, in experiment I, 756 light line pullets were used, distributed in a completely randomized design with six treatments and six replicates of 21 birds each, which were submitted to rations with the inclusion of 0, 5, 10, 15, 20 and 25 % of sunflower cake. In the experiment II, 450 litters of light lineage were used in the plots following a completely randomized experimental design in a factorial scheme $2 \times 2 + 1$, totaling five treatments with six replicates of 18 birds, being tested two levels of sunflower cake, 10 and 20% and two forms of multienzymatic supplementation (absence and presence) and a control diet based on corn and soybean meal. In the experiments with semipesed pullets, III and IV, the same number of birds and experimental designs used in experiment I and II, respectively, differing only for the inclusion level of the sunflower cake were 0, 6, 12, 18, 24 and 30% for experiment III, and levels 12 and 24% in experiment IV. To assess the bone quality, one bird per plot was slaughtered at week 17 of age and the bones of the tibia were used to measure length, weight, Seedor index, resistance, deformity. Bone samples were analyzed for dry matter, ashes and minerals for determination of composition. The data of the experiments I and III were submitted to analysis of variance, comparison of means by the Dunnett test and regression. The data of the experiments II and IV were submitted to analysis of variance, according to the factorial scheme adopted in the outline, and the means were compared by the SNK test. In the experiments in which only inclusion levels of sunflower cake were tested in the poultry ration, it was verified that the inclusion of up to 25% of the sunflower cake for light and 30% for semipesic pullets did not influence the digestibility of calcium, phosphorus, magnesium and its balance, as well as did not affect the composition and parameters of bone quality. In the experiments with light and medium-weight pullets in which the two levels of sunflower cake associated with multienzyme supplementation were evaluated, it was observed in both cases that there was no interaction between levels of sunflower cake and enzymatic supplementation, as well as effect of the level of the sunflower cake for the digestibility and balance of calcium, phosphorus and magnesium, composition and parameters of bone quality. However, in both experiments, the presence of the multienzyme complex provided a significant improvement in the digestibility coefficient of

the Ca, P and Mg of the diets. It can be concluded that the sunflower cake can be used in the growth rations up to the levels of 25% for light pullets and 30% for pullets semipesadas; and that multienzymatic supplementation in diets containing sunflower cake improves the digestibility of dietary minerals. In all experiments in the period between the 14th and 15th week, metabolism tests were carried out, using the total excreta collection method to determine the digestibility coefficient of the dietary minerals.

Keywords: Alternative feedstuffs. Exogenous enzymes. Bone Mineralization. Pullets.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas leves no período de 7 a 12 semanas de idade.....	43
Tabela 2 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas leves no período de 13 a 17 semanas de idade.....	44
Tabela 3 – Contribuição nutricional e energética do complexo multienzimático.....	49
Tabela 4 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas leves no período de 7 a 12 semanas de idade.....	50
Tabela 5 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas leves no período de 13 a 17 semanas de idade.....	51
Tabela 6 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas semipesadas no período de 7 a 12 semanas de idade.....	56
Tabela 7 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas semipesadas no período de 13 a 17 semanas de idade.....	57
Tabela 8 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas semipesadas no período de 7 a 12 semanas de idade.....	63
Tabela 9 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas semipesadas no período de 13 a 17 semanas de idade.....	64
Tabela 10 – Coeficiente de digestibilidade e balanço dos minerais de rações contendo níveis de torta de girassol para frangas de reposição leves.....	68
Tabela 11 – Composição mineral óssea de frangas de reposição leves alimentadas com ração contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento.....	70
Tabela 12 – Parâmetros de qualidade óssea de frangas leves alimentadas com rações contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento, na 17ª semana de idade.....	71

Tabela 13 – Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações para frangas de reposição leves contendo níveis de torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	73
Tabela 14 – Composição mineral óssea de frangas de reposição leves alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	76
Tabela 15 – Parâmetros de qualidade óssea de frangas de reposição leves alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	77
Tabela 16 – Coeficiente de digestibilidade e balanço dos minerais de rações contendo torta de girassol para frangas de reposição semipesadas.....	78
Tabela 17 – Composição mineral óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com ração contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento.....	80
Tabela 18 – Parâmetros de qualidade óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com rações contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento, na 17ª semana de idade.....	81
Tabela 19 – Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações para frangas de reposição semipesadas contendo níveis de torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	83
Tabela 20 – Composição mineral óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	86
Tabela 21 – Parâmetros de qualidade óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
BCa	Balanço de cálcio
BMg	Balanço de magnésio
BP	Balanço de fósforo
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CDACa	Coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio
CDAMg	Coeficiente de digestibilidade aparente do magnésio
CDAP	Coeficiente de digestibilidade aparente do fósforo
CEUA	Comissão de Ética em Uso Animal
cm	Centímetros
cm ² /ave	Centímetro ao quadrado por ave
CME	Complexo multienzimático
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CV	Coeficiente de variação
Da	Dalton
DZ	Departamento de zootecnia
EE	Extrato etéreo
EM	Energia metabolizável
FB	Fibra bruta
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FEDNA	Fundación Española para El Desarrollo de La Nutrición Animal
FTU	Unidades de Atividade da Fitase
g	Gramas
g/ave	Gramas por ave
g/kg	Gramas por quilograma
h	Horas
HClO ₄	Ácido perclórico
HNO ₃	Ácido nítrico
Kcal	Quilocaloria

Kg	Quilograma
Kg/ha	Quilograma por hectare
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mg	Miligrama
mg/mm	Miligrama por milímetro
min./vit.	Mineral vitamínico
MM	Matéria mineral
mm/min	Milímetros por minuto
MN	Matéria natural
MS	Matéria Seca
nm	Nanômetro
PB	Proteína bruta
TG	Torta de girassol
TGI	Trato gastrointestinal
Ton	Tonelada
U/Kg	Unidade por quilograma
UI	Unidades Internacionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	Importância da formação da franga na avicultura de postura.....	21
2.2	Tecido ósseo nas aves.....	22
2.2.1	<i>Componentes da matriz extracelular óssea.....</i>	23
2.2.2	<i>Células do tecido ósseo</i>	25
2.2.3	<i>Formação do tecido ósseo de frangas durante a fase de crescimento.....</i>	26
2.3	Influência da fibra dietética sobre a qualidade óssea de aves.....	28
2.4	Qualidade óssea em aves de postura durante o período de crescimento.....	30
2.5	Coprodutos do processamento do girassol e seu uso na alimentação de aves.....	31
2.5.1	<i>Processamento do girassol e geração de coprodutos.....</i>	31
2.5.2	<i>Implicações dos coprodutos do girassol na alimentação de aves.....</i>	33
2.5.3	<i>Uso de complexo multienzimático na alimentação de aves.....</i>	38
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1	Experimento I – Torta de girassol na alimentação de frangas leves: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea.....	42
3.2	Experimento II – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas leves: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea.....	48
3.3	Experimento III – Torta de girassol na alimentação de frangas semipesadas: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea.....	55
3.4	Experimento IV – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas semipesadas: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea.....	61
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
4.1	Experimento I – Torta de girassol na alimentação de frangas leves: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade.....	68
4.2	Experimento II – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas leves: digestibilidade, balanço mineral e	73

	parâmetros de qualidade óssea.....	
4.3	Experimento III – Torta de girassol na alimentação de frangas semipesadas: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade óssea.....	78
4.4	Experimento IV – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas semipesadas: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade óssea.....	83
5	CONCLUSÃO.....	88
	REFERÊNCIAS.....	89

1 INTRODUÇÃO

A atividade avícola destinada à produção de ovos, bem como a produção de carne representa um dos segmentos de maior relevância a nível mundial para a indústria de proteína animal. A consolidação desse setor diz respeito não só aos altos índices produtivos, mas também ao elevado nível tecnológico empregado. Ademais, o desenvolvimento constante de pesquisas relevantes na área de nutrição, seleção de genótipos comerciais e automação tecnológica do sistema produtivo tem como propósito aperfeiçoar as práticas de produção animal obtendo proteína animal de alto valor biológico com custo competitivo quanto aos valores de mercado.

Os programas de melhoramento genético de linhagens comerciais para produção de ovos estão voltados para a obtenção de aves com menor peso corporal e menor ingestão de alimento, melhora na conversão alimentar e aumento da massa de ovos produzidos. Desse modo, em consequência do dinamismo genético, as modernas linhagens têm se tornado mais exigentes em termos nutricionais (PIZZOLANTE *et al.*, 2011).

Nesse contexto, para que seja possível obter boa formação das frangas durante a fase de criação é necessário o estabelecimento de programas de alimentação por meio da formulação de dietas com aporte nutricional adequado de acordo com as recomendações presentes no manual da linhagem para a fase de crescimento, a fim de permitir que as aves tenham capacidade de expressar seu máximo potencial genético durante a fase de produção (SANTOS *et al.*, 2017). Provavelmente, o aporte nutricional inadequado nas dietas para aves durante a fase de crescimento possa comprometer o crescimento corporal e o desenvolvimento de tecidos e órgãos, refletindo em desempenho insatisfatório da poedeira na fase de produção.

Dentre os tecidos de maior importância para as poedeiras, destaca-se o tecido ósseo, caracterizado como componente dinâmico que se adapta continuamente aos estímulos mecânicos externos, e às demandas metabólicas de cálcio para a formação da casca do ovo, além de participar no suporte e sustentação da musculatura esquelética (KERSCHNITZKI *et al.*, 2014). De acordo com Swiatkiewicz, Arczewska-Wlosek, Jozefiak (2015), os distúrbios esqueléticos e a má-formação óssea em poedeiras modernas estão relacionados principalmente com a osteoporose, visto que tal condição pode ter impacto direto sobre o desempenho produtivo e no bem-estar das aves (NASR *et al.*, 2012).

É sabido que o aproveitamento dos nutrientes da ração, em especial os minerais, é um ponto chave para a mineralização do tecido ósseo das aves durante a fase de recria, tendo

em vista que a formação completa da estrutura óssea é alcançada por volta da 12ª semana de idade, seguida pela formação de outros tecidos que compõem a estrutura corporal (KWAKKEL; DUCRO; KOOPS, 1993).

Apresentada a importância da fase de criação para as poedeiras, verifica-se que as modernas linhagens apresentam baixo consumo de ração no início da fase de produção, e rápido alcance do pico de postura. Dada condição, torna-se indispensável o acúmulo de reservas substanciais nos tecidos corporais da ave durante a fase de criação, como estratégia para não comprometer o desempenho durante a fase de produção (EUSEBIO-BALCAZAR *et al.*, 2018).

Desse modo, tem sido utilizado níveis de fibra na alimentação de frangas com intuito de beneficiar o crescimento das aves e melhorar a capacidade ingestiva de ração durante a fase de crescimento, refletindo em aspecto positivo durante o período de produção (FREITAS *et al.*, 2014; GUZMÁN *et al.*, 2015). Nessa perspectiva, estudos recentes indicam a possibilidade de inclusão da torta de girassol na alimentação de frangas como alternativa viável na substituição parcial da proteína de ingredientes convencionais sem comprometer o desempenho das aves na fase de crescimento (PINHEIRO *et al.*, 2013; KARGOPOULOS *et al.*, 2017), oportunizando minimizar os custos com alimentação e aumentar a variedade de ingredientes a serem utilizados na dieta das aves.

A torta de girassol tem sido utilizada na alimentação de aves em razão de suas características nutricionais, 24,37% PB, 4819 kcal/kg EB, 0,725% Ca e 0,228% P (BERWANGER *et al.*, 2014), apresentando composição bromatológica intermediária para alguns nutrientes quando comparado ao milho (8,80% PB, 3936 kcal/kg EB, 0,02% Ca, 0,19% P) e o farelo de soja (45,4% PB, 4118 kcal/kg EB, 0,34% Ca e 0,55% P) (ROSTAGNO *et al.*, 2017).

No entanto, o alto teor de fibra na torta de girassol representada por 22,39% FDA, 26,81% FDN, 4,42% hemicelulose, 14,67% celulose e 7,72% lignina (CASTRO *et al.*, 2016), presença do ácido fítico, 4,3% (MILLER; PRETORIUS, TOIT, 1986) e ácido clorogênico 2,8% (GENEAU-SBARTAÏ *et al.*, 2008) proporcionam certa limitação na alimentação de aves. A presença de tais componentes pode prejudicar o aproveitamento dos nutrientes do alimento, assim como os nutrientes da ração, visto que a ação desses compostos pode influenciar a disponibilidade dos nutrientes e afetar os processos de digestão e absorção pelo metabolismo animal.

Nesse sentido, com o advento da utilização de enzimas exógenas na nutrição animal, tem sido possível suplementar de maneira combinada grupos de enzimas (complexo

multienzimático) com afinidade quanto aos diferentes substratos das dietas para aves, com intuito de melhorar o aproveitamento dos nutrientes das rações, bem como atenuar os efeitos indesejáveis dos fatores antinutricionais dos alimentos, uma vez que as rações são compostas por dois ou mais ingredientes em sua formulação (COWIESON & ADEOLA, 2005; ALAGAWANY; ELNESR; FARAG, 2018).

Buscando contribuir com os estudos da utilização de coprodutos das sementes do girassol na alimentação de aves durante a fase de crescimento, este estudo teve como objetivo avaliar rações para frangas leves e semipesadas contendo torta de girassol, com e sem complexo multienzimático, sobre o aproveitamento de minerais, parâmetros de crescimento e qualidade óssea.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da formação da franga na avicultura de postura

A atividade avícola destinada à produção de ovos é caracterizada por ser um dos segmentos de maior importância no setor de proteína animal. Para tanto, o êxito na produção comercial de ovos depende da adequada criação de frangas de reposição por meio do adequado manejo nutricional e controle do peso corporal, o qual tem bases fisiológicas que influenciam no desempenho da futura poedeira (MAZZUCO, 2011).

O aprimoramento genético das linhagens modernas proporcionou ganhos acentuados em produtividade, obtendo aves com menor peso corporal, menor ingestão de alimento e antecipação da idade a maturidade sexual, implicando possíveis problemas considerando que a franga dispõe de menor tempo para atingir o peso ideal a maturidade sexual (SAKOMURA *et al.*, 2004). Estima-se que a antecipação da idade à maturidade sexual em aves de postura tenha ocorrido lentamente ao longo dos anos, em quase 1(um) dia a cada ano, em decorrência dos programas de melhoramento genético, sendo esse fato observado nas linhagens modernas (LEESON & SUMMERS, 2005).

Sendo assim, é necessário ajustar adequadamente o programa nutricional conforme as exigências das linhagens, possibilitando controlar o ganho de peso corporal e a uniformidade das aves. Acredita-se que aspectos como peso da ave, composição corporal e consumo de ração são fatores fundamentais que influenciam a produção e tamanho do ovo ao longo do ciclo de produção (LEESON & SUMMERS, 2005; PAVAN *et al.*, 2005). Portanto, aves que apresentam peso ideal ou ligeiramente acima do recomendado pelo manual da linhagem durante o período de criação poderão ser mais produtivas e precoces, quando comparadas com aquelas que apresentam peso inferior (LEESON & SUMMERS, 2005).

Para que as frangas possam alcançar crescimento satisfatório durante a recria, é necessária a ingestão adequada dos nutrientes presentes nas rações para deposição nos tecidos corporais, além da formação e desenvolvimento pleno do aparelho reprodutivo das aves (D'AGOSTINI *et al.*, 2017). Assim, durante o período de criação deve haver o estímulo para ingestão de ração pelas aves, a fim de evitar o peso corporal inadequado e permitir acúmulo de reservas energéticas nos tecidos corporais, as quais serão requeridas ao longo da vida produtiva da ave (MORETTI, 1992; *apud* SAKOMURA *et al.*, 2004).

No que diz respeito ao crescimento dos tecidos nas aves, assim como em outros animais, verifica-se inicialmente o desenvolvimento do sistema nervoso, esquelético,

muscular e, posteriormente, o adiposo, uma vez que a deposição dos nutrientes nos tecidos é priorizada pelo organismo, pois requerimento dos nutrientes para os tecidos pode variar conforme o peso corporal, sexo e idade do animal durante o período de crescimento (BERNARDINO, 2009).

O crescimento multifásico das frangas estabelece uma relação dinâmica entre os efeitos fisiológicos e a fase de crescimento, quando alterações relacionadas com o desenvolvimento dos tecidos no tocante à maturidade sexual interferem no desenvolvimento da conformação corporal e peso das aves, sendo que qualquer variação na fase de crescimento pode afetar o desempenho produtivo durante o ciclo de postura (SAKOMURA *et al.*, 1996).

A boa conformação da estrutura corporal das aves, associada com o desenvolvimento completo dos tecidos e órgãos envolvidos no processo de formação do ovo, é algo necessário para o alcance de índices produtivos satisfatórios durante o ciclo de produção. Nesse sentido, nos últimos anos a indústria de ovos tem priorizado a manutenção da produção por meio do prolongamento do ciclo de produção das aves, sendo observada a persistência na produção das linhagens modernas de 90 a 100 semanas de idade (BAIN; NYS; DUNN, 2016).

Em razão do aumento da produção de ovos e persistência do ciclo produtivo das linhagens de postura, tem sido exigida a boa formação da franga durante a recria, pois são aspectos fundamentais para manutenção da longevidade produtiva das poedeiras modernas.

2.2 Tecido ósseo nas aves

O osso representa um tipo complexo e especializado de tecido conjuntivo biologicamente ativo, constituído por células e material extracelular calcificado. O tecido ósseo desempenha inúmeras funções, dentre as quais: participação no suporte do tecido muscular esquelético, proteção de órgãos vitais da cavidade torácica, estoque de cálcio e fósforo, regulação do equilíbrio ácido básico por meio do carbonato e fosfato presente na matriz óssea, além de atuar na síntese das células sanguíneas a partir da medula óssea (MACKIE *et al.*, 2011; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

O osso é constituído por 22% de matriz óssea orgânica, 9% de água e 69% de matéria inorgânica, sendo a matriz orgânica constituída em sua maior parte por colágeno (90%) e outros componentes como osteocalcina, osteopontina, fator de crescimento transformador e proteína morfogenética óssea (BMP) (COMPTON & LEE, 2014). Tais proteínas, peptídeos e fatores de crescimento ósseo são responsáveis por regular a

diferenciação e crescimento das células produtoras da matriz óssea (HERDON; HAYWARD; RUTAN, 1992).

Em contrapartida, a matriz inorgânica é responsável por conferir resistência ao esqueleto diante da gravidade e a carga adicional sobre o tecido ósseo (SHIM *et al.*, 2012), sendo formada pela combinação de cálcio e fosfato na forma de cristais de hidroxiapatita $(Ca_{10})(PO_4)_6(OH)_2$ e outros íons importantes para homeostase do organismo (COMPTON & LEE, 2014).

2.2.1 Componentes da matriz extracelular óssea

Cerca de 90% da matriz extracelular óssea é composta por colágeno do tipo I, e os 10% restantes por proteínas não colágenas e alguns fatores de crescimento (TRIFFITT, 1987). O colágeno representa um grupo de proteínas fibrosas que desempenha função estrutural sobre o tecido ósseo, sendo conhecidos cerca de 26 tipos de colágenos, entre eles o mais comum é representado pelo colágeno do tipo I, encontrado na matriz extracelular, mais precisamente em tecidos como tendões, ligamentos e ossos (GELSE; PÖSCHL; AIGNER, 2003).

O colágeno do tipo I é constituído pela polimerização de subunidades de moléculas alongadas (tropocolágeno), as quais apresentam arranjo espacial na forma de tripla hélice com comprimento de 300nm (nanômetro) e 1,5nm de diâmetro. Cada molécula de tropocolágeno é composta por duas cadeias peptídicas uma α -1 e outra do tipo α -2, cada cadeia alfa é enovelada em alfa-hélice com sentido à direita, sendo mantida unida sua conformação por meio de pontes de hidrogênio e ligações hidrofóbicas (FRATZL, 2003; FERREIRA *et al.* 2012).

Para manter a forma estrutural em tripla hélice, é necessária a presença do aminoácido Glicina-X-Y (prolina e hidroxiprolina), o qual encontra-se repetido a cada três posições das cadeias polipeptídicas, resultando na sequência de (Gly-X-Y) que caracteriza a sequência de aminoácidos de todos os colágenos (GELSE, 2003). A formação de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas que são indispensáveis para a união das subunidades (microfibrilas) que compõem as moléculas de tropocolágeno é realizada pela hidroxilação dos resíduos de lisina e prolina por meio das enzimas: prolina hidroxilase e lisina hidroxilase (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

O início da síntese do colágeno do tipo I é realizada no interior dos osteoblastos e,

em menor extensão nos osteócitos, na forma de tropocolágeno. Ainda no aparelho de Golgi, a molécula de procolágeno recém-sintetizada é transportada a partir dos grânulos de secreção até o espaço extracelular. Posteriormente, o procolágeno sofre ação específica de enzimas (procolágeno peptidases), que realizam a clivagem dos peptídeos de registro N e C terminais os quais são responsáveis por conferir estabilidade ao formar a tripla hélice (ZAITSEVA *et al.*, 2015). Com a remoção dos peptídeos de registro, o tropocolágeno formado pode se polimerizar e formar fibrilas de colágeno.

Com isso, as unidades de tropocolágeno se agregam para formar fibrilas de colágeno, as quais se sobrepõem umas às outras, resultando na formação de feixes de colágeno que se alternam a uma distância de 64 nm. Desse modo, os espaços criados a partir do arranjo estrutural entre os feixes de colágeno desempenham função significativa durante o processo de mineralização (ZAITSEVA *et al.*, 2015).

Quanto às proteínas não-colagenosas, caracterizam-se como componentes da matriz extracelular expressas no esqueleto ou no osso maduro desempenhando várias funções no tecido ósseo. A osteocalcina, por sua vez, é uma proteína de baixo peso molecular (5700 Da), considerada a proteína não colagenosa mais abundante (cerca de 15%) no tecido ósseo (WOLF, 1996), sendo sua constituição baseada em uma sequência de 49 aminoácidos cujas posições 17, 21 e 24 são ocupados por resíduos do ácido γ carboxi-glutâmico (Gla) (AVOLIO *et al.*, 2008).

Sua síntese é induzida pelo metabólito 1,25 dihidroxivitamina D3 (Calcitriol), sendo que a vitamina K atua como fator importante para que ocorra a γ -carboxilação pós-traducional que formará os resíduos do ácido γ carboxi-glutâmico estabelecendo alta afinidade com a hidroxiapatita (LEE, 2000). De acordo com Ingram *et al.* (1993), tal afinidade é suficiente para que atue como inibidor do crescimento do cristal de hidroxiapatita, assim controlando o processo de mineralização da matriz óssea.

A osteocalcina atua, assim como outras proteínas, como um marcador da formação óssea, pois é liberada do osso para a circulação sanguínea. Assim, quantidades de osteocalcina no sangue dependem da taxa de secreção individual dos osteoblastos e do número de osteoblastos que secretam a proteína (NIELSEN, 1994; ALLEN, 2003).

A osteopontina é uma glicoproteína que se encontra nas periferias da matriz óssea recém-formada, sendo primordial no processo de mineralização óssea, caracterizando-se como marcador de diferenciação osteogênica, participando ainda na prevenção da precipitação prematura dos cristais de fosfato de cálcio na matriz colagênica (HELL *et al.*, 2011).

2.2.2 Células do tecido ósseo

O osso é formado por três tipos de células com elevada atividade metabólica: osteócitos, osteoblastos e osteoclastos os quais atuam de maneira sincronizada nas ações de formação, remodelação e reabsorção do tecido ósseo (LANYON, 1973).

Os osteócitos correspondem 90-95% de todas as células ósseas e estão localizados no interior da matriz óssea, ocupando lacunas dentro das lamelas (GUSMÃO & BELANGERO, 2009). Em cada lacuna, encontra-se um único osteócito que, por meio de prolongamentos de seu citoplasma, denominados processos citoplasmáticos (ou dendritos), envolvidos pelos canalículos, estabelece contatos por meio de junções comunicantes de um osteócito para o outro (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013), sendo os osteócitos metabolicamente menos ativos e sua função menos conhecida.

Os osteoblastos são células responsáveis pela reabsorção óssea, as quais representam de 4 a 6% do conteúdo celular do tecido ósseo (CAPULLI; PAONE; RUCCI, 2014). Os osteoblastos são células oriundas de progenitores mesenquimais encontrados na medula e periósteo, responsáveis pela síntese, secreção e montagem da matriz óssea mineralizada rica em colágeno que compõe o tecido ósseo (KUSHWAHA; WOLFGANG; RIDDLE, 2018).

A formação óssea por meio dos osteoblastos implica a deposição de matriz orgânica e sua posterior mineralização. A matriz orgânica é constituída por proteína colagenosa, principalmente colágeno do tipo I e proteínas não colagenosas (osteocalcina, osteonectina e osteopontina) e proteoglicanos (CAPULLI; PAONE; RUCCI, 2014). Assim, o processo de mineralização do componente orgânico baseia-se na síntese de cristais de hidroxiapatita dentro das vesículas da matriz orgânica, as quais representam compartimentos extracelulares que derivam da superfície de membrana dos osteoblastos (ANDERSON, 2003 *apud* CAPULLI; PAONE; RUCCI, 2014).

Já os osteoclastos representam células muito grandes, multinucleadas, observadas nas superfícies ósseas, as quais têm origem hematopoiética, desempenhando função exclusiva sobre o processo de reabsorção óssea, procedimento esse indispensável durante o desenvolvimento do osso (modelagem) e na remodelação ou substituição após traumas e lesões (SOYSA; ALLES, 2016).

Durante o processo de reabsorção óssea, os osteoclastos são ligados à superfície do osso, formando uma espécie de microambiente extracelular fechado entre a superfície óssea e o próprio osteoclasto, denominado de zona circunferencial clara (TEITELBAUM,

2000). A aderência do osteoclasto a superfície óssea proporciona condições favoráveis para o processo de reabsorção óssea, quando ocorre a dissolução dos cristais de hidroxiapatita e a degradação das fibrilas de colágeno nas lacunas de reabsorção extracelular. Esse processo demanda a ação de enzimas ácidas e proteolíticas, as quais atuam nas lacunas de reabsorção, além de mecanismos celulares como endocitose e transcitose (combinação de endocitose e exocitose) de produtos da degradação na lacuna de reabsorção (VÄÄNÄNEN, 2005).

2.2.3 Formação do tecido ósseo de frangas durante a fase de crescimento

A maturação e o crescimento do tecido ósseo das aves de postura são alcançados pouco antes da idade de maturidade sexual, mais especificamente durante a recria, quando ocorre o desenvolvimento completo do tecido ósseo. As aves apresentam peculiaridades quanto ao tecido ósseo, uma vez que ele é constituído por três áreas distintas: osso cortical, trabecular e medular, os quais têm importante contribuição na resistência ao estímulo mecânico, participação na homeostasia do metabolismo do cálcio e formação da casca do ovo (WHITEHEAD & FLEMING, 2000).

Inicialmente, o crescimento do tecido esquelético das aves durante a fase de criação é estabelecido pela maturação do osso cortical e trabecular. O osso cortical representa 80% de todo o esqueleto da ave, sendo caracterizado por uma estrutura calcificada, densa e altamente organizada que constitui a parte externa de todas as estruturas do esqueleto, desempenhando função de proteção e suporte contra estímulos mecânicos sobre o sistema esquelético da ave (HADJIDAKIS & ANDROULAKIS, 2006).

Já o osso trabecular representa 20% da massa esquelética total, sendo formado por uma arquitetura tridimensional a partir do arranjo de trabéculas (pequenas vigas) em forma de treliças localizadas dentro dos ossos longos e chatos dos vertebrados (DOUBE *et al.*, 2011). O arranjo tridimensional do osso trabecular contribui para o suporte mecânico, particularmente em ossos longos, porém apresenta menor densidade, maior elasticidade e elevada taxa de renovação quando comparado com osso cortical, o qual exibe uma importante função metabólica (HADJIDAKIS & ANDROULAKIS, 2006).

No processo de formação do esqueleto das aves, os ossos longos (por exemplo, úmero, fêmur e tíbia) surgem do processo de ossificação endocondral, no qual a cartilagem hialina serve como molde, sendo posteriormente substituídos por matriz óssea calcificada (SIMSA & ORNAN, 2007).

Após a formação do molde de cartilagem hialina, ocorre um processo de

proliferação dos condrócitos seguido de hipertrofia, que contribui com a invasão de vasos sanguíneos, osteoblastos, osteoclastos e células hematopoiéticas, originando os centros de ossificação primária (SIMSA & ORNAN, 2007). Em um segundo momento, os osteoblastos aprisionados na matriz extracelular da cartilagem realizam a biossíntese e deposição de matriz óssea sobre o molde de cartilagem (MACKIE *et al.*, 2008), formando tecido ósseo na região que antes era ocupada por tecido cartilaginoso.

O processo de formação óssea é comum a todas as espécies de animais de produção. No entanto, as aves apresentam certa peculiaridade quanto ao desenvolvimento de cavidades endosteais nos ossos longos, as quais constituem um tipo de osso secundário, denominado de osso medular (DACKE *et al.*, 1993). O osso medular caracteriza-se como componente não estrutural, formado a partir do osso trabecular e cortical, apresentando participação efetiva durante o ciclo de postura, pois age como reservatório lábil de cálcio para a formação da casca do ovo (LI; ZHANG; BRYDEN, 2017).

A conformação estrutural do osso medular tem características distintas às do osso cortical, uma vez que é formada por um arranjo irregular das fibrilas de colágeno, sendo em grande parte distribuídas aleatoriamente por toda matriz orgânica (WHITEHEAD, 2004). Entretanto, o osso cortical é constituído por uma rede de hidroxiapatita distribuída de modo organizado ao longo de toda matriz orgânica (DACKE *et al.*, 1993).

A composição do osso medular difere do osso cortical, principalmente quanto ao conteúdo de proteínas não colagenosas e proteoglicanos, além do alto grau de calcificação (BERNARD *et al.*, 1980). O conteúdo de fibrilas de colágeno presente no osso medular é menor, ou seja, a relação hidroxiapatita é maior em relação à quantidade de colágeno quando comparado ao osso estrutural (DACKE *et al.*, 1993 apud Taylor *et al.*, 1971). Portanto, o osso medular é considerado mais facilmente acessado por osteoclastos e mais facilmente formado por osteoblastos porque é altamente lábil e muito menos estruturado que o osso trabecular ou cortical (BECK & HANSEN, 2004).

Na literatura, existe uma ampla abordagem sobre o desenvolvimento do osso medular nas aves de postura durante o início da maturidade sexual. Nesse período, após concluído o desenvolvimento do osso estrutural das frangas, verifica-se que, por volta da 15^a e 18^a semanas de idade, em resposta à maturação folicular ocorrem picos secretórios de hormônios estrogênicos, que atuam sobre a formação do osso medular nas aves (JOHNSON, 2015).

Assim, o aumento das concentrações sanguíneas de estrogênio nas frangas sexualmente maduras tem participação direta sobre as células osteoblásticas, direcionando a

síntese de osso cortical e trabecular para produzir osso medular nas cavidades dos ossos longos (RODRIGUEZ-NAVARRO *et al.*, 2018).

Para Clunies *et al.* (1992), o osso medular tem importante participação no processo de formação da casca do ovo durante o período noturno, quando as aves apresentam consumo de ração insuficiente para atender ao nível de cálcio requerido para formação da casca do ovo. Estima-se que 10% de cálcio das reservas esqueléticas são mobilizados para a formação da casca do ovo. Em decorrência desse fato, as modernas linhagens apresentam intensa remodelação óssea, ocorrendo mais de 300 vezes durante o ciclo de postura, o que representa algo em torno de 900 gramas de cálcio do sistema esquelético da poedeira em seu ciclo produtivo (ANDERSON *et al.*, 2013).

Assim, nota-se que a dinâmica do metabolismo ósseo tem importante contribuição durante o ciclo de postura das aves, pois os períodos de intensa formação óssea são alternados com períodos de reabsorção. Nesse sentido, o reestabelecimento das reservas de osso medular ocorre durante períodos de intervalo entre a formação de ovos subsequentes, ou em dias nos quais não ocorra a formação do ovo (CLUINES *et al.*, 1992).

2.3 Influência da fibra dietética sobre a qualidade óssea de aves

Quanto ao sistema esquelético, é notório que vários fatores podem influenciar a composição e a integridade física do tecido ósseo das aves, visto que, na fase de crescimento, o osso está em pleno desenvolvimento e maturação, estando susceptível a interação dos efeitos nutricionais, genéticos e ambientais.

No que diz respeito aos efeitos da nutrição sobre o tecido ósseo das aves, pode-se destacar a importância do aproveitamento dos nutrientes da dieta, em partícula do cálcio e fósforo, dada sua essencialidade no desenvolvimento, manutenção e mineralização do tecido ósseo e formação da casca do ovo (OLGUN & AYGUN, 2016).

A sensibilidade do tecido ósseo de aves sobre a composição dos ingredientes das rações pode ser exemplificada por Gallinger, Suárez e Irazusta, (2004) que, ao avaliarem a inclusão do farelo de arroz na ração de frangos de corte sobre a taxa de mineralização óssea, verificaram menor porcentagem de cinza óssea da tíbia das aves alimentadas com nível de 20% de farelo de arroz, indicando comprometimento no aproveitamento dos nutrientes da dieta em função de fatores antinutricionais presentes no farelo de arroz utilizado na dieta.

No entanto, Cruz *et al.* (2012) verificaram, quando testaram o efeito dos níveis de FDN nas rações de frangas (7^a a 17^a semana de idade) sobre os parâmetros de qualidade óssea

durante a fase de crescimento, que o nível de fibra na dieta não afetou o desenvolvimento ósseo durante o período de criação das aves. Freitas *et al.* (2014) também constataram que a utilização de níveis de fibra na alimentação de frangas (7^a a 12^a semana de idade) não apresentou influência sobre os parâmetros de qualidade óssea das aves.

Assim sendo, os benefícios e os malefícios potenciais da fibra dietética na alimentação animal dependem sobremaneira das características físico-químicas da fonte da fibra (YOKHANA; PARKINSON; FRANKEL, 2016). Com isso, a inclusão de ingredientes com alto teor de fibra em sua composição pode afetar a dinâmica dos processos de digestão e absorção dos nutrientes das rações em razão das alterações na taxa de passagem e viscosidade da digesta, além de mudanças sobre as características morfológicas do epitélio intestinal (MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003; MATEOS, 2012).

Pesquisas têm sugerido possível efeito negativo da fibra alimentar em relação à absorção dos minerais da dieta pelo trato gastrointestinal, em decorrência da formação de ligações específicas (BAYE; GUYOT; MOUQUET-RIVIER, 2015), indisponibilizando os minerais. Além disso, Nortey *et al.* (2008) também verificaram que o componente fibroso dos ingredientes de origem vegetal interfere na digestibilidade do cálcio e fósforo no trato digestivo de animais não-ruminantes, podendo implicar mudanças sobre o balanço dos minerais e, conseqüentemente, na mineralização óssea.

Os efeitos da nutrição são decisivos durante a fase de crescimento das aves, de modo que nesse período é necessária a ingestão de quantidade satisfatória de nutrientes para o acúmulo de reservas substanciais nos tecidos, que serão importantes durante a fase de produção (EUSEBIO-BALCAZAR *et al.*, 2018).

Em aves de postura, quantidades consideráveis de cálcio e fósforo são mobilizadas da reserva mineral do tecido ósseo para a formação e mineralização da casca do ovo. No entanto, tal ação pode ocasionar distúrbios esqueléticos em situações em que a taxa de absorção óssea é maior que a de remodelação (FERNANDES *et al.*, 2009).

Assim, o desenvolvimento adequado da estrutura esquelética das frangas durante a fase de crescimento minimiza a incidência de perda mineral óssea, permitindo a manutenção da produção de ovos durante o ciclo produtivo da poedeira madura (RODRIGUES *et al.*, 2013).

2.4 Qualidade óssea em aves de postura durante o período de crescimento

As modernas linhagens comerciais de postura caracterizam-se pela antecipação da idade a maturidade sexual, bem como elevam a taxa de produção apresentando alta demanda diária de cálcio para formação e mineralização da casca do ovo ($\pm 2\text{g Ca}$ por ovo) (KEBREAB *et al.*, 2009). Logo, apesar do aporte de nutrientes da ração para o atendimento da exigência nutricional, verifica-se que a ave é incapaz de adquirir o cálcio total requerido para formação da casca do ovo, exclusivamente por meio da dieta, sendo essencial a mobilização de minerais do tecido ósseo (SANDILANDS; MOINARD; SPARKS, 2009).

Por isso, durante a fase inicial de produção das poedeiras, alguns ossos não apresentam completa formação, estando susceptíveis a perda mineral óssea por conta das linhagens modernas apresentarem rápido alcance do pico de postura e menor consumo de ração no início do ciclo de produção, ocasionando uma possível mobilização da reserva mineral do osso, ainda não completamente formado (RIBER; HERSKIN, CASEY-TROTT, 2018).

Por consequência, a redução da mineralização dos ossos estruturais pode ocasionar aumento na fragilidade e suscetibilidade a fraturas ósseas, as quais estão relacionadas com a perda de minerais e modificações na estrutura do colágeno (CRESPO & SHIVAPRASAD, 2013). Vale frisar que os problemas relacionados ao tecido ósseo nas poedeiras têm grande influência sobre aspectos econômicos e de qualidade, como impacto na produção de ovos e qualidade reduzida de casca (KIM *et al.*, 2012).

Candelotto *et al.*, (2017) identificaram, ao realizarem ensaio experimental de resistência óssea em um grupo de poedeiras comerciais, que a produção de ovos não diferiu em relação à suscetibilidade ao dano ósseo, porém a presença de casca mais fina dos ovos apresentou relação positiva com uma maior suscetibilidade de traumas no tecido ósseo.

Kim *et al.* (2004) relataram que a mobilização intensa de cálcio do tecido ósseo de aves de postura pode influenciar de forma negativa a resistência óssea demonstrando que, à medida que a densidade mineral óssea reduz, os parâmetros de espessura e resistência da casca do ovo decrescem, apresentando correlação negativa. Tal fato evidencia que o mecanismo de reabsorção óssea excessiva pode implicar redução da massa óssea, sendo um fator potencial para o desencadeamento de distúrbios esqueléticos e problemas na produção de aves. Com isso, a taxa de mineralização óssea adequada em aves de postura durante a fase de crescimento reflete na qualidade do tecido ósseo ao longo do ciclo de postura, uma vez que a mobilização mineral do tecido esquelético das aves é constante.

Assim sendo, o uso de metodologias que permitam avaliar a qualidade e integridade do tecido ósseo tem sido aplicado nos estudos com aves, a fim de entender a dinâmica entre o aspecto da nutrição sobre o metabolismo ósseo das aves. A avaliação da qualidade óssea consiste na execução de métodos que podem ser realizados sobre o osso *in natura*, a fim de obter dados que, por meio da análise e interpretação, possam ser utilizados como indicadores do grau de mineralização e resistência ao estímulo mecânico do tecido ósseo.

Os procedimentos frequentemente empregados para avaliar os parâmetros ósseos, são também conhecidos como métodos invasivos, dentre os quais destacam-se: análise de resistência óssea (NUNES *et al.*, 2013), conteúdo de cinzas (DERSJANT-LI; EVANS; KUMAR, 2018), densidade mineral (SCHREIWEIS *et al.*, 2003), entre outros.

No entanto, existem outros métodos conhecidos como não invasivos, sendo esses de menor uso, porém mais sofisticados, possibilitando maior grau de precisão na avaliação da qualidade óssea em aves, sendo o caso da densitometria óssea, por meio da técnica de absorciometria por dupla energia de raio-X (DXA) (KORVER; SAUNDERS-BLADES; NADEAU, 2004).

2.5 Coprodutos do processamento do girassol e seu uso na alimentação de aves

2.5.1 Processamento do girassol e geração de coprodutos

Devido ao elevado potencial para a produção de sementes, o girassol está entre as três principais culturas produtoras de óleo vegetal do mundo. Segundo estimativas da FAO (2017), a produção mundial de sementes de girassol na safra de 2016/17 foi de 49,1 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da colza (71,4 milhões de toneladas) e soja (348,7 milhões de toneladas).

Os maiores produtores mundiais de girassol são Ucrânia (15,20 milhões de toneladas), Rússia (10,86 milhões de toneladas), União europeia (8,60 milhões de toneladas) e Argentina (3,55 milhões de toneladas) (USDA, 2018). De acordo com o CONAB (2017), a produção nacional de girassol na safra 2016/17 foi de 103,7 mil toneladas, em uma área de 62,7 mil ha com produtividade média de 1.653kg/ha.

Apesar da produção brasileira ainda ser pouco expressiva quando comparada com outros países, a cultura do girassol destinada à produção de óleo para fabricação de biocombustível ganha destaque diante das questões ambientais, por ser um potencial

substituto para os derivados do petróleo, apresentando característica renovável, biodegradável e atóxico (NASCIMENTO & CAVALCANTE, 2017).

Nessa perspectiva, a incorporação do biodiesel à matriz energética é uma realidade, sendo possível sua mistura com o diesel mineral. Desse modo, no ano de 2014, o Governo Federal aprovou o percentual de 6% de biodiesel no combustível comercial, com consecutivos aumentos progressivos, 8% até março de 2015, 9% até março de 2016 e 10% até março de 2018 (BRASIL, 2014).

Assim, o aproveitamento de culturas oleaginosas para extração de óleos vegetais na fabricação de biocombustíveis é uma alternativa favorável em substituição às fontes energéticas convencionais, além de fomentar a inclusão social e promover o desenvolvimento regional (CORREIA *et al.*, 2010).

Os rendimentos para teor de óleo e produção de grãos de girassol variam de acordo com a cultivar utilizada (convencional ou alto oleico) e as condições ambientais de cultivo. Estima-se que a produção média de grãos por hectare pode chegar a 1.962 kg/ha e a produção de óleo de 861 kg/ha, com um rendimento de 43,3% para o teor de óleo do grão (DALCHIAVON *et al.*, 2016).

Para o processo de extração do óleo das sementes, podem ser empregados três diferentes métodos: prensagem hidráulica por batelada; prensagem mecânica contínua (expeller) e extração por solventes (MONTENEGRO *et al.*, 2008). Além da extração do óleo bruto, obtêm-se resíduos com elevado potencial de utilização na alimentação animal, destacando-se: a torta e o farelo de girassol. No tocante à obtenção dos dois subprodutos, verifica-se que a torta de girassol é obtida por meio da prensagem mecânica a frio dos grãos, ao passo que, para a obtenção do farelo, utiliza-se um procedimento mais eficiente para extração do óleo em escala industrial aplicando o uso de solventes químicos (hexano associado a elevada temperatura) (PEREIRA *et al.*, 2011).

No que diz respeito a menor eficiência da extração do óleo pelo método de prensagem mecânica a frio dos grãos de girassol, verifica-se que o produto obtido resulta em 22% de óleo, 69% de torta e 9% de perda, obtendo um rendimento de 40% de óleo, de modo que o restante (60%) permanece na torta (RABONATO, 2017). Em contrapartida, o farelo de girassol por meio do processo de extração com uso de solvente (hexano) gera um produto com 0,5 a 1,5% de óleo (FERNANDES *et al.*, 2014).

Assim, dada a produção de girassol para extração do óleo, gera-se uma grande quantidade de resíduo do processamento com potencial para ser utilizado na alimentação animal dado o baixo custo e alto valor nutricional.

A torta de girassol apresenta composição nutricional de 23,27-32,00% proteína bruta; 6,55-23,80% de extrato etéreo; 26,81-35,32% de FDN; 22,30-22,39% de FDA; 0,73-1,98% de cálcio e 0,23-0,62% de fósforo total (LOMASCOLO *et al.*, 2012; QWELE *et al.*, 2013; BERWANGER *et al.*, 2014; CASTRO *et al.*, 2016). No entanto, o farelo de girassol apresenta teores de 32,30-36,46% de proteína bruta; 1,21-1,31% de extrato etéreo; 34,32-38,91% de FDN; 22,30-29,51% de FDA; 0,33-0,41% de cálcio e 0,72-1,15% de fósforo (SAN JUAN & VILLAMIDE, 2001; SENKOYLU & DALE, 2006; REZAEI & HAFEZIAN, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O método de processamento, ao qual as sementes de girassol são submetidas para obtenção de seus coprodutos, tem influência direta na variação da composição bromatológica do alimento em relação ao perfil proteico, conteúdo de energia, teor de fibras e minerais. Assim, a eficiência do processo mecânico empregado pode estar associada à temperatura e ao teor de umidade dos grãos (PIGHINELLI *et al.*, 2009), de modo que tais fatores podem interferir na extração e rendimento do óleo, podendo provocar mudanças nos aspectos físicos (granulometria) e de constituição (desestruturação química) do alimento (SINGH *et al.*, 2002; BERAN *et al.*, 2007).

2.5.2 Implicações dos coprodutos do girassol na alimentação de aves

Recentemente, tem sido estudada a possibilidade de inclusão dos coprodutos da semente do girassol na alimentação de aves de postura durante a fase de crescimento (PINHEIRO *et al.*, 2013; KARGOPOULOS *et al.*, 2017). No entanto, certas características associadas ao grão do girassol podem influenciar a qualidade dos nutrientes dos coprodutos do girassol e limitar seu aproveitamento pelas aves.

Particularmente, a semente do girassol não apresenta película ou revestimento protetor, a exemplo da palha do milho e a vargem da soja. Assim, como mecanismo fisiológico adaptativo de proteção contra ação de pragas, fungos e intempéries do ambiente, a semente apresenta um tegumento (casca) altamente rico em fibras que atua na função de proteger o conteúdo interno, quando são encontradas as reservas necessárias para o processo de germinação. Essas reservas são os componentes de interesse nutricional para alimentação animal, sendo lipídeos (39,89%), proteínas (21,75%), os minerais cálcio (0,33%) e fósforo (0,72%), os quais encontram-se encapsulados na estrutura da parede celular vegetal (MANTOVANI *et al.*, 2000).

A torta de girassol, coproduto obtido da prensagem das sementes do girassol,

apresenta composição bromatológica variável em decorrência do método empregado para extração do óleo, tipo de cultivar, característica do solo, fatores climáticos, época do ano etc. (GENEAU-SBARTAÏ *et al.*, 2008). De acordo com Berwanger *et al.* (2014), a massa compacta resultante da prensagem das sementes do girassol apresenta elevado valor nutricional. No entanto, o alto teor de fibra e a presença do ácido clorogênico, associado a menor disponibilidade dos minerais em consequência da complexação com o ácido fítico, pode limitar a inclusão da torta de girassol na dieta de aves.

A fração fibrosa da torta de girassol tem semelhança com a do farelo de girassol, sendo composta em sua grande maioria por polissacarídeos não amiláceos insolúveis, representados por ramnose, arabinose, xilose, manose galactose e ácido urônico (ROSTAGNO *et al.*, (2017). Os polissacarídeos não amiláceos (PNA's) ou polissacarídeos estruturais da parede celular dos vegetais representam fração (10 a 75%) importante dos ingredientes de origem vegetal utilizados na alimentação de animais não-ruminantes (CHOCT, 2015).

O aspecto limitante dos PNA's sobre a fisiologia digestiva tem relação direta com a natureza dos carboidratos que compõe a fibra, e o tipo de ligação glicosídica entre cada unidade monomérica dos açúcares. A estrutura dos PNA's é representada por longas cadeias de polímeros de carboidratos formados por centenas de unidades monoméricas ligadas predominantemente por ligações β -glicosídicas, tais ligações têm impacto direto sobre os processos de digestão, visto que as aves não apresentam enzimas digestivas com afinidade para hidrolisar tais ligações (SINHA *et al.*, 2011).

Os PNA's podem ser classificados de acordo com afinidade à água, sendo: PNA's insolúveis como as celuloses, ligninas e algumas hemiceluloses; e os solúveis, como as pectinas, β -glucanas e arabinosilanos. Na nutrição de animais não-ruminantes, os PNA's solúveis podem ocasionar alteração negativa sobre os processos de digestão e absorção dos nutrientes no intestino delgado em decorrência do aumento na viscosidade da digesta, além de elevar a disponibilidade de substrato não digerido no estômago, sendo posteriormente alvo da fermentação microbiana nos segmentos inferiores do trato digestivo (METZLER-ZEBELI *et al.*, 2010).

A proliferação e atividade metabólica de bactérias entéricas com potencial patogênico sobre os nutrientes não digeridos pode ocasionar perturbações quanto à função digestiva, resultando em menor taxa de crescimento e até morte dos animais (MONTAGNE; PLUSKE; HAMPSON, 2003). Com isso, a alta concentração de PNA's solúveis na alimentação de animais não-ruminantes tem impacto direto sobre a população bacteriana

intestinal, como consequência do aumento da viscosidade da digesta e prolongamento do tempo de passagem do bolo alimentar (KIARIE; ROMER; NYACHOTI, 2013), servindo de substrato para o desenvolvimento de bactérias patogênicas no trato digestivo dos animais.

A ação dos PNA's solúveis pode ocasionar redução na eficiência digestiva e absorção dos nutrientes em resposta ao impacto direto nas estruturas histológicas do intestino, em razão da apoptose das células epiteliais ao longo das vilosidades e das criptas, além do espessamento da mucosa intestinal em razão do aumento da atividade das células caliciformes em consequência de possível resposta inflamatória (TEIRLYNCK *et al.*, 2009).

Tais alterações histológicas podem ser associadas também com o efeito abrasivo da fibra e das partículas de alimento não digeridas por completo, as quais causam atrito nas microvilosidades e estruturas das células absorptivas do intestino, contribuindo com lesão e inflamação da mucosa intestinal (LENTLE & JANSSEN, 2008).

Ademais, verifica-se que a utilização de alimentos ricos em PNA's solúveis na dieta de aves tem sido relacionada com a má absorção dos minerais da dieta, afetando os parâmetros de qualidade óssea, influenciando na resistência mecânica, menor porcentagem de cinza e de minerais na tíbia das aves (LATORRE *et al.*, 2015; TELLEZ *et al.*, 2015).

Quanto à fibra insolúvel, esta representa a porção da fibra dietética com baixa afinidade a água, não provocando alteração na viscosidade intestinal, ocasionando aumento na taxa de passagem da digesta, além de estimular o desenvolvimento de órgãos digestivos por conta do aspecto físico da fibra (HETLAND; CHOCT; SVIHUS, 2004).

No passado, a utilização de ingredientes com alto teor de fibra na alimentação de aves em crescimento era considerada uma prática nutricional indesejável em razão do aspecto limitante associado ao conteúdo fibroso e seu baixo aproveitamento nutricional, visto que as aves não apresentam enzimas endógenas capazes de disponibilizar os nutrientes encapsulados na parede celular vegetal.

No entanto, estudos têm demonstrado que inclusão de quantidades moderadas de fibra insolúvel na ração de aves tem contribuído no controle do peso corporal, desenvolvimento e função do trato digestivo durante a fase de crescimento das frangas (FREITAS *et al.*, 2014; GUZMÁN *et al.*, 2015).

A utilização da fibra na alimentação contribui com o desenvolvimento dos órgãos digestivos (proventrículo, moela e intestino delgado), em resposta ao estímulo da ação mecânica das partículas do alimento sobre o trato digestivo (YOKHANA; PARKINSON; FRANKEL, 2016), possibilitando aumentar a capacidade física de ingestão de alimento no início da fase de produção, período esse em que as poedeiras apresentam baixa ingestão de

ração.

A ação da fibra também possibilita contribuir com o processo de digestão, visto que à medida que as partículas de alimento ficam retidas no trato digestivo, estimulam a secreção de enzimas digestivas pelas glândulas gástricas, implicando na maior digestão dos nutrientes e melhor aproveitamento pelas células absorptivas do trato digestivo (JONES & TAYLOR, 2001).

A possibilidade de inclusão de fibras na alimentação de frangas se faz possível por conta do crescimento multifásico e alteração na exigência nutricional das aves quando as dietas apresentam diferenças no aporte dos nutrientes em função da redução dos níveis nutricionais ao longo da fase de crescimento (BRAZ *et al.*, 2011).

Assim, tal redução favorece a inclusão de ingredientes alternativos na ração das aves durante a fase de crescimento com o propósito de controlar o ganho de peso excessivo, uma vez que a fibra dietética apresenta baixa densidade energética ocasionada pela menor eficiência do processo digestivo e absorptivo dos nutrientes fazendo com que ocorra o aumento da viscosidade e taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal (ARRUDA & FERNANDES, 2014), interferindo no acesso das enzimas aos nutrientes, resultando em menor aproveitamento da energia metabolizável da ração pelas aves.

Kargopoulos *et al.* (2017) constataram, quando avaliaram o efeito da inclusão da torta de girassol (6,25% e 12,5%) sobre o desempenho de frangas, que a torta de girassol pode ser incluída na dieta de frangas durante a fase de criação, até o nível de 12,5%, sem que ocorra comprometimento no crescimento das aves.

Resultado semelhante foi encontrado por Pinheiro *et al.* (2013), testando a inclusão da torta de girassol (7, 14 e 21% TG) em rações de frangas semipesadas (10^a a 16^a semana de idade) como ingrediente alternativo durante a fase de crescimento. Aves alimentadas com rações contendo torta de girassol apresentaram desempenho semelhante aos do grupo controle, não sendo observado efeito negativo da inclusão da torta de girassol sobre o crescimento das aves.

Abdallah, Beshara, Ibrahim, (2015) também observaram que os níveis de inclusão do farelo de girassol (7 e 14%) na dieta de frangas proporcionou efeito positivo sobre o crescimento e digestibilidade dos nutrientes durante o período da 11^a a 19^a semana de idade. O aumento do teor de fibra nas dietas melhorou o consumo de ração, beneficiando o ganho de peso corporal e a conversão alimentar das aves, em comparação com o tratamento controle (3,65% de FB).

Apesar da qualidade bromatológica e efeito positivo dos coprodutos do girassol na

alimentação das aves durante a fase de crescimento, verifica-se que a disponibilidade de alguns nutrientes, principalmente os minerais cálcio e fósforo, pode ser prejudicada em decorrência da presença do ácido fítico. A torta de girassol apresenta elevado teor de ácido fítico (4,3%) em sua constituição quando comparada com o farelo de girassol (3,1%) e a semente do girassol (1,6-2,10%) (MILLER; PRETORIUS, TOIT, 1986; KASIM & EDWARDS JR, 1998; LOTT *et al.*, 2000). A maior quantidade de ácido fítico na torta está relacionada ao processamento das sementes para extração do óleo, concentrando o ácido fítico na massa compacta.

O ácido fítico ou hexafosfato de mio-inositol (IP6) é um componente presente em alimentos de origem vegetal, principalmente nas sementes (5 a 50g/kg), sendo formado por seis moléculas de fósforo ligadas aos seis carbonos no anel de mio-inositol (EECKHOUT & PAEPE, 1994; SELLE; COWIESON; RAVINDRAN, 2009). A molécula do ácido fítico apresenta ampla capacidade de limitar a disponibilidade dos minerais (cálcio e fósforo) da dieta, em consequência da complexação com cátions formando complexos insolúveis no trato digestivo, denominado de fitato, tal como é encontrada nas plantas.

Ademais, verifica-se que, apesar do ácido fítico ser encontrado em baixas concentrações quando comparado com outros constituintes dos alimentos, como amido, proteína, gordura e fibras, ele apresenta grande importância sobre a biodisponibilidade de aminoácidos e carboidratos em consequência da afinidade com esses substratos (COWIESON *et al.*, 2009).

O estabelecimento da interação fitato/proteína confere condição fundamental para ação negativa do fitato sobre a disponibilidade dos aminoácidos da dieta. O principal impacto consiste na redução da digestibilidade dos aminoácidos por meio da formação de complexo entre o fitato e proteína, ou com enzimas proteolíticas, resultando em menor acessibilidade das enzimas endógenas ao substrato proteico, ocasionando digestão ineficiente na fase gástrica (KIES *et al.*, 2006; SELLE *et al.*, 2012). Para tanto, o complexo fitato-proteína é formado por ligação iônica em pH abaixo do ponto isoelétrico das proteínas. Assim, a proteína pode se complexar de duas maneiras, ou seja: ligando-se diretamente ao fitato (pH<5) ou por meio de um íon mineral que está ligado ao fitato (pH>7) (KIES *et al.*, 2006).

Verifica-se também que a presença de compostos fenólicos como o ácido clorogênico na semente do girassol (1-4% de ácido clorogênico) pode afetar significativamente a qualidade da fração protéica presente nos coprodutos do girassol, oxidando essa fração e conferindo-lhe uma cor verde escura, reduzindo sua digestibilidade e alterando significativamente suas propriedades funcionais (SCHARLACK; ARACAVA;

RODRIGUES, 2017).

2.5.3 Uso de complexo multienzimático na alimentação de aves

A fisiologia digestiva das aves dispõe de pequena quantidade de enzimas endógenas com afinidade para degradar carboidratos fibrosos e determinados componentes da dieta, como fitato. A presença desses compostos na dieta de aves é frequente, pois a composição alimentar das dietas é representada em maior parte por alimentos de origem vegetal, de forma que a presença desses compostos atua como um fator antinutricional. Todavia, o advento da produção e a comercialização de enzimas exógenas favorecem estratégias para minimizar os efeitos indesejáveis desses componentes na nutrição das aves.

A utilização de enzimas exógenas na alimentação de animais não-ruminantes representa um avanço para a nutrição animal, sendo uma prática amplamente estudada (ADEOLA & COWIESON, 2011). O progresso na área de biotecnologia possibilitou o desenvolvimento de técnicas de modificação genética de microrganismos tais como fungos, bactérias e leveduras, resultando na produção comercial de novas enzimas exógenas (HUMER; SCHWARZ; SCHEDULE, 2015). Dentre as enzimas de maior utilização nas rações para aves e suínos, destacam-se as carboidrases, fitase e as proteases.

As carboidrases em termos gerais incluem as enzimas que atuam sobre as moléculas dos polímeros de carboidratos, sendo a xilanase e a glucanase as enzimas de maior uso que, juntas, correspondem a mais de 80% do mercado global de carboidrases (ADEOLA & COWIESON, 2011). Além dessas, existem no mercado outras carboidrases com especificidade aos diferentes substratos que compõem a fração fibrosa dos alimentos de origem vegetal, tais como: celulase, pectinase, β -mananase e galactanase (HABTE-TSION & KUMAR, 2018). A atuação efetiva das enzimas sobre os carboidratos fibrosos das rações consiste na hidrólise das ligações glicosídicas, as quais não são clivadas pelas enzimas endógenas dos animais não-ruminantes. Conseqüentemente, essa ação minimiza o efeito antinutricional da fração dos PNA's por meio da liberação dos nutrientes encapsulados na parede celular dos vegetais, bem como redução da viscosidade da digesta (O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

Outra grupo de enzimas com ampla utilização na alimentação animal é o das fitases, também conhecidas como mio-inositol (1, 2, 3, 4, 5, 6) hexafosfato fosfohidrolase, cuja ação específica catalisa a hidrólise da molécula de fitato nos vegetais, gerando uma série de ésteres inferiores de fosfato de mio-inositol por meio de reações de desfosforilação,

produzindo inositol e seis moléculas inorgânicas de fósforo (SELLE & RAVINDRAN, 2007), tornando-o disponível para absorção (KUMAR *et al.*, 2012).

A fitase realiza ação de hidrólise do ácido fítico pela remoção dos grupos fosfato iniciando pelo carbono 6, seguido pelo 5, 4, 3, 2 e 1. Em condições ideais (*in vitro*), a hidrólise completa do ácido fítico resultará em uma molécula de mio-inositol e outra de fosfato mais a liberação de aminoácidos, minerais e outros nutrientes complexados ao ácido fítico, porém no organismo animal a hidrólise será incompleta, resultando em resíduos de ésteres de inositol-fosfato, por exemplo, IP5, IP4, IP3 e assim por diante (YU *et al.*, 2012; DERSJANT-LI *et al.*, 2015).

Ademais, têm sido utilizadas também proteases exógenas, tais como as formas análogas das enzimas endógenas, quimiotripsina, tripsina e elastase na alimentação animal com o objetivo de melhorar a digestibilidade dos aminoácidos dos ingredientes e proporcionar benefício econômico, a fim de reduzir o teor de proteína da dieta sem prejudicar o desempenho animal (VIEIRA; STEFANELLO; CEMIN, 2016).

Em determinadas situações, ocorre a utilização de ingredientes com características que possam vir a proporcionar baixa digestibilidade da proteína dietética, bem como influenciar o desempenho animal, pois o aumento na quantidade de resíduos de aminoácidos no intestino delgado pode servir de substrato para fermentação de bactérias proteolíticas, gerando compostos tóxicos para os animais (LIBAO-MERCADO *et al.*, 2009; QAISRANI *et al.*, 2014). Assim, o uso de proteases exógenas pode servir para melhorar a digestão das proteínas e evitar a proliferação de bactérias patogênicas.

Durante muito tempo, a estratégia da utilização de enzimas exógenas na nutrição animal era baseada na suplementação de apenas um tipo de enzima exógena, cujo propósito era, a depender da enzima utilizada, reduzir a necessidade de suplementação inorgânica de fósforo, aumentar a eficiência de utilização da energia dos ingredientes das dietas, ou aumentar a eficiência de utilização dos aminoácidos dietéticos (SELLE & RAVINDRAN, 2008; ADEOLA *et al.*, 2010). Com isso, embora essa estratégia de utilização de enzimas seja eficiente, é possível também encontrar na literatura uma estratégia mais atual em que acontece o uso combinado de vários grupos de enzimas (carboidrase, protease e fitase), a afinidade com os diferentes substratos (complexo multienzimático) e o efeito complementar, visando aumentar o valor nutricional e energético das dietas, com respectivo efeito no desempenho produtivo dos animais (SLOMINSKI, 2011; O'NEILL; SMITH; BEDFORD, 2014).

Nesse sentido, a hipótese da suplementação conjunta das carboidrases, fitase e proteases consiste em efeito associado, em que a ação hidrolítica das carboidrases sobre os

PNA's resulta na degradação da parede celular expondo substratos, antes indisponíveis para a ação das enzimas endógenas, além de reduzir a viscosidade da digesta, minimizar o efeito da complexação dos minerais, carboidratos e resíduos de aminoácidos com o fitato (WOYENGO & NYACHOTI, 2011). A suplementação combinada de fitase e/ou proteases pode favorecer a hidrólise de substratos livres (não absorvidos) no trato digestivo, evitando interações negativas, fitato/proteína e fitato/minerais, resultando em melhor aproveitamento dos nutrientes (SELLE *et al.*, 2012).

Outra aplicação das enzimas exógenas na alimentação de aves consiste no ajuste da exigência nutricional para a formulação das dietas por meio da redução no nível nutricional e energético recomendado para as rações com base na contribuição da matriz enzimática. Essa prática em relação ao uso “on top” pode permitir reduzir os custos com alimentação, pois a redução dos nutrientes implica menor inclusão de determinados ingredientes na dieta, reduzindo o seu custo total (BARBOSA *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2012).

A disponibilidade no mercado de diferentes grupos de enzimas exógenas e as diferentes formas de uso, isolado ou combinado, “on top” ou com ajuste da matriz nutricional, possibilita ainda o emprego de ingredientes alternativos nas dietas de aves, bem como amplia o seu nível de inclusão, desde que a escolha das enzimas seja compatível a especificidade dos substratos que o compõem (BAO; ROMERO; COIWESON, 2013).

Na literatura, encontram-se relatos de pesquisas com subprodutos do girassol e suplementação de complexo multienzimático. A utilização de complexo multienzimático na dieta de aves contendo subprodutos do girassol representa uma estratégia nutricional com propósito de minimizar os efeitos dos elementos antinutricionais presentes na semente do girassol, beneficiando a inclusão de ingredientes não convencionais na dieta das aves com o intuito de minimizar o custo e garantir ótimo desempenho produtivo dos animais.

Ao avaliar a substituição do farelo de soja por farelo de girassol na dieta de frangos de corte com suplementação de complexo enzimático, Waititu *et al.* (2018) verificaram que o complexo A (xilanase, α -amilase e protease) e o complexo B (celulase, pectinase, β -mananase, galactanase, xilanase, glucanase, amilase e protease) proporcionaram ganho de peso e conversão alimentar semelhante ao das aves alimentadas com tratamento controle.

Bilal *et al.* (2017) identificaram, ao avaliarem o efeito da suplementação de complexo enzimático (α -galactosidase, β -mananase, protease, amilase, β -glucanase, xilanase e celulase) sobre o desempenho de frangos de corte e digestibilidade dos nutrientes, que não houve melhora para o coeficiente de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e extrato

etéreo da rações, no entanto, a presença do complexo enzimático contribui na melhora da conversão alimentar das aves até o nível de 20% de inclusão do farelo de girassol.

Tavernari *et al.* (2008) relataram que a suplementação de complexo enzimático (celulase, β -glucanase, xilanase e fitase) melhorou significativamente os coeficientes de digestibilidade aparente do cálcio e fósforo da ração de frangos de corte contendo farelo de girassol. A ação combinada de enzimas exógenas pode exercer efeito positivo sobre a disponibilidade e aumento da digestibilidade dos nutrientes de ingredientes de origem vegetal nas rações.

Na avaliação dos níveis 0, 5, 10 e 20% de farelo de girassol na alimentação de poedeiras leves com adição de complexo enzimático (xilanase, β -glucanase, celulase, pectinase, protease e α -amilase), Ceylan & Cufadar, (2018) constataram que a inclusão de até 20% de farelo de girassol com presença de enzimas não influenciou a produção de ovos, consumo de ração, conversão alimentar, peso do ovo e massa de ovos. Desse modo, o fato das linhagens modernas apresentarem maior exigência nutricional evidenciou que a inclusão de níveis elevados de farelo de girassol com suplementação enzimática possibilitou manter o desempenho produtivo das aves.

Todavia, Araújo *et al.* (2015) avaliaram o desempenho produtivo de poedeiras semipesadas (64 a 79 semana de idade) alimentadas com rações contendo níveis 0, 8, 16 e 24% de farelo de girassol, com ou sem suplementação de complexo enzimático (carboidrase e fitase). Assim, constatou-se que os níveis de inclusão do farelo de girassol apresentaram efeito quadrático sobre a produção de ovos e conversão alimentar, sendo calculado o nível ótimo 6,72 e 5,83, respectivamente. No entanto, a suplementação do complexo enzimático não apresentou efeito sobre os parâmetros de produção e qualidade dos ovos em comparação aos tratamentos sem suplementação.

Berwanger *et al.* (2017) não observaram, ao testarem níveis de torta de girassol combinado a suplementação de complexo enzimático (pectinase, fitase, β -glucanase, xilanase, celulase e amilase) na alimentação de frangos de corte, o efeito da suplementação enzimática sobre as características de desempenho das aves em relação aos tratamentos sem suplementação. Os autores atribuíram tal fato a idade dos animais (21 dias), período esse em que as aves apresentam sistema digestivo com melhor capacidade de digestão e absorção de nutrientes.

Por isso, mesmo que existam na literatura estudos recentes com a utilização de subprodutos do girassol na alimentação animal, verifica-se a necessidade de resultados mais conclusivos no que diz respeito aos efeitos da suplementação enzimática associados ao uso

dos subprodutos do girassol na nutrição de aves de reposição durante a fase de crescimento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Experimento I – Torta de girassol na alimentação de frangas leves: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea

O respectivo estudo foi realizado no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia (DZ) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada na cidade de Fortaleza - CE. Todos os procedimentos de metodologia experimental empregados no estudo proposto foram revisados e aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob o número de protocolo 102/2016.

Aves e delineamento experimental

Inicialmente, foram adquiridas 900 pintainhas da linhagem Hy Line White W36 com um dia de idade. Até a 6ª semana, as aves foram alojadas em galpão convencional para criação em piso e receberam manejo segundo as recomendações contidas no manual da linhagem.

A partir da 7ª semana de idade foram selecionadas, com base no peso médio ($451 \pm 11,95\text{g}$), 756 aves. As aves foram alojadas em galpão convencional para criação de frangas de reposição, contendo gaiolas de arame galvanizado (50cm de comprimento x 50cm de largura x 45cm de altura) equipadas com comedouro tipo calha em chapa galvanizada, bebedouro tipo nipple e com densidade de alojamento de $416 \text{ cm}^2/\text{ave}$.

Na fase experimental, as aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições de 21 aves cada. Os tratamentos consistiram em rações contendo níveis de inclusão de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% de torta de girassol (TG).

Programa de alimentação e rações experimentais

O período experimental foi constituído de duas fases: cria (7 a 12 semanas) e recria (13 a 17 semanas). As rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutrientes (Tabelas 1 e 2), segundo recomendações nutricionais constantes no manual da linhagem e os valores de composição dos alimentos compostos por Rostagno *et*

al. (2011), exceto para a TG, que continha 92,81% de matéria seca, 2774 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio, 19,35% de proteína bruta, 15,52% de extrato etéreo, 43,95% de fibra em detergente neutro (FDN), 28,96% de fibra em detergente ácido (FDA), 2,66% de matéria mineral (valores determinados pelo autor), 0,28% de cálcio, 0,09% de fósforo disponível, 0,03% de sódio, 0,08% de cloro, 1,16% de potássio, 0,59% de lisina digestível, 0,41% de metionina digestível, 0,68% de metionina + cistina digestível, 0,61% treonina digestível, 0,22% triptofano digestível (valores estimados segundo FEDNA, 2010), sendo os valores expressos na matéria natural.

Tabela 1- Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas leves no período de 7 a 12 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Nível de torta de girassol (%)					
	0	5	10	15	20	25
Milho	65,42	65,07	61,16	57,24	53,32	49,41
Farelo de soja (45%)	26,97	24,82	23,32	21,82	20,32	18,82
Torta de girassol	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00	25,00
Óleo de soja	1,90	1,11	1,53	1,95	2,36	2,78
Calcário calcítico	1,12	1,10	1,07	1,04	1,02	0,99
Fosfato bicálcico	2,01	2,01	2,01	2,02	2,03	2,03
Suplemento mineral e vitaminico ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
DL-metionina	0,19	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16
L-lisina HCL	0,09	0,13	0,15	0,17	0,19	0,21
L-treonina	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02
Inerte ²	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados						
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000	3.000
Proteína bruta (%)	17,55	17,55	17,55	17,55	17,55	17,55
Matéria seca (%)	88,73	88,70	88,99	89,29	89,59	89,89
Fibra detergente ácido (%)	4,39	6,18	7,91	9,64	11,37	13,10
Fibra detergente neutro (%)	11,52	14,33	16,81	19,28	21,75	24,23
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fósforo disponível (%)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Sódio (%)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Cloro (%)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
Lisina digestível (%)	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
Metionina+cistina digestível (%)	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
Metionina digestível (%)	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
Treonina digestível (%)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Triptofano digestível (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19

¹Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500mg, Vitamina B12 7,500mcg,

Vitamina B2 2,502mg, Vitamina B6 750mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030mg, Cobalto 50mg, Cobre 3,000mg, Ferro 25g, Iodo 500mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,05mg, Zinco 22,49g; ²areia lavada.

Tabela 2- Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas leves no período de 13 a 17 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Nível de torta de girassol (%)					
	0	5	10	15	20	25
Milho	71,94	69,28	66,59	63,43	59,51	55,59
Farelo de soja (45%)	22,59	20,87	19,15	17,52	16,03	14,54
Torta de girassol	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00	25,00
Óleo de soja	0,00	0,00	0,00	0,16	0,58	1,00
Calcário calcítico	1,20	1,17	1,14	1,12	1,09	1,06
Fosfato bicálcico	1,93	1,93	1,94	1,94	1,95	1,95
Suplemento mineral e vitamínico ¹	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Sal comum	0,41	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
DL – metionina	0,13	0,12	0,12	0,11	0,10	0,10
L - lisina HCL	0,04	0,07	0,09	0,12	0,14	0,16
Inerte ²	1,56	0,96	0,37	0,00	0,00	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados						
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950	2.950
Proteína bruta (%)	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Matéria seca (%)	88,42	88,60	88,78	89,01	89,31	89,60
Fibra detergente ácido (%)	4,26	6,00	7,76	9,50	11,23	12,96
Fibra detergente neutro (%)	11,70	14,29	16,88	19,43	21,90	24,38
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cloro (%)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Lisina digestível (%)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Metionina+cistina digestível (%)	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Metionina digestível (%)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Treonina digestível (%)	0,55	0,55	0,54	0,54	0,53	0,53
Triptofano digestível (%)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17

¹Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500mg, Vitamina B12 7,500mcg, Vitamina B2 2,502mg, Vitamina B6 750mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030mg, Cobalto 50mg, Cobre 3,000mg, Ferro 25g, Iodo 500mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,05mg, Zinco 22,49g; ²areia lavada.

Programa de vacinação e programa de luz

Foi realizada a vacinação das aves de acordo com cronograma de vacinação da região. Durante o período experimental (7^a a 17^a semanas de idade), as aves receberam apenas luz natural, aproximadamente 12 horas de luz/dia.

Digestibilidade e balanço de minerais

Durante a 13^a e 14^a semana, foi realizado ensaio de metabolismo utilizando o método de coleta total de excretas. Para o ensaio de metabolismo, foram utilizados 6 tratamentos, 5 repetições, com 5 aves por unidade experimental, totalizando 150 aves, durante um período de 8 dias, dos quais 4 dias foram destinados à adaptação. A coleta de excretas teve duração de quatro dias, sendo realizada duas vezes ao dia (às 8h e 16h). Ao término do período de coleta, o consumo total de ração e a produção de excretas foram quantificados em cada uma das gaiolas para posterior determinação do coeficiente de digestibilidade dos minerais das rações.

Após essa etapa, as excretas foram pesadas e obtida uma alíquota representativa para cada unidade experimental, sendo armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionadas a -18° C em freezer. Após o descongelamento, as amostras de excretas foram secas em estufa de ventilação forçada a 55° C até atingir peso constante, posteriormente, amostras de excretas e rações foram processadas em moinho tipo faca, bem como encaminhadas ao laboratório para determinação de matéria seca (MS), conforme metodologia descrita por AOAC (2005).

Para análise de minerais das amostras de excretas e rações, foi preparada uma solução mineral por meio de uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, conforme metodologia descrita por Silva *et al.*, (2009). A leitura dos minerais foi determinada por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando espectrômetro simultâneo Perkin Elmer (Optima 4300DV).

O teor de minerais das rações e excretas foi expresso em g/kg. A quantidade de cálcio, fósforo e magnésio na dieta foi obtida por meio do consumo de ração total multiplicado pelo nível do respectivo mineral para cada tratamento. Já a quantidade de cálcio, fósforo e magnésio nas excretas foi obtida com base na quantidade de excreta total produzida multiplicada pelo nível de cada mineral.

Após obtenção dos resultados, calculou-se o balanço individual de cálcio, fósforo e magnésio com base na diferença entre a quantidade de mineral ingerido e quantidade excretada.

Qualidade óssea

O osso escolhido para análise foi a tíbia em função do aspecto representativo, tamanho e facilidade de remoção. Assim, ao final da 17ª semana de idade, as aves foram pesadas e, em seguida, uma delas foi selecionada a cada unidade experimental, com peso médio ao da parcela. Além disso, elas foram submetidas a jejum alimentar de 6 horas e, posteriormente, eutanasiadas (insensibilizadas por eletronarcole, seguida de sangria) para remoção da coxa e sobrecoxa direita e esquerda as quais foram identificadas, por tratamento e repetição, congeladas em freezer a -20°C onde permaneceram até o momento da remoção do tecido muscular.

Para a remoção do tecido muscular, as peças foram retiradas do freezer, descongeladas em geladeira (temperatura de 4°C por 12 horas) e depois colocadas sobre as bancadas para que o material atingisse a temperatura ambiente. Em seguida, coxa e sobrecoxa foram mergulhadas em água fervente por 10 minutos, favorecendo a remoção do tecido muscular com auxílio de bisturi (BRUNO, 2002).

Para a mensuração do comprimento e peso foram utilizados os ossos direitos, com auxílio de um paquímetro digital (mm) e uma balança de precisão (0,01g), respectivamente. A avaliação da densidade óssea (mg/mm) foi realizada com base no índice de Seedor, alcançado por meio da divisão do valor do peso (mg/mm) pelo comprimento (mm) do osso avaliado (SEEDOR; QUARTUCCIO; THOMPSON, 1991).

Os parâmetros de resistência e deformidade óssea foram determinados no osso esquerdo, com auxílio de uma prensa mecânica Triaxial da marca Testop/Ronald top com capacidade 150 kg. Os ossos foram colocados em posição horizontal, apoiados em suas extremidades em um suporte e, depois, aplicada uma força de compressão no centro de cada osso. A velocidade de descida do pistão foi de 1.223 mm/min. A quantidade máxima de força aplicada no osso antes da sua ruptura foi considerada, bem como a resistência à quebra (kgf/cm^2), sendo mensurada por meio de um extensômetro analógico. A deformidade do osso (mm) foi medida também e registrada com a utilização do extensômetro analógico a flexão de cada osso em relação a sua posição horizontal, até antes da sua ruptura pela ação da força aplicada.

Os ossos utilizados no teste de qualidade óssea (resistência e deformidade) foram empregados para análise de matéria seca e matéria mineral. Os ossos foram retirados do freezer e colocados em uma bancada para ocorrer o descongelamento. Em seguida, foram colocados em recipientes adequados e pesados em balança analítica digital com precisão de

0,001 gramas e encaminhados para estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h. Subsequentemente, as amostras foram retiradas da estufa e desengorduradas em um extrator de Soxhlet por oito horas, retornando para estufa de ventilação forçada a 55°C por mais 72h, sendo pesadas novamente para obter o peso das amostras de ossos desengorduradas. Ao término dessa etapa, os ossos foram triturados em moinho tipo bola e submetidos à determinação do teor de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM).

Para a determinação dos teores de cálcio, fósforo e magnésio na tíbia, as amostras dos ossos (desengordurados) foram digeridas em uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, de acordo com metodologia descrita anteriormente.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o programa computacional Statistical Analyses System. Os dados dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias feita pelo teste de Dunnett 5%. Em seguida, foi realizada a análise de regressão para os dados obtidos com os diferentes níveis de inclusão da torta de girassol (5, 10, 15, 20, 35%).

3.2 Experimento II – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas leves: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea

O estudo proposto foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE. Todos os procedimentos de metodologia experimental empregados na investigação foram revisados e aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob o número de protocolo 66/2017.

Aves e delineamento experimental

Inicialmente, foram adquiridas 900 pintainhas da linhagem Hy Line White W36 com um dia de idade. Até a 6ª semana, as aves foram alojadas em galpão convencional para criação em piso e receberam manejo segundo as recomendações contidas no manual da linhagem.

A partir da 7ª semana de idade foram selecionadas, com base no peso médio ($451 \pm 11,95\text{g}$), 540 aves. As aves foram alojadas em galpão convencional para criação de frangas de reposição, contendo gaiolas de arame galvanizado (50cm de comprimento x 50cm de largura x 45cm de altura) equipadas com comedouro tipo calha em chapa galvanizada, bebedouro tipo *nipple* e com densidade de alojamento de $416 \text{ cm}^2/\text{ave}$.

Na fase experimental, as aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, sendo duas rações com níveis de 10 e 20% de inclusão de TG, com e sem suplementação de complexo multienzimático (Carboidrase: α -galactosidase, xilanase e β -glucanase; Protease: enzimas séricas alcalinas, forma análoga às proteínas tripsina, quimiotripsina e elastase; e enzima Fitase), bem como uma ração controle a base de milho e farelo de soja, totalizando cinco tratamentos com seis repetições de dezoito aves.

Para as rações com suplementação enzimática, foi considerada a contribuição da matriz nutricional e energética de cada complexo enzimático utilizado nas formulações (Tabela 3), de forma a garantir o mesmo nível de nutrientes e energia das dietas dos diferentes tratamentos.

A quantidade indicada para cada matriz enzimática foi de 100g/ton. Logo, para cada 100kg de ração foi utilizada 10g de cada complexo enzimático, totalizando 30g/100kg de ração.

Tabela 3 – Contribuição nutricional e energética do complexo multienzimático

Matriz nutricional	Carboidrases ¹	Proteases ²	Fitase ³	Contribuição total
Energia metabolizável (kcal/kg)	30,000	25,000	49,000	104,000
Proteína bruta (%)	0,000	0,500	0,401	0,901
Cálcio (%)	0,000	0,000	0,157	0,157
Fósforo digestível (%)	0,000	0,000	0,143	0,143
Sódio (%)	0,000	0,000	0,033	0,033
Metionina digestível (%)	0,000	0,014	0,016	0,030
Metionina + cistina digestível (%)	0,000	0,024	0,036	0,060
Lisina digestível (%)	0,000	0,032	0,016	0,048
Treonina digestível (%)	0,000	0,021	0,032	0,056
Triptofano digestível (%)	0,000	0,005	0,024	0,029
Valina digestível (%)	0,000	0,026	0,000	0,026
Arginina digestível (%)	0,000	0,033	0,000	0,033
Leucina digestível (%)	0,000	0,046	0,000	0,046

¹Poultrygrow 250™; ²ProFare™ EZ 309; ³@finase EC

Programa de alimentação e rações experimentais

O período experimental foi constituído de duas fases: cria (7 a 12 semanas) e recria (13 a 17 semanas). As rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutrientes (Tabelas 4 e 5), segundo recomendações nutricionais constantes no manual da linhagem e os valores de composição dos alimentos compostos por Rostagno *et al.* (2011), exceto para a TG, que continha 92,81% de matéria seca, 2774 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio, 19,35% de proteína bruta, 15,52% de extrato etéreo, 43,95% de fibra em detergente neutro (FDN), 28,96% de fibra em detergente ácido (FDA), 2,66% de matéria mineral (valores determinados pelo autore), 0,28% de cálcio, 0,09% de fósforo disponível, 0,03% de sódio, 0,08% de cloro, 1,16% de potássio, 0,59% de lisina digestível, 0,41% de metionina digestível, 0,68% de metionina + cistina digestível, 0,61% treonina digestível, 0,22% triptofano digestível (valores estimados segundo FEDNA, 2010), todos os valores expressos na matéria natural.

Tabela 4 - Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas leves no período de 7 a 12 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Níveis de torta de girassol (%)				
	0% TG ¹	10% TG	20% TG	10% TG+CE ²	20% TG+CE
Milho	65,41	61,16	53,33	63,70	58,33
Farelo de soja (45%)	26,97	23,32	20,32	20,93	17,50
Torta de girassol	0,00	10,00	20,00	10,00	20,00
Óleo de soja	1,90	1,53	2,36	0,00	0,00
Complexo multienzimático	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03
Calcário calcítico	1,12	1,07	1,02	1,14	1,09
Fosfato bicálcico	2,01	2,01	2,03	1,28	1,29
Sal comum	0,38	0,38	0,38	0,30	0,30
Suplemento mineral e vitaminico ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL – metionina	0,19	0,17	0,16	0,13	0,12
L - lisina HCL	0,09	0,15	0,19	0,16	0,21
L – Treonina	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00
Inerte ²	1,72	0,00	0,00	2,12	0,93
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados					
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,000	3,000	3,000	2,896	2,896
Proteína bruta (%)	17,55	17,55	17,55	16,65	16,65
Matéria seca (%)	88,73	88,99	89,58	88,96	89,39
Fibra detergente ácido (%)	4,38	7,91	11,36	7,80	11,31
Fibra detergente neutro (%)	11,52	16,80	21,75	16,78	21,96
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	0,84	0,84
Fósforo disponível (%)	0,47	0,47	0,47	0,33	0,33
Sódio (%)	0,17	0,17	0,17	0,14	0,14
Cloro (%)	0,28	0,28	0,28	0,23	0,23
Potássio (%)	0,68	0,72	0,75	0,68	0,72
Lisina digestível (%)	0,89	0,89	0,89	0,84	0,84
Metionina+cistina digestível (%)	0,68	0,68	0,68	0,62	0,62
Metionina digestível (%)	0,43	0,43	0,43	0,38	0,38
Treonina digestível (%)	0,60	0,60	0,60	0,56	0,55
Triptofano digestível (%)	0,18	0,18	0,18	0,17	0,17

¹TG = Torta de girassol, ²CE = Complexo multienzimático, ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500 mg, Vitamina B12 7,500 mcg, Vitamina B2 2,502 mg, Vitamina B6 750 mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250 mg, Biotina 25 mg, Niacina 17,5 g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030 mg, Cobalto 50 mg, Cobre 3,000 mg, Ferro 25 g, Iodo 500 mg, Manganês 32,5 g, Selênio 100,05 mg, Zinco 22,49 g. ²Areia lavada.

Tabela 5 - Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimática para frangas leves no período de 13 a 17 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Níveis de torta de girassol (%)				
	0% TG ¹	10% TG	20% TG	10% TG+CE ²	20% TG+CE
Milho	71,95	66,59	59,51	64,63	59,27
Farelo de soja (45%)	22,59	19,15	16,03	17,57	14,14
Torta de girassol	0,00	10,00	20,00	10,00	20,00
Óleo de soja	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Complexo multienzimático	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03
Calcário calcítico	1,20	1,14	1,09	1,21	1,15
Fosfato bicálcico	1,93	1,94	1,95	1,21	1,22
Sal comum	0,41	0,40	0,40	0,33	0,33
Suplemento mineral e vitamínico ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL – metionina	0,13	0,12	0,10	0,08	0,06
L - lisina HCL	0,04	0,09	0,14	0,00	0,14
L – Treonina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte ²	1,56	0,37	0,00	4,66	3,47
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados					
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,950	2,950	2,950	2,846	2,846
Proteína bruta (%)	16,00	16,00	16,00	15,10	15,10
Matéria seca (%)	88,41	88,78	89,30	89,11	89,48
Fibra detergente ácido (%)	4,25	7,75	11,23	7,56	11,07
Fibra detergente neutro (%)	11,69	16,88	21,90	16,42	21,61
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	0,84	0,84
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,31	0,31
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,15	0,15
Cloro (%)	0,29	0,29	0,29	0,25	0,25
Potássio (%)	0,62	0,65	0,69	0,62	0,66
Lisina digestível (%)	0,75	0,75	0,75	0,70	0,70
Metionina+cistina digestível (%)	0,59	0,59	0,59	0,52	0,52
Metionina digestível (%)	0,36	0,36	0,36	0,31	0,31
Treonina digestível (%)	0,54	0,54	0,53	0,51	0,50
Triptofano digestível (%)	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15

¹TG = Torta de girassol, ²CE = Complexo multienzimática, ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500mg, Vitamina B12 7,500mcg, Vitamina B2 2,502mg, Vitamina B6 750mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030mg, Cobalto 50mg, Cobre 3,000mg, Ferro 25g, Iodo 500mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,05mg, Zinco 22,49g; ²areia lavada.

Programa de vacinação e programa de luz

Foi realizada a vacinação das aves de acordo com cronograma de vacinação da região. Durante o período experimental (7^a a 17^a semanas de idade), as aves receberam apenas luz natural, aproximadamente 12 horas de luz/dia.

Digestibilidade e balanço de minerais

Durante a 13^a e 14^a semana, foi realizado um ensaio de metabolismo, utilizando o método de coleta total de excretas. Para o ensaio de metabolismo, foram usados 5 tratamentos, 5 repetições, com 5 aves por unidade experimental, totalizando 125 aves, durante um período de 8 dias, dos quais 4 dias foram destinados para adaptação. A coleta de excretas teve duração de quatro dias, sendo realizada duas vezes ao dia (às 8h e 16h). Ao término do período de coleta, o consumo total de ração e a produção de excretas foram aspectos quantificados a cada gaiola, para posterior determinação do coeficiente de digestibilidade dos minerais das rações.

Após essa etapa, as excretas foram pesadas e obtida uma alíquota representativa para cada unidade experimental, sendo armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionadas a -18° C em freezer. Após o descongelamento, as amostras de excretas foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55° C até atingir peso constante, posteriormente, amostras de excretas e rações foram processadas em moinho tipo faca e encaminhadas ao laboratório para determinação de matéria seca (MS), segundo metodologia descrita por AOAC (2002).

Para análise de minerais das amostras de excretas e rações, foi preparada uma solução mineral por meio de uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, segundo metodologia descrita por Silva *et al.*, (2009). A leitura dos minerais foi determinada por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando espectrômetro simultâneo Perkin Elmer (Optima 4300DV).

O teor de minerais das rações e excretas foi expresso em g/kg. A quantidade de cálcio, fósforo e magnésio foi obtida com base no consumo de ração total multiplicado pelo nível do respectivo mineral para cada tratamento. Já a quantidade de cálcio, fósforo e magnésio nas excretas foi obtida por meio da quantidade de excreta total produzida multiplicada pelo nível de cada mineral.

Após a obtenção dos resultados, calculou-se o balanço individual de cálcio, fósforo e magnésio por diferença entre a quantidade de mineral ingerido e quantidade excretada.

Qualidade óssea

O osso escolhido para análise foi a tíbia em função do aspecto representativo, tamanho e facilidade de remoção. Assim, ao final da 17ª semana de idade as aves foram pesadas e foi realizada a seleção de uma delas por unidade experimental, com peso médio ao da parcela. Em seguida, foram submetidas a jejum alimentar de 6 horas e, posteriormente, foram eutanasiadas (insensibilizadas por eletronarcose, seguida de sangria) para remoção da coxa e sobrecoxa direita e esquerda, as quais foram identificadas por tratamento e repetição, congeladas em freezer a -20°C onde permaneceram até o momento da remoção do tecido muscular.

Para a remoção do tecido muscular, as peças foram retiradas do freezer e descongeladas em geladeira (temperatura de 4°C por 12 horas), depois colocadas sobre as bancadas para que o material atingisse a temperatura ambiente. Em seguida, coxa e sobrecoxa foram mergulhadas em água fervente por 10 minutos, sendo que a ação da temperatura contribuiu com o pré-cozimento do tecido muscular favorecendo sua remoção do osso com auxílio de bisturi (BRUNO, 2002).

Para a mensuração do comprimento e peso foram utilizados os ossos direitos, com auxílio de um paquímetro digital (mm) e uma balança de precisão (0,01g), respectivamente. A avaliação da densidade óssea (mg/mm) foi realizada por meio do índice de Seedor, alcançado com base na divisão do valor do peso (mg/mm) pelo comprimento (mg/mm) do osso avaliado (SEEDOR; QUARTUCCIO; THOMPSON, 1991).

Os parâmetros de resistência e deformidade óssea foram determinados no osso esquerdo, com auxílio de uma prensa mecânica Triaxial da marca Testop/Ronald top com capacidade 150 kg. Os ossos foram colocados em posição horizontal, apoiados em suas extremidades em um suporte, e depois aplicada uma força de compressão no centro de cada osso. A velocidade de descida do pistão foi de 1.223 mm/min. A quantidade máxima de força aplicada no osso antes da sua ruptura foi considerada, bem como a resistência à quebra (kgf/cm^2) sendo mensurada por meio de um extensômetro analógico. A deformidade do osso (mm) também foi medida sendo registrada a partir do uso do extensômetro analógico, assim

como a flexão de cada osso em relação a sua posição horizontal, até antes da sua ruptura pela ação da força aplicada.

Os ossos utilizados no teste de qualidade óssea (resistência e deformidade) foram empregados para análise de matéria seca e matéria mineral. Os ossos foram retirados do freezer e colocados em uma bancada para ocorrer o descongelamento. Em seguida, todos foram colocados em recipientes adequados e pesados em balança analítica digital com precisão de 0,001 gramas e encaminhados para estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h. As amostras foram retiradas da estufa e desengorduradas em um extrator de Soxhlet por oito horas, retornando para estufa de ventilação forçada a 55°C por mais 72h, sendo pesadas novamente para obter o peso das amostras de ossos desengordurados. Ao término dessa etapa, os ossos foram triturados em moinho tipo bola e submetidos à determinação do teor de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM).

Para determinação dos teores de cálcio, fósforo e magnésio na tíbia, as amostras dos ossos (desengordurados) foram digeridas em uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, segundo metodologia descrita anteriormente.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando a análise de variância pelo Statistical Analyses System por meio do procedimento ANOVA, segundo modelo fatorial 2 x 2 + 1. A comparação das médias para os fatores foi realizada pelo teste F (5%), enquanto para a comparação dos tratamentos isolados em relação à ração controle, foi utilizado o teste de Dunnett (5%).

3.3 Experimento III – Torta de girassol na alimentação de frangas semipesadas: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea

O respectivo estudo foi desenvolvido no setor de avicultura do Departamento de Zootecnia (DZ) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), localizada na cidade de Fortaleza - CE. Todos os procedimentos de metodologia experimental empregados no estudo proposto foram revisados e aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob o número de protocolo 102/2016.

Aves e delineamento experimental

Inicialmente, foram adquiridas 900 pintainhas da linhagem Hy Line Brown com um dia de idade. Até a 6ª semana, as aves foram alojadas em galpão convencional para criação em piso e receberam manejo segundo as recomendações contidas no manual da linhagem.

A partir da 7ª semana de idade foram selecionadas, com base no peso médio ($451 \pm 11,95\text{g}$), 756 aves. As aves foram alojadas em galpão convencional para criação de frangas de reposição, contendo gaiolas de arame galvanizado (50cm de comprimento x 50cm de largura x 45cm de altura) equipadas com comedouro tipo calha em chapa galvanizada, bebedouro tipo nipple e com densidade de alojamento de $416 \text{ cm}^2/\text{ave}$.

Na fase experimental, as aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições de 21 aves cada. Os tratamentos consistiram em rações contendo níveis de inclusão de 0, 6, 12, 18, 24 e 30% de TG.

Programa de alimentação e rações experimentais

O período experimental foi constituído de duas fases: cria (7 a 12 semanas) e recria (13 a 17 semanas). As rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutrientes (Tabelas 6 e 7), segundo recomendações nutricionais constantes no manual da linhagem e os valores de composição dos alimentos compostos por Rostagno *et al.* (2011), exceto para a TG, que continha 92,81% de matéria seca, 2774 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio, 19,35% de proteína bruta,

15,52% de extrato etéreo, 43,95% de fibra em detergente neutro (FDN), 28,96% de fibra em detergente ácido (FDA), 2,66% de matéria mineral (valores determinados pelos autores), 0,28% de cálcio, 0,09% de fósforo disponível, 0,03% de sódio, 0,08% de cloro, 1,16% de potássio, 0,59% de lisina digestível, 0,41% de metionina digestível, 0,68% de metionina + cistina digestível, 0,61% treonina digestível, 0,22% triptofano digestível (valores estimados segundo FEDNA, 2010), sendo os valores expressos na matéria natural.

Tabela 6 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas semipesadas no período de 7 a 12 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Nível de torta de girassol (%)					
	0	6	12	18	24	30
Milho	67,74	64,52	61,30	57,34	52,63	47,93
Farelo de soja (45%)	26,66	24,60	22,54	20,62	18,83	17,03
Torta de girassol	0,00	6,00	12,00	18,00	24,00	30,00
Óleo de soja	0,00	0,00	0,00	0,25	0,76	1,26
Calcário calcítico	1,27	1,24	1,20	1,17	1,14	1,10
Fosfato bicálcico	1,79	1,79	1,80	1,80	1,81	1,82
Suplemento vitamínico ¹	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sal comum	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
DL – metionina	0,17	0,16	0,15	0,14	0,13	0,13
L - lisina HCL	0,01	0,04	0,07	0,10	0,12	0,15
Inerte ³	1,78	1,07	0,36	0,00	0,00	0,00
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados						
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900	2.900
Proteína bruta (%)	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50
Matéria seca (%)	88,48	88,74	88,99	89,24	89,50	89,78
Fibra detergente ácido (%)	4,44	6,54	8,63	10,73	12,82	14,91
Fibra detergente neutro (%)	11,76	14,83	17,90	20,97	24,04	27,09
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fósforo disponível (%)	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
Sódio (%)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
Cloro (%)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29
Potássio (%)	0,68	0,71	0,73	0,75	0,78	0,80
Lisina digestível (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Metionina+cistina digestível (%)	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Metionina digestível (%)	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Treonina digestível (%)	0,60	0,60	0,59	0,59	0,58	0,58
Triptofano digestível (%)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19

¹Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500mg, Vitamina B12 7,500mcg, Vitamina B2 2,502mg, Vitamina B6 750mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030mg, Cobalto 50mg, Cobre 3,000mg, Ferro 25g, Iodo 500mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,05mg, Zinco 22,49g; ²areia lavada.

Tabela 7 - Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações para frangas semipesadas no período de 13 a 17 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Nível de torta de girassol (%)					
	0	6	12	18	24	30
Milho	68,62	65,39	62,17	58,93	55,72	52,50
Farelo de soja (45%)	23,30	21,30	19,31	17,30	15,24	13,18
Torta de girassol	0,00	6,00	12,00	18,00	24,00	30,00
Calcário calcítico	1,19	1,16	1,13	1,10	1,07	1,03
Fosfato bicálcico	1,93	1,94	1,94	1,95	1,95	1,95
Suplemento vitamínico ¹	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Sal comum	0,41	0,41	0,40	0,40	0,40	0,40
DL – metionina	0,10	0,09	0,08	0,07	0,06	0,06
L - lisina HCL	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04	0,07
Inerte ²	4,25	3,51	2,77	2,04	1,32	0,61
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível nutricional e energético calculados						
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,850	2,850	2,850	2,850	2,850	2,850
Proteína bruta (%)	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00	16,00
Matéria seca (%)	88,70	88,95	89,20	89,45	89,70	89,95
Fibra detergente ácido (%)	4,20	6,30	8,40	10,50	12,59	14,69
Fibra detergente neutro (%)	11,40	14,48	17,56	20,63	23,70	26,78
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cloro (%)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Potássio (%)	0,63	0,65	0,67	0,70	0,72	0,74
Lisina digestível (%)	0,73	0,71	0,69	0,67	0,67	0,67
Metionina+cistina digestível (%)	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
Metionina digestível (%)	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Treonina digestível (%)	0,55	0,55	0,54	0,54	0,54	0,54
Triptofano digestível (%)	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17

¹Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500mg, Vitamina B12 7,500mcg, Vitamina B2 2,502mg, Vitamina B6 750mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250mg, Biotina 25mg, Niacina 17,5g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030mg, Cobalto 50mg, Cobre 3,000mg, Ferro 25g, Iodo 500mg, Manganês 32,5g, Selênio 100,05mg, Zinco 22,49g; ²areia lavada.

Programa de vacinação e programa de luz

Foi realizada a vacinação das aves de acordo com cronograma de vacinação da região. Durante o período experimental (7^a a 17^a semanas de idade), as aves receberam apenas luz natural, aproximadamente 12 horas de luz/dia.

Digestibilidade e balanço de minerais

Durante a 13^a e 14^a semana, foi realizado ensaio de metabolismo, utilizando o método de coleta total de excretas. Para o ensaio de metabolismo, foram usados 6 tratamentos, 5 repetições, com 5 aves por unidade experimental, totalizando 150 aves, durante um período de 8 dias, dos quais 4 dias foram destinados à adaptação. A coleta de excretas teve duração de quatro dias, sendo realizada duas vezes ao dia (às 8h e 16h). Ao término do período de coleta, o consumo total de ração e a produção de excretas foi quantificado a cada gaiola, para posterior determinação do coeficiente de digestibilidade dos minerais das rações.

Após essa etapa, as excretas foram pesadas e obtida uma alíquota representativa para cada unidade experimental, sendo armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionadas a -18° C em freezer. Após o descongelamento, as amostras de excretas foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55° C até atingir peso constante, posteriormente, as amostras de excretas e rações foram processadas em moinho tipo faca, bem como encaminhadas ao laboratório para determinação de matéria seca (MS), segundo metodologia descrita por AOAC, (2002).

Para a análise de minerais das amostras de excretas e rações, foi preparada uma solução mineral a partir de uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, conforme metodologia descrita por Silva *et al.*, (2009). A leitura dos minerais foi determinada por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando espectrômetro simultâneo Perkin Elmer (Optima 4300DV).

O teor de minerais das rações e excretas foi expresso em g/kg. A quantidade de cálcio, fósforo e magnésio foi obtida com base no consumo de ração total multiplicado pelo nível do respectivo mineral para cada tratamento. Já a quantidade de cálcio, fósforo e magnésio nas excretas foi obtida por meio da quantidade de excreta total produzida multiplicada pelo nível de cada mineral.

Após obtenção dos resultados, calculou-se o balanço individual de cálcio, fósforo e magnésio por diferença entre a quantidade de mineral ingerido e quantidade excretada.

Qualidade óssea

O osso escolhido para análise foi a tíbia em função do aspecto representativo, tamanho e facilidade de remoção. Assim, ao final da 17ª semana de idade as aves foram pesadas e foi selecionada uma delas por unidade experimental, com peso médio ao da parcela. Em seguida, foram submetidas a jejum alimentar de 6 horas e, posteriormente, todas foram eutanasiadas (insensibilizadas por eletronarcose, seguida de sangria) para remoção da coxa e sobrecoxa direita e esquerda, as quais foram identificadas, por tratamento e repetição, sendo congeladas em freezer a -20°C , onde permaneceram até o momento da remoção do tecido muscular.

Para a remoção do tecido muscular, as peças foram retiradas do freezer e descongeladas em geladeira (temperatura de 4°C por 12 horas) e depois colocadas sobre as bancadas para que o material atingisse a temperatura ambiente. Em seguida, coxa e sobrecoxa foram mergulhadas em água fervente por 10 minutos. A ação da temperatura contribuiu com o pré-cozimento do tecido muscular favorecendo sua remoção do osso com auxílio de bisturi (BRUNO, 2002).

Para a mensuração do comprimento e peso, foram utilizados os ossos direitos, com auxílio de um paquímetro digital (mm) e uma balança de precisão (0,01g), respectivamente. A avaliação da densidade óssea (mg/mm) foi realizada com base no índice de Seedor, alcançado a partir da divisão do valor do peso (mg/mm) pelo comprimento (mg/mm) do osso avaliado (SEEDOR; QUARTUCCIO; THOMPSON, 1991).

Os parâmetros de resistência e deformidade óssea foram determinados no osso esquerdo, com auxílio de uma prensa mecânica Triaxial da marca Testop/Ronald top com capacidade 150 kg. Os ossos foram colocados em posição horizontal, apoiados em suas extremidades em um suporte. Em seguida, foi aplicada uma força de compressão no centro de cada osso. A velocidade de descida do pistão foi de 1.223 mm/min. A quantidade máxima de força aplicada no osso antes da sua ruptura foi considerada, bem como a resistência à quebra (kgf/cm^2) sendo mensurada a partir do uso de um extensômetro analógico. A deformidade do osso (mm) também foi medida e registrada por meio de um extensômetro analógico, assim como a flexão de cada osso em relação a sua posição horizontal, até antes da sua ruptura pela ação da força aplicada.

Os ossos utilizados no teste de qualidade óssea (resistência e deformidade) foram empregados para análise de matéria seca e matéria mineral. Os ossos foram retirados do freezer e colocados em uma bancada para ocorrer o descongelamento. Na sequência, foram

colocados em recipientes adequados e pesados em balança analítica digital com precisão de 0,001 gramas e encaminhados para estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h. As amostras foram retiradas da estufa e desengorduradas em um extrator de Soxhlet por oito horas, retornando para estufa de ventilação forçada a 55°C por mais 72h, sendo pesadas novamente para obter o peso das amostras de ossos desengordurados. Ao término dessa etapa, os ossos foram triturados em moinho de bola e submetidos à determinação do teor de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM).

Para determinação dos teores de cálcio, fósforo e magnésio na tibia, as amostras dos ossos (desengordurados) foram digeridas em uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, conforme metodologia descrita anteriormente.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi desenvolvida utilizando o programa computacional Statistical Analyses System. Os dados dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias feita pelo teste de Dunnett 5%. Em seguida, foi realizada a análise de regressão para os dados obtidos com os diferentes níveis de inclusão da torta de girassol (6, 12, 18, 24, 30%)

3.4 Experimento IV – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas semipesadas: digestibilidade, balanço de minerais e parâmetros de qualidade óssea

Este estudo foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE. Todos os procedimentos de metodologia experimental empregados no estudo proposto foram revisados e aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob o número de protocolo 66/2017.

Aves e delineamento experimental

Inicialmente, foram adquiridas 900 pintainhas da linhagem Hy Line Brown com um dia de idade. Até a 6ª semana, as aves foram alojadas em galpão convencional para criação em piso e receberam manejo segundo as recomendações contidas no manual da linhagem.

A partir da 7ª semana de idade foram selecionadas, com base no peso médio ($451 \pm 11,95\text{g}$), 480 aves. As aves foram alojadas em galpão convencional para criação de frangas de reposição, contendo gaiolas de arame galvanizado (50cm de comprimento x 50cm de largura x 45cm de altura) equipadas com comedouro tipo calha em chapa galvanizada e bebedouro tipo *nipple* com densidade de alojamento de $416 \text{ cm}^2/\text{ave}$.

Na fase experimental, as aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, sendo duas rações com níveis de 12 e 24% de inclusão de TG, com e sem suplementação de complexo multienzimático (Carboidrase: α -galactosidase, xilanase e β -glucanase; Protease: enzimas séricas alcalinas, forma análoga às proteínas tripsina, quimiotripsina e elastase; e enzima Fitase), e uma ração controle a base de milho e farelo de soja, totalizando cinco tratamentos com seis repetições de dezesseis aves.

As dietas experimentais empregadas neste estudo foram formuladas de acordo com os procedimentos para elaboração das rações do experimento II, inclusive, sobre a utilização da torta de girassol e complexo multienzimático. Sendo assim, a contribuição nutricional e energética das enzimas utilizadas para formular as rações experimentais foi a utilizada para o experimento com as frangas de linhagem leve. No entanto, foram levadas em consideração as exigências nutricionais do manual da linhagem semipesada.

Programa de alimentação e rações experimentais

O período experimental foi constituído de duas fases: cria (7 a 12 semanas) e recria (13 a 17 semanas). As rações experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas e isonutrientes (Tabelas 8 e 9), segundo recomendações nutricionais constantes no manual da linhagem e os valores de composição dos alimentos compostos por Rostagno *et al.* (2011), exceto, para a TG, que continha 92,81% de matéria seca, 2774 kcal/kg de energia metabolizável aparente corrigida para o balanço de nitrogênio, 19,35% de proteína bruta, 15,52% de extrato etéreo, 43,95% de fibra em detergente neutro (FDN), 28,96% de fibra em detergente ácido (FDA), 2,66% de matéria mineral (valores determinados pelo autor), 0,28% de cálcio, 0,09% de fósforo disponível, 0,03% de sódio, 0,08% de cloro, 1,16% de potássio, 0,59% de lisina digestível, 0,41% de metionina digestível, 0,68% de metionina + cistina digestível, 0,61% de treonina digestível, 0,22% de triptofano digestível (valores estimados segundo FEDNA, 2010), todos os valores expressos na matéria natural.

Tabela 8 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas semipesadas no período de 7 a 12 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Níveis de torta de girassol				
	0% TG ¹	12% TG	24% TG	12% TG+CE ²	24% TG+CE
Milho	67,74	61,30	52,64	59,35	52,91
Farelo de soja (45)	26,66	22,54	18,83	20,96	16,84
Torta de girassol	0,00	12,00	24,00	12,00	24,00
Óleo de soja	0,00	0,00	0,76	0,00	0,00
Complexo multienzimático	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03
Calcário	1,27	1,20	1,14	1,27	1,20
Fosfato bicálcico	1,79	1,80	1,81	1,07	1,08
Sal comum	0,38	0,38	0,38	0,30	0,30
Premix min/vit. ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL-Metionina	0,17	0,15	0,13	0,11	0,10
L-Lisina HCL	0,01	0,07	0,12	0,06	0,12
Inerte	1,78	0,36	0,00	4,65	3,23
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional calculada					
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.900	2.900	2.900	2.796	2.796
Proteína bruta (%)	17,50	17,50	17,50	16,60	16,60
Matéria seca (%)	88,48	88,99	89,50	89,33	89,33
Fibra detergente ácido (%)	4,44	8,63	12,82	8,44	12,63
Fibra detergente neutro (%)	11,76	17,90	24,04	17,45	23,59
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	0,84	0,84
Fósforo disponível (%)	0,43	0,43	0,43	0,29	0,29
Sódio (%)	0,17	0,17	0,17	0,14	0,14
Cloro (%)	0,28	0,28	0,28	0,23	0,23
Potássio (%)	0,68	0,72	0,77	0,69	0,74
Metionina digestível (%)	0,41	0,41	0,41	0,36	0,36
Metionina+cistina digestível (%)	0,66	0,66	0,66	0,60	0,60
Lisina digestível (%)	0,82	0,82	0,82	0,77	0,77
Treonina digestível (%)	0,60	0,59	0,58	0,56	0,55
Triptofano digestível (%)	0,18	0,18	0,18	0,17	0,17

¹TG = Torta de girassol, ²CE = Complexo multienzimático, ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500 mg, Vitamina B12 7,500 mcg, Vitamina B2 2,502 mg, Vitamina B6 750 mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250 mg, Biotina 25 mg, Niacina 17,5 g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030 mg, Cobalto 50 mg, Cobre 3,000 mg, Ferro 25 g, Iodo 500 mg, Manganês 32,5 g, Selênio 100,05 mg, Zinco 22,49 g. ²Areia lavada.

Tabela 9 – Composição, níveis nutricionais e energéticos das rações contendo torta de girassol e complexo multienzimático para frangas semipesadas no período de 13 a 17 semanas de idade

Ingredientes (kg)	Níveis de torta de girassol				
	0% TG ¹	12% TG	24% TG	12% TG+CE ²	24% TG+CE
Milho	68,62	62,16	55,72	60,21	53,76
Farelo de soja (45)	23,30	19,31	15,24	17,71	13,65
Torta de girassol	0,00	12,00	24,00	12,00	24,00
Óleo de soja	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Complexo multienzimático	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03
Calcário	1,19	1,13	1,07	1,19	1,13
Fosfato bicálcico	1,93	1,94	1,95	1,21	1,22
Sal comum	0,41	0,40	0,40	0,33	0,33
Premix min/vit. ³	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
DL-Metionina	0,10	0,08	0,06	0,04	0,03
L-Lisina HCL	0,00	0,00	0,04	0,00	0,03
L-Treonina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Inerte	4,25	2,77	1,32	7,08	5,62
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição nutricional calculada					
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.850	2.850	2.850	2.746	2.746
Proteína bruta (%)	16,00	16,00	16,00	15,10	15,10
Matéria seca (%)	88,70	89,20	89,70	89,54	90,04
Fibra detergente ácido (%)	4,20	8,40	12,59	8,20	12,40
Fibra detergente neutro (%)	11,40	17,56	23,70	17,10	23,25
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	0,84	0,84
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,31	0,31
Sódio (%)	0,18	0,18	0,18	0,15	0,15
Cloro (%)	0,29	0,29	0,30	0,25	0,25
Potássio (%)	0,62	0,67	0,71	0,63	0,68
Metionina digestível (%)	0,32	0,32	0,32	0,28	0,28
Metionina+cistina digestível (%)	0,56	0,56	0,56	0,50	0,50
Lisina digestível (%)	0,72	0,68	0,67	0,64	0,62
Treonina digestível (%)	0,55	0,54	0,53	0,51	0,50
Triptofano digestível (%)	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15

¹TG = Torta de girassol, ²CE = Complexo multienzimático, ³Níveis de garantia por kg do produto: Vitamina A 5,500,000 UI, Vitamina B1 500 mg, Vitamina B12 7,500 mcg, Vitamina B2 2,502 mg, Vitamina B6 750 mg, Vitamina D3 1,000,000 UI, Vitamina E 6,500 UI, Vitamina K3 1,250 mg, Biotina 25 mg, Niacina 17,5 g, Ácido fólico 251 mg, Ácido pantotênico 6,030 mg, Cobalto 50 mg, Cobre 3,000 mg, Ferro 25 g, Iodo 500 mg, Manganês 32,5 g, Selênio 100,05 mg, Zinco 22,49 g. ²Areia lavada.

Programa de vacinação e programa de luz

Foi realizada a vacinação das aves de acordo com cronograma da região. Durante o período experimental (7^a a 17^a semanas de idade), as aves receberam apenas luz natural, aproximadamente 12 horas de luz/dia.

Digestibilidade e balanço de minerais

Durante a 13^a e 14^a semana, foi realizado o ensaio de metabolismo, utilizando o método de coleta total de excretas. Para o ensaio de metabolismo, foram utilizados 5 tratamentos, 5 repetições, com 5 aves por unidade experimental, totalizando 125 aves durante um período de 8 dias, dos quais 4 dias foram destinados à adaptação. A coleta de excretas teve duração de quatro dias, sendo realizada duas vezes ao dia (às 8h e 16h). Ao término do período de coleta, o consumo total de ração e a produção de excretas foram quantificados por cada gaiola, para posterior determinação do coeficiente de digestibilidade dos minerais das rações.

Após essa etapa, as excretas foram pesadas e obtida uma alíquota representativa para cada unidade experimental, sendo armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionadas a -18° C em freezer. Após o descongelamento, as amostras de excretas foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55° C até atingir peso constante. Com isso, posteriormente, as amostras de excretas e rações foram processadas em moinho tipo faca, bem como encaminhadas ao laboratório para determinação de matéria seca (MS), conforme metodologia descrita por AOAC (2002).

Para análise de minerais das amostras de excretas e rações, foi preparada uma solução mineral por meio de uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, conforme metodologia descrita por Silva *et al.*, (2009). A leitura dos minerais foi determinada por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando espectrômetro simultâneo Perkin Elmer (Optima 4300DV).

O teor de minerais das rações e excretas foi expresso em g/kg. A quantidade de cálcio, fósforo e magnésio foi obtida com base no consumo de ração total multiplicado pelo nível do respectivo mineral para cada tratamento. Já a quantidade de cálcio, fósforo e magnésio nas excretas foi obtida por meio da quantidade de excreta total produzida multiplicada pelo nível de cada mineral.

Após a obtenção dos resultados, calculou-se o balanço individual de cálcio, fósforo e magnésio por diferença entre a quantidade de mineral ingerido e quantidade excretada.

Qualidade óssea

O osso escolhido para análise foi a tíbia em função do aspecto representativo, tamanho e facilidade de remoção. Assim, ao final da 17ª semana de idade, as aves foram pesadas e foi selecionada uma delas por unidade experimental, com peso médio ao da parcela. Em seguida, foram submetidas a jejum alimentar de 6 horas e, posteriormente, todas foram eutanasiadas (insensibilizadas por eletronarcose, seguida de sangria) para remoção da coxa e sobrecoxa direita e esquerda, as quais foram identificadas, por tratamento e repetição, congeladas em freezer a -20°C , onde permaneceram até o momento da remoção do tecido muscular.

Para a remoção do tecido muscular, as peças foram retiradas do freezer e descongeladas em geladeira (temperatura de 4°C por 12 horas) e depois colocadas sobre as bancadas para que o material atingisse a temperatura ambiente. Em seguida, coxa e sobrecoxa foram mergulhadas em água fervente por 10 minutos, a ação da temperatura contribuiu com o pré-cozimento do tecido muscular favorecendo sua remoção do osso com auxílio de bisturi (BRUNO, 2002).

Para a mensuração do comprimento e peso foram utilizados os ossos direito, com auxílio de um paquímetro digital (mm) e uma balança de precisão (0,01g), respectivamente. A avaliação da densidade óssea (mg/mm) foi realizada por meio do índice de Seedor, alcançado a partir da divisão do valor do peso (mg/mm) pelo comprimento (mg/mm) do osso avaliado (SEEDOR; QUARTUCCIO; THOMPSON, 1991).

Os parâmetros de resistência e deformidade óssea foram determinados no osso esquerdo, com auxílio de uma prensa mecânica Triaxial da marca Testop/Ronald top com capacidade 150 kg. Os ossos foram colocados em posição horizontal, apoiados em suas extremidades em um suporte, e depois aplicada uma força de compressão no centro de cada osso. A velocidade de descida do pistão foi de 1.223 mm/min. A quantidade máxima de força aplicada no osso antes da sua ruptura foi considerada, bem como a resistência à quebra (kgf/cm^2) sendo mensurada a partir do uso de um extensômetro analógico. A deformidade do osso (mm) foi medida também sendo registrada com a utilização de um extensômetro analógico, assim como a flexão de cada osso em relação a sua posição horizontal, até antes da sua ruptura pela ação da força aplicada.

Os ossos utilizados no teste de qualidade óssea (resistência e deformidade) foram usados para análise de matéria seca e matéria mineral. Os ossos foram retirados do freezer e colocados em uma bancada para ocorrer o descongelamento. Em seguida, todos foram

colocados em recipientes adequados e pesados em balança analítica digital com precisão de 0,001 gramas e encaminhados para estufa de ventilação forçada a 55°C por 72h. As amostras foram retiradas da estufa e desgorduradas em um extrator de Soxhlet por oito horas, retornando para estufa de ventilação forçada a 55°C por mais 72h, sendo pesadas novamente para obter o peso das amostras de ossos desgordurados. Ao término dessa etapa, os ossos foram triturados em moinho tipo bola e submetidos à determinação do teor de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM).

Para determinação dos teores de cálcio, fósforo e magnésio na tibia, as amostras dos ossos (desgordurados) foram digeridas em uma mistura de ácido nítrico (HNO₃ 65%) e ácido perclórico (HClO₄ 72%), na proporção de 3:1, conforme metodologia descrita anteriormente.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por intermédio da análise de variância pelo Statistical Analyses Sistem, com base no procedimento ANOVA, segundo modelo fatorial 2 x 2 + 1. A comparação das médias para os fatores foi realizada pelo teste F (5%), enquanto para a comparação dos tratamentos isolados em relação à ração controle foi utilizado o teste de Dunnett (5%).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.I Experimento I – Torta de girassol na alimentação de frangas leves: digestibilidade, balanço mineral e parâmetro de qualidade óssea

De acordo com os valores médios para o coeficiente de digestibilidade aparente e balanço dos minerais das rações (Tabela 10), não foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos contendo torta de girassol comparados ao tratamento controle, bem como não houve efeito para análises de regressão dos níveis de torta de girassol avaliados.

Tabela 10 - Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações contendo níveis de torta de girassol para frangas de reposição leves

Rações	CDACa ¹ (%)	BCa ² (g)	CDAP ³ (%)	BP ⁴ (g)	CDAMg ⁵ (%)	BMg ⁶ (g)
0% TG ⁷	46,92	4,99	47,25	2,61	24,73	0,31
5% TG	46,11	5,30	46,84	2,84	29,64	0,42
10% TG	44,44	4,61	44,53	2,53	25,48	0,35
15% TG	43,66	4,70	45,71	2,74	28,67	0,43
20% TG	44,04	4,99	44,65	2,78	27,26	0,42
25% TG	43,10	5,05	45,00	2,84	25,43	0,42
Média	44,71	4,94	45,66	2,72	26,87	0,39
CV ⁸ (%)	7,03	10,33	5,45	8,91	16,44	19,91
ANOVA ⁹ <i>p</i> -valor						
Nível	0,3755	0,3367	0,3975	0,2663	0,4343	0,1040
Regressão <i>p</i> -valor						
Linear	0,4167	0,0682	0,3856	0,2406	0,8467	0,7619
Quadrática	0,5981	0,0671	0,4843	0,1854	0,9945	0,6873

¹Coeficiente de digestibilidade aparente de cálcio; ²Balanço de cálcio; ³Coeficiente de digestibilidade aparente de fósforo; ⁴Balanço de fósforo; ⁵Coeficiente de digestibilidade aparente de magnésio; ⁶Balanço de magnésio; ⁷Torta de Girassol; ⁸Coeficiente de Variação; ⁹ANOVA = Análise de Variância ($p < 0,05$).

Na literatura, tem sido relatado que o aumento do teor de fibra com a maior inclusão de torta de girassol pode afetar a dinâmica do processo digestivo e absorptivo, por meio do aumento da taxa de passagem e efeito abrasivo com aumento da descamação e taxa de renovação celular da mucosa do epitélio intestinal (MONTAGNE, PLUSKE, HAMPSON, 2003; MATEOS *et al.*, 2012), uma vez que os carboidratos fibrosos desse alimento são caracterizados, majoritariamente, pela fração insolúvel (ROSTAGNO *et al.*, 2017). Além disso, a presença do ácido fítico na torta do girassol pode limitar a disponibilidade dos minerais da ração, em consequência da complexação com cátions formando complexos

insolúveis (SELLE *et al.*, 2009). Dessa forma, a presença de compostos antinutricionais, como os polissacarídeos não amiláceos da fração fibrosa e o fitato, nos coprodutos da semente do girassol podem afetar negativamente a disponibilidade dos minerais do alimento testado, bem como a dinâmica de aproveitamento dos minerais da dieta (TAVERNARI *et al.*, 2008).

Diante do exposto, mesmo as rações tendo sido formuladas para serem isocálcicas e isofosfóricas, ajustando-se o calcário calcítico e fosfato bicálcico à medida que houve a inclusão da torta de girassol, poderiam ocorrer problemas no aproveitamento dos minerais da ração por parte das aves alimentadas com mais teor de fibras aportadas pela torta de girassol. Entretanto, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos com inclusão da torta de girassol em relação à ração controle sobre o coeficiente de digestibilidade e balanço dos minerais avaliados, demonstra não haver efeito prejudicial do nível de torta de girassol sobre a disponibilidade dos minerais avaliados. Deste modo, é possível afirmar que a inclusão de até 25% não afeta o aproveitamento dos três minerais avaliados.

Não foram relatados os efeitos da adição dos coprodutos da semente do girassol sobre a utilização dos minerais da ração nos estudos em que foram adicionados para a alimentação de frangas. Contudo, os resultados obtidos diferem de alguns relatos quando os coprodutos foram testados na alimentação de frangos de corte. Tavernari *et al.* (2008) relataram que a inclusão de 20% de farelo de girassol nas rações proporcionou redução no coeficiente de digestibilidade do cálcio e fósforo. Kalmendal *et al.* (2011) evidenciaram que a inclusão da torta de girassol (10, 20 e 30%) na dieta de frangos de corte (15 a 31 dias) ocasionou redução linear no coeficiente de digestibilidade do conteúdo da matéria mineral das rações.

Vale ressaltar que, além das diferenças anatômicas, fisiológicas e no comportamento ingestivo que contribuem para uma maior eficiência na digestibilidade dos nutrientes das rações por frangas em relação aos frangos de corte, a variabilidade de resultados para a digestibilidade de minerais pode ocorrer em função da quantidade do mineral que está presente e disponível no alimento, assim como pela quantidade e tipo de fibra.

Para a característica de composição mineral óssea da tíbia das frangas (Tabela 11), verificou-se que a inclusão da torta de girassol na ração não influenciou os teores de MS, MM, cálcio, fósforo e magnésio dos ossos, em relação ao tratamento controle. Não foi constatado também o efeito significativo nas análises de regressão.

Tabela 11 - Composição mineral óssea de frangas de reposição leves alimentadas com ração contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento

Rações	MS ¹ (%)	MM ² (%)	Cálcio (g/kg)	Fósforo (g/kg)	Magnésio (g/kg)
0% TG ³	60,51	57,89	240,15	102,16	3,55
5% TG	62,68	58,62	249,17	103,52	3,70
10% TG	63,11	57,61	238,29	101,82	3,56
15% TG	61,83	56,84	228,44	101,84	3,50
20% TG	61,99	57,77	234,92	102,98	3,69
25% TG	62,32	57,07	244,32	101,37	3,67
Média	62,07	57,63	239,22	102,28	3,61
CV ⁴ (%)	6,46	2,72	7,11	2,66	7,07
ANOVA ⁵			<i>p-valor</i>		
Nível	0,9361	0,5526	0,4944	0,8143	0,7400
Regressão			<i>p-valor</i>		
Linear	0,8149	0,2415	0,0594	0,6772	0,3205
Quadrática	0,8596	0,3539	0,0675	0,7869	0,2975

¹MS = Matéria Seca; ²MM = Matéria Mineral; ³TG = Torta de Girassol; ⁴CV = Coeficiente de Variação; ⁵ANOVA = Análise de variância (p<0,05); *Difere do tratamento 0% de TG pelo teste de Dunnett: Na coluna, médias seguidas de letras distintas entre si pelo teste F (5%).

Considerando os resultados sobre a digestibilidade e balanço dos minerais da ração, esse efeito dos tratamentos sobre a composição óssea era esperado, uma vez que o efeito positivo ou negativo na mineralização do tecido ósseo, nas condições experimentais promovidas, deveria ser decorrente apenas de variações na digestibilidade dos minerais em função do nível de torta de girassol adicionado às rações.

Para Gallinger *et al.* (2004), frangos de corte alimentados com 10% de farelo de arroz não apresentaram diferença no conteúdo mineral do osso da tíbia quando comparados com aves alimentadas com ração controle, enquanto níveis mais elevados de inclusão apresentaram reflexo negativo sobre a mineralização óssea, sendo esse efeito relacionado ao conteúdo fibra e fitato da dieta (WARREN & FARRELL, 1990).

Considerando que é durante a fase crescimento que ocorre a maior taxa de mineralização óssea (KWAKKEL; DUCRO; KOOPS, 1993), bem como que as rações experimentais foram isonutrientes, não sendo detectada a influência dos efeitos antinutricionais do alimento testado sobre os valores dos coeficientes de digestibilidade, é possível afirmar que o nível de 30% garante o atendimento dos requisitos mínimos para a formação do tecido ósseo adequado.

Quanto aos parâmetros de qualidade óssea da tíbia das frangas alimentadas com torta de girassol (Tabela 12), verificou-se que os tratamentos não influenciaram as variáveis analisadas, tanto na comparação de médias quanto nas análises de regressão.

Tabela 12 – Parâmetros de qualidade óssea de frangas leves alimentadas com rações contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento, na 17ª semana de idade

Variáveis						
Rações	Peso (g)	Comprimento (mm)	Circunferência (mm)	Índice de Seedor (mg/mm)	Deformidade (mm)	Resistencia (kgf/cm ²)
Tíbia						
0% de TG ¹	5,67	116,07	7,23	48,85	3,37	12,87
5% de TG	5,50	113,49	7,24	48,42	3,08	13,37
10% de TG	5,42	114,91	7,05	47,18	3,25	12,86
15% de TG	6,33	114,46	7,07	55,35	3,01	12,83
20% de TG	5,54	114,94	7,05	48,20	3,19	12,85
25% de TG	5,58	114,20	7,24	48,91	3,21	12,84
Média	5,67	114,68	7,14	49,48	3,18	12,94
CV ² (%)	15,12	1,66	4,39	15,14	11,92	4,92
ANOVA ³				<i>p-valor</i>		
Nível	0,4908	0,3139	0,6911	0,4791	0,6464	0,6523
Regressão				<i>p-valor</i>		
Linear	0,3088	0,1985	0,0886	0,3649	0,8787	0,0720
Quadrática	0,3207	0,2326	0,0831	0,3748	0,8053	0,1349

¹TG = Torta de Girassol; ²CV=Coeficiente de Variação; ³ANOVA = Análise de Variância (p<0,05).

Os resultados obtidos para os parâmetros de qualidade óssea refletem os efeitos dos tratamentos na mineralização óssea, visto que a inclusão da torta de girassol não prejudicou nenhuma das variáveis.

A ausência de efeito da inclusão da torta de girassol, em função do aumento do teor de fibra nas rações sobre os parâmetros de qualidade óssea do estudo, está de acordo com os resultados na literatura. Para Cruz *et al.* (2012), o nível de 18,5% de FDN na ração não influenciou o crescimento, qualidade e a composição da tíbia de frangas na 17ª semana de idade. Pinheiro *et al.* (2013) constataram, ao avaliar os efeitos da inclusão da torta de girassol (7, 14 e 21%) na alimentação de frangas semipesadas, entre a 10ª e 16ª semana de idade, que a torta de girassol não apresentou efeito sobre o crescimento das aves, uma vez que o comprimento do metatarso das que foram alimentadas com torta de girassol não diferiu em comparação ao tratamento controle.

Kim *et al.* (2018) averiguaram que a densidade mineral óssea do fêmur e o conteúdo de cinzas da tíbia de frangos de corte representam aspectos não afetados pelos tratamentos contendo farelo de girassol.

Além dos efeitos da fração fibrosa, a presença do ácido clorogênico na torta de girassol poderia também afetar a formação do tecido ósseo, pois na sua composição a matriz

óssea orgânica, que corresponde a 22% do tecido ósseo, é constituída em sua maior parte (90%) por colágeno (COMPTON; LEE, 2014), estrutura proteica formada por especialmente aminoácidos, como glicina, prolina e hidroxiprolina (FERREIRA *et al.*, 2012). Nessa perspectiva, o ácido clorogênico pode afetar significativamente a qualidade da fração protéica presente nas dietas, oxidando-a e reduzindo sua digestibilidade (SCHARLACK; ARACAVA; RODRIGUES, 2017), o que poderia afetar a disponibilidade de aminoácidos para a biossíntese da matriz orgânica influenciando parâmetros como peso, deformidade e resistência óssea. Contudo, esse efeito não foi constatado no estudo proposto.

O fato das aves alimentadas com dietas contendo torta de girassol não ter apresentado influência sobre os parâmetros de qualidade óssea, indica que o desenvolvimento ósseo das aves foi mantido durante a fase de crescimento. Assim, verifica-se que a inclusão de até 25% da torta de girassol na ração de aves de reposição leves possibilita minimizar os custos com alimentação, em razão da redução de parte dos ingredientes convencionais (milho e farelo de soja) da matriz nutricional da dieta pela torta de girassol, sem comprometer os parâmetros de qualidade óssea durante a fase de crescimento das frangas.

4.2 Experimento II – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas leves: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade óssea

Os resultados para o coeficiente de digestibilidade e balanço do cálcio, fósforo e magnésio (Tabela 13) indicam que não houve interação significativa ($P>0,05$) entre os níveis de torta de girassol e a suplementação enzimática testada. Não foi identificada também diferença estatística na comparação das médias do tratamento controle em relação aos tratamentos que tiveram a inclusão da torta de girassol com ou sem a suplementação enzimática. Na comparação das rações com os níveis de 10 e 20% da torta de girassol, não foi constada diferença significativa entre as variáveis estudadas, indicando que inclusão de até 20% da torta de girassol não compromete o aproveitamento do cálcio, fosforo e magnésio. Já quando avaliada apenas a ausência ou presença do complexo multienzimático nas rações com torta de girassol, verificou-se que adição das enzimas resultou no aumento dos coeficientes de digestibilidade do cálcio e fósforo nas proporções de 8,41% e 13,86%, respectivamente.

Tabela 13 - Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações para frangas de reposição leves contendo níveis de torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	CDACa ¹ (%)	BCa ² (g)	CDAP ³ (%)	BP ⁴ (g)	CDAMg ⁵ (%)	BMg ⁶ (g)
0% TG ⁷	46,92	4,99	47,25	2,61	24,73	0,31
10% TG	44,44	4,61	44,53	2,53	25,48	0,35
20% TG	44,04	4,99	44,65	2,78	27,26	0,42
10% TG+CME ⁸	50,97	4,94	49,73	2,60	30,10	0,41
20% TG+CME	50,49	5,25	48,36	2,53	29,33	0,41
Média	47,37	4,95	46,91	2,61	27,38	0,38
CV ⁹ (%)	5,58	8,50	4,98	7,67	14,91	17,30
ANOVA ¹⁰	<i>p-valor</i>					
Rações	0,3457	0,2476	0,2570	0,3030	0,2035	0,0531
Nível						
10%	47,71	4,77	47,13	2,57	27,79	0,38
20%	47,26	5,12	46,51	2,66	28,30	0,42
Enzimas						
Ausência	44,24b	4,80	44,59b	2,66	26,37b	0,39
Presença	50,73 ^a	5,09	49,05a	2,57	29,72a	0,41
ANOVA	<i>p-valor</i>					
Nível	0,6729	0,0917	0,5851	0,3098	0,8033	0,2629
Enzimas	0,0001	0,1398	0,0011	0,3098	0,1167	0,4096
Nível X Enzimas	0,9681	0,8409	0,5161	0,0760	0,5370	0,3160

¹Coeficiente de digestibilidade aparente de cálcio; ²Balanço de cálcio; ³Coeficiente de digestibilidade aparente de fósforo; ⁴Balanço de fósforo; ⁵Coeficiente de digestibilidade aparente de magnésio; ⁶Balanço de magnésio;

⁷Torta de Girassol; ⁸Complexo Multienzimático; ⁹Coefficiente de Variação; ¹⁰ANOVA = Análise de Variância (p<0,05); *Difere do tratamento 0% de TG pelo teste de Dunnett; Na coluna, médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de F(5%).

Os elevados coeficientes de digestibilidade aparente dos minerais avaliados nos tratamentos que tiveram a suplementação enzimática podem ser associados ao efeito combinado das carboidrases, proteases e fitase. De acordo com os relatos (CHOCT, 2006, OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007), a ação hidrolítica das enzimas presentes na ração permite a quebra da estrutura dos PNA's da parede celular dos vegetais e da molécula do fitato, possibilitando aumentar a eficiência na utilização do fósforo fítico e dos demais minerais complexados.

Tarvernari *et al.* (2008) averiguaram, testando 0 e 20% de níveis de inclusão de farelo de girassol, com ou sem suplementação de complexo enzimático (celulase, β -glucanase, xilanase e fitase), em dietas para frangos de corte sem alterar os níveis nutricionais, o efeito significativo para aumento do coeficiente de digestibilidade do cálcio e fósforo das rações.

Todavia, Taylor *et al.* (2018) encontraram, ao avaliar a ação conjunta da fitase e xilanase na dieta de poedeiras alimentadas com rações a base de milho e farelo de soja sobre o coeficiente de digestibilidade dos minerais da ração, a ausência de efeito significativo para a combinação enzimática. No entanto, a suplementação das enzimas permitiu o aumento numérico para o coeficiente de digestibilidade do cálcio (5,70%), fósforo (36,6%) e magnésio (65,10%), de modo que tal acréscimo foi superior aos valores obtidos no estudo desenvolvido.

Tal fato pode ser associado com a inespecificidade do grupo de carboidrases ao tipo de substrato, cuja natureza da fração dos polissacarídeos não amiláceos da torta de girassol é composta pela fração insolúvel, aproximadamente 85%, representados por ramnose, arabinose, xilose, manose galactose, glicose e ácido urônico, como foi demonstrado por Rostagno *et al.* (2017), enquanto as carboidrases utilizadas no estudo foram compostas por α -galactosidase, xilanase e β -glucanase.

A melhora nos coeficientes de digestibilidade do cálcio, fósforo e magnésio da dieta por meio da suplementação de enzimas exógenas, contribui com a redução da inclusão de fontes de minerais nas formulações. Além disso, o organismo animal pode se beneficiar da maior quantidade desses minerais disponíveis para diversas funções orgânicas para as quais são demandados, ou seja, homeostase do tecido ósseo, participação no estímulo do sistema nervoso, contração muscular, coagulação sanguínea, calcificação da casca do ovo e regulação das secreções hormonais (MATOS, 2008).

Não houve interação significativa ($P>0,05$) entre o nível de torta de girassol e a opção uso do complexo multienzimático, assim como não houve efeito significativo na comparação entre o tratamento controle e as rações com a inclusão de torta de girassol suplementada ou não com complexo multienzimático (Tabela 14). Não ocorreu também diferença estatísticas em comparação com o fator nível de torta de girassol (12 e 24%), bem como entre a ausência e presença do complexo multienzimático nas rações com torta de girassol.

Assim, embora o uso das enzimas exógenas tenha resultado na melhora do coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio, fósforo e magnésio, isso não refletiu maior taxa de mineralização óssea no tratamento com presença de complexo multienzimático.

A ação da suplementação enzimática contribuiu com a manutenção da mineralização óssea da tíbia de frangas alimentadas com dietas contendo torta de girassol com níveis nutricionais reduzidos, sendo que os resultados não diferiram do tratamento controle. No entanto, Kim *et al.* (2018) constataram, ao avaliar a adição da enzima fitase na ração de frangos de corte contendo farelo de girassol, que a presença da fitase proporcionou maior conteúdo de cinzas na tíbia das aves.

Francesch & Geraert, (2009) também identificaram o aumento das concentrações de cálcio, fósforo e cinza da tíbia de frangos de corte com dietas a base de milho e farelo de soja com níveis nutricionais reduzidos e suplementadas com carboidrases e fitase.

Considerando que os resultados do tratamento controle representam a condição nutricional referencial para o atendimento adequado da demanda de minerais para as frangas, e que as rações com os níveis de 10 e 20% de torta de girassol sem a suplementação enzimática resultou em pequenas alterações nos coeficientes de digestibilidade aparente dos minerais (Tabela 13), é possível afirmar que o incremento de fibra presente na torta de girassol, conforme Tabela 4, e valores do fósforo fítico (0,88%) (MILLER; PRETORIUS; TOIT, 1986) em relação aos encontrados no milho e farelo de soja (ROSTAGNO *et al.*, 2017), não compromete o atendimento das exigências de minerais para a formação do tecido ósseo das aves durante a fase de crescimento, garantido mineralização óssea adequada.

Tabela 14 - Composição mineral óssea de frangas de reposição leves alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	MS ¹ (%)	MM ² (%)	Cálcio (g/kg)	Fósforo (g/kg)	Magnésio (g/kg)
0% TG ³	60,51	57,89	240,15	102,16	3,55
10% TG	63,11	57,61	238,29	101,82	3,56
20% TG	61,99	57,77	234,92	100,98	3,69
10% TG+CME ⁴	61,82	56,85	247,82	105,73	3,70
20% TG+CME	59,90	56,52	243,55	104,76	3,68
Média	61,47	57,33	240,95	103,09	3,63
CV ⁵ (%)	5,56	2,86	6,12	6,11	6,52
ANOVA ⁶			<i>p-valor</i>		
Rações	0,6065	0,6118	0,6909	0,7171	0,7313
Nível					
10%	62,47	57,23	243,06	103,78	3,63
20%	60,95	57,14	239,24	102,87	3,68
Enzimas					
Ausência	62,55	57,69	236,61	101,40	3,69
Presença	60,86	56,68	245,70	105,25	3,62
ANOVA			<i>p-valor</i>		
Nível	0,3690	0,9040	0,6057	0,7761	0,6728
Enzimas	0,3188	0,1667	0,2290	0,2343	0,5780
Nível X Enzimas	0,8122	0,7640	0,9518	0,9826	0,5117

¹MS = Matéria Seca; ²MM = Matéria Mineral; ³TG = Torta de Girassol; ⁴CME = Complexos Multienzimático; ⁵CV = Coeficiente de Variação; ⁶ANOVA = Análise de variância (p<0,05); *Difere do tratamento 0% de TG pelo teste de Dunnett: Na coluna, médias seguidas de letras distintas entre si pelo teste F (5%).

Na avaliação da qualidade óssea das frangas na 17ª semana de idade, alimentadas com torta de girassol com ou sem suplementação de complexo multienzimático, observou-se que não houve interação significativa entre os fatores testados para nenhuma das variáveis (Tabela 15). Não ocorreu também efeito para o nível de torta de girassol na ração, bem como para presença e ausência do complexo multienzimático.

Levando em conta que a pesquisa foi conduzida na faixa de idade das aves em que a estrutura óssea se encontra em formação, bem como os minerais oriundos da alimentação são direcionados para a mineralização do tecido ósseo, inicialmente hipotetizou-se que a ação negativa do aumento da fração fibrosa e quantidade de fitato da ração com adição de torta de girassol reduzissem a disponibilidade de minerais e, assim, influenciassem o desenvolvimento ou qualidade dos ossos, conforme relatado por Scheideler, Jaroni e Puthongsiripron (1998), quando examinaram que a adição de alimentos fibrosos na ração de frangas resultou em menor digestibilidade do cálcio e fósforo da ração o que poderia comprometer a integridade óssea.

Os resultados obtidos por meio da pesquisa se assemelham ao relatados por Cruz *et al.* (2012), quando analisaram que a utilização de 18,5% de fibra em detergente neutro na ração não influenciou o crescimento e a qualidade dos ossos de frangas.

Ao aplicar os valores de contribuição nutricional e energética da matriz enzimática na formulação das rações, ocorreu a redução das quantidades de milho e farelo de soja, o que pode representar uma alternativa para diminuir a dependência desses dois ingredientes, sem que houvesse comprometimento dos parâmetros de resistência e deformidade óssea, uma vez que eles foram mantidos ao longo do período de criação, garantindo a integridade óssea durante o estágio de crescimento das aves alimentadas com dietas contendo 10 e 20% de TG com suplementação multienzimática.

Tabela 15 - Parâmetros de qualidade óssea de frangas de reposição leves alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	Peso (g)	Comprimento (mm)	Circunferência (mm)	Índice de Seedor (mg/mm)	Deformidade (mm)	Resistência (kgf/cm ²)
Tíbia						
0% TG ¹	5,67	116,07	7,23	48,85	3,37	12,37
10% TG	5,42	114,90	7,05	47,18	3,25	12,86
20% TG	5,54	114,94	7,04	48,20	3,35	11,96
10% TG+CME ²	5,16	111,42	7,19	46,19	3,56	12,83
20% TG + CME	5,29	112,11	7,17	47,14	3,27	12,89
Média	5,42	113,89	7,14	47,51	3,36	12,57
CV ³ (%)	9,15	3,74	5,45	7,72	17,64	11,72
ANOVA ⁴ <i>p-valor</i>						
Rações	0,4262	0,2849	0,8807	0,7525	0,9061	0,7370
Nível						
10%	5,29	113,16	7,12	46,67	3,40	12,84
20%	5,41	113,52	7,11	47,67	3,31	12,40
Enzimas						
Ausência	5,48	114,92	7,05	47,69	3,30	12,39
Presença	5,22	111,76	7,18	46,66	3,41	12,86
ANOVA <i>p-valor</i>						
Nível	0,5727	0,8509	0,9385	0,5493	0,7250	0,4544
Enzimas	0,2544	0,1118	0,3771	0,5307	0,6528	0,4231
Nível X Enzimas	0,9671	0,8652	0,9473	0,9829	0,4464	0,3948

¹TG = Torta de Girassol; ²CME=Complexo multienzimático; ³CV=Coefficiente de Variação; ⁴ANOVA = Análise de Variância (P<0,05).

4.3 Experimento III – Torta de girassol na alimentação de frangas semipesadas: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade óssea

Segundo os valores médios para coeficiente de digestibilidade aparente e balanço dos minerais das rações (Tabela 16), não foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos contendo torta de girassol comparados ao tratamento controle, bem como não houve efeito para análises de regressão dos níveis de torta de girassol avaliados.

Tabela 16 - Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações contendo torta de girassol para frangas de reposição semipesadas

Rações	CDACa ¹ (%)	BCa ² (g)	CDAP ³ (%)	BP ⁴ (g)	CDAMg ⁵ (%)	BMg ⁶ (g)
0% TG ⁷	45,93	5,06	42,55	3,07	35,37	0,64
6% TG	45,37	5,18	44,23	3,24	36,05	0,69
12% TG	44,43	4,78	43,60	3,09	35,62	0,66
18% TG	43,76	4,82	43,88	3,20	32,46	0,65
24% TG	43,73	5,22	41,13	3,26	34,59	0,72
30% TG	43,43	4,97	43,70	3,39	32,15	0,67
Média	44,44	5,01	43,18	3,21	34,37	0,67
CV ⁸ (%)	4,33	5,38	4,41	6,01	7,13	7,72
ANOVA ⁹			<i>p-valor</i>			
Nível	0,2727	0,0752	0,1456	0,1299	0,0726	0,2294
Regressão			<i>p-valor</i>			
Linear	0,3418	0,2195	0,2670	0,2106	0,4596	0,8899
Quadrática	0,5323	0,2083	0,3615	0,1102	0,7723	0,8341

¹Coeficiente de digestibilidade aparente de cálcio; ²Balanço de cálcio; ³Coeficiente de digestibilidade aparente de fósforo; ⁴Balanço de fósforo; ⁵Coeficiente de digestibilidade aparente de magnésio; ⁶Balanço de magnésio; ⁷Torta de Girassol; ⁸Coeficiente de Variação; ⁹ANOVA = Análise de Variância ($p < 0,05$).

Na literatura, tem sido relatado que o aumento do teor de fibra com a maior inclusão de torta de girassol pode afetar a dinâmica do processo digestivo e absorptivo, por meio do aumento da taxa de passagem e efeito abrasivo com aumento da descamação e taxa de renovação celular da mucosa do epitélio intestinal (MONTAGNE, PLUSKE, HAMPSON, 2003; MATEOS *et al.*, 2012), uma vez que os carboidratos fibrosos desse alimento são caracterizados majoritariamente pela fração insolúvel (ROSTAGNO *et al.*, 2017). Além disso, a presença do ácido fítico na torta do girassol pode limitar a disponibilidade dos minerais da ração, em consequência da complexação com cátions formando complexos insolúveis (SELLE *et al.*, 2009). Dessa forma, a presença de compostos antinutricionais, como os polissacarídeos não amiláceos da fração fibrosa e o fitato, nos coprodutos da semente do

girassol podem afetar negativamente a disponibilidade dos minerais do alimento testado, bem como a dinâmica de aproveitamento dos minerais da dieta (TAVERNARI *et al.*, 2008).

Diante do exposto, mesmo as rações tendo sido formuladas para serem isocálcicas e isofosfóricas, ajustando-se o calcário calcítico e fosfato bicálcico à medida que houve a inclusão da torta de girassol, poderiam ocorrer problemas no aproveitamento dos minerais da ração por parte das aves alimentadas com mais teor de fibra aportada pela torta de girassol. Entretanto, a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos com inclusão da torta de girassol em relação à ração controle sobre o coeficiente de digestibilidade e balanço dos minerais avaliados, demonstra não haver efeito prejudicial do nível de torta de girassol sobre a disponibilidade dos minerais avaliados. Deste modo, é possível afirmar que a inclusão de até 30% não afeta o aproveitamento dos três minerais avaliados.

Não estão sendo relatados os efeitos da adição dos coprodutos da semente do girassol sobre a utilização dos minerais da ração nos estudos acerca de sua adição na alimentação de frangas. Contudo, os resultados obtidos diferem de alguns relatos quando os coprodutos foram testados na alimentação de frangos de corte. Tavernari *et al.* (2008) ressaltaram que a inclusão de 20% de farelo de girassol nas rações proporcionou redução no coeficiente de digestibilidade do cálcio e fósforo. Kalmendal *et al.* (2011) observaram que a inclusão da torta de girassol (0, 10, 20 e 30%) na dieta de frangos de corte (15 a 31 dias) ocasionou redução linear no coeficiente de digestibilidade do conteúdo da matéria mineral das rações.

Vale ressaltar que, além das diferenças anatômicas, fisiológicas e no comportamento ingestivo que contribuem para uma maior eficiência na digestibilidade dos nutrientes das rações por frangas em relação aos frangos de corte, a variabilidade de resultados para a digestibilidade de minerais pode ocorrer em função da quantidade do mineral que está presente e disponível no alimento, assim como pela quantidade e tipo de fibra.

Para a característica de composição mineral óssea da tíbia das frangas (Tabela 17), verificou-se que a inclusão da torta de girassol na ração não influenciou os teores de MS, MM, cálcio, fósforo e magnésio dos ossos, em relação ao tratamento controle. Não foi constatado também efeito significativo nas análises de regressão.

Tabela 17 - Composição mineral óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com ração contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento

Rações	MS ¹ (%)	MM ² (%)	Cálcio (g/kg)	Fósforo (g/kg)	Magnésio (g/kg)
0% TG ³	48,15	56,96	240,82	102,63	3,44
6% TG	46,59	56,60	248,33	104,78	3,45
12% TG	47,26	56,79	249,53	103,91	3,35
18% TG	42,88	57,54	299,05	123,18	4,17
24% TG	46,23	56,50	256,68	108,50	3,59
30% TG	47,53	54,80	241,24	101,43	3,47
Média	46,44	56,53	255,94	107,41	3,58
CV ⁴ (%)	9,39	3,21	16,71	16,33	16,66
ANOVA ⁵			<i>p-valor</i>		
Nível	0,4839	0,2933	0,2919	0,4042	0,3149
Regressão			<i>p-valor</i>		
Linear	0,2530	0,1191	0,1228	0,1579	0,1914
Quadrática	0,2341	0,0608	0,1116	0,1463	0,2020

¹MM = Matéria Mineral; ²MS = Matéria Seca; ³TG = Torta de Girassol; ⁴CV = Coeficiente de Variação; ⁵ANOVA = Análise de variância (P<0,05).

Considerando os resultados sobre a digestibilidade e balanço dos minerais da ração, o efeito dos tratamentos sobre a composição óssea pode ser considerado esperado, uma vez que o efeito positivo ou negativo na mineralização do tecido ósseo, nas condições experimentais promovidas, deveria ser decorrente apenas de variações na digestibilidade dos minerais em função do nível de torta.

Para Gallinger *et al.* (2004), frangos de corte alimentados com 10% de farelo de arroz não apresentaram diferença no conteúdo mineral do osso da tíbia quando comparados com aves alimentadas com ração controle, enquanto níveis maiores de inclusão apresentaram reflexo negativo sobre a mineralização óssea, sendo esse efeito relacionado ao conteúdo fibra e fitato da dieta (WARREN & FARRELL, 1990).

Levando em conta que é durante a fase crescimento que ocorre a maior taxa de mineralização óssea (KWAKKEL; DUCRO; KOOPS, 1993); e que as rações experimentais foram isonutrientes, não sendo detectada a influência dos efeitos antinutricionais do alimento testado sobre os valores dos coeficientes de digestibilidade, é possível afirmar que o nível de 30% de TG garante o atendimento dos requisitos mínimos para a formação do tecido ósseo adequado.

Quanto aos parâmetros de qualidade óssea da tíbia e do fêmur das frangas alimentadas com torta de girassol (Tabela 18), verificou-se que os tratamentos não influenciaram as variáveis analisadas, tanto na comparação de médias quanto nas análises de regressão.

Tabela 18 - Parâmetros de qualidade óssea de frangas semipesadas alimentadas com rações contendo níveis de torta de girassol na fase de crescimento, na 17ª semana de idade

Rações	Peso (g)	Comprimento (mm)	Circunferência (mm)	Índice de Seedor (mg/mm)	Deformidade (mm)	Resistência (kgf/cm ²)
Tíbia						
0% de TG ¹	7,07	120,22	8,38	58,74	2,77	14,34
6% de TG	7,03	118,80	8,39	59,25	3,10	14,10
12% de TG	6,99	118,91	8,53	58,85	2,80	13,82
18% de TG	7,34	118,55	8,72	61,84	2,89	13,33
24% de TG	7,14	119,07	8,37	59,88	3,35	15,23
30% de TG	7,55	121,22	8,63	62,30	2,76	14,93
Média	7,18	119,46	8,50	60,14	2,94	14,29
CV ² (%)	9,00	2,43	4,32	8,74	18,51	15,93
ANOVA ³				<i>p-valor</i>		
Nível	0,6419	0,5817	0,4484	0,7582	0,3638	0,7196
Regressão				<i>p-valor</i>		
Linear	0,9471	0,4254	0,5013	0,9063	0,8542	0,6038
Quadrática	0,7238	0,2904	0,5816	0,9309	0,8299	0,4488

¹TG = Torta de Girassol; ²CV=Coeficiente de Variação; ³ANOVA = Análise de Variância (p<0,05).

Os resultados obtidos para os parâmetros de qualidade óssea refletem os efeitos dos tratamentos na mineralização óssea, visto que a inclusão da torta de girassol não prejudicou nenhuma das variáveis.

A ausência de efeito da inclusão da torta de girassol, em função do aumento do teor de fibra nas rações, sobre os parâmetros de qualidade óssea do estudo está de acordo com os resultados na literatura. Para Cruz *et al.* (2012), o nível de 18,5% de FDN na ração não influenciou o crescimento, qualidade e a composição do fêmur e da tíbia de frangas na 17ª semana de idade. Pinheiro *et al.* (2013) identificaram, ao avaliar os efeitos da inclusão da torta de girassol (0, 7, 14 e 21%) na alimentação de frangas semipesada, entre a 10ª e 16ª semana de idade, que a torta de girassol não apresentou efeito sobre o crescimento das aves, uma vez que o comprimento do metatarso das aves alimentadas com torta de girassol não diferiu em comparação ao tratamento controle.

Kim *et al.* (2018) verificaram que a densidade mineral óssea do fêmur e o conteúdo de cinzas da tíbia de frangos de corte não foram afetados pelos tratamentos contendo farelo de girassol.

Além dos efeitos da fração fibrosa, a presença do ácido clorogênico na torta de girassol poderia também afetar a formação do tecido ósseo, pois na sua composição a matriz óssea orgânica, que corresponde a 22% do tecido ósseo, é constituída em sua maior parte (90%) por colágeno (COMPTON; LEE, 2014), estrutura proteica formada especialmente por aminoácidos como glicina, prolina e hidroxiprolina (FERREIRA *et al.*, 2012). Nessa

perspectiva, o ácido clorogênico pode afetar significativamente a qualidade da fração protéica presente nas dietas, oxidando-a e reduzindo sua digestibilidade (SCHARLACK; ARACAVA; RODRIGUES, 2017), o que poderia afetar a disponibilidade de aminoácidos para a biossíntese da matriz orgânica influenciando parâmetros como peso, deformidade e resistência óssea. Entretanto, tal efeito não foi observado no estudo desenvolvido.

O fato das aves alimentadas com dietas contendo torta de girassol não terem apresentado influência sobre os parâmetros de qualidade óssea, indica que o desenvolvimento ósseo das aves foi mantido durante a fase de crescimento. Assim, verifica-se que a inclusão de até 30% da torta de girassol na ração de aves de reposição possibilita minimizar os custos com alimentação, em razão da redução de parte dos ingredientes convencionais (milho e farelo de soja) da matriz nutricional da dieta pela torta de girassol, sem comprometer os parâmetros de qualidade óssea durante a fase de crescimento das frangas.

4.4 Experimento IV – Suplementação multienzimática em rações contendo torta de girassol para frangas semipesadas: digestibilidade, balanço mineral e parâmetros de qualidade óssea

Os resultados para o coeficiente de digestibilidade e balanço do cálcio, fósforo e magnésio (Tabela 19) indicam que não houve interação significativa ($P>0,05$) entre os níveis de torta de girassol e a suplementação enzimática testada. Não foi identificada também diferença estatística na comparação das médias do tratamento controle em relação aos tratamentos que tiveram a inclusão da torta de girassol, com ou sem a suplementação enzimática. Na comparação das rações com os níveis de 12 e 24% da torta de girassol, não houve diferença significativa entre as variáveis estudadas, indicando que inclusão de até 24% da torta de girassol não compromete o aproveitamento do cálcio, fosforo e magnésio. Já quando avaliada apenas a ausência ou presença do complexo multienzimático nas rações com torta de girassol, verificou-se que adição das enzimas resultou no aumento dos coeficientes de digestibilidade do cálcio, fósforo e magnésio nas proporções de 8,41%, 12,62% e 15,19%, respectivamente.

Tabela 19 - Coeficiente de digestibilidade e balanço mineral de rações para frangas de reposição semipesadas contendo níveis de torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	CDACa ¹ (%)	BCa ² (g)	CDAP ³ (%)	BP ⁴ (g)	CDAMg ⁵ (%)	BMg ⁶ (g)
0% TG ⁷	45,93	5,04	42,55	3,07	35,37	0,642
12% TG	44,43	4,78	43,60	3,09	35,62	0,662
24% TG	43,73	5,22	41,13	3,26	34,59	0,722
12% TG+CME ⁸	48,88	5,32	48,25	3,08	41,56	0,680
24% TG+CME	47,38	5,19	48,71	3,27	41,24	0,720
Média	46,07	5,11	44,85	3,15	37,68	0,69
CV ⁹ (%)	3,64	6,46	3,63	5,82	7,29	9,01
ANOVA ¹⁰	<i>p-valor</i>					
Rações	0,3985	0,1404	0,1751	0,2519	0,6596	0,2037
Nível						
12%	46,66	5,05	45,92	3,09	38,59	0,67
24%	45,56	5,20	44,92	3,26	37,91	0,72
Enzimas						
Ausência	44,08b	5,00	42,36b	3,17	35,11b	0,69
Presença	48,13a	5,25	48,48a	3,18	41,40a	0,70
ANOVA	<i>p-valor</i>					
Nível	0,1307	0,3346	0,2124	0,1462	0,6034	0,1046
Enzimas	0,0001	0,1231	0,0001	0,9712	0,0002	0,7866
Nível X Enzimas	0,5690	0,0852	0,0766	0,0852	0,7844	0,7352

¹Coefficiente de digestibilidade aparente de cálcio; ²Balço de cálcio; ³Coefficiente de digestibilidade aparente de fósforo; ⁴Balço de fósforo; ⁵Coefficiente de digestibilidade aparente de magnésio; ⁶Balço de magnésio; ⁷Torta de Girassol; ⁸Complexo Multienzimático; ⁹Coefficiente de Variação; ¹⁰ANOVA = Análise de Variância ($p < 0,05$); *Difere do tratamento 0% de TG pelo teste de Dunnett; Na coluna, médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de F(5%).

Os elevados coeficientes de digestibilidade aparente dos minerais avaliados nos tratamentos que tiveram a suplementação enzimática podem ser associados ao efeito combinado das carboidrases, proteases e fitase. Conforme os relatos (CHOCT, 2006, OLUKOSI; COWIESON; ADEOLA, 2007), a ação hidrolítica das enzimas presentes na ração permite a quebra da estrutura dos PNA's da parede celular dos vegetais e da molécula do fitato, possibilitando aumentar a eficiência na utilização do fósforo fítico e dos demais minerais complexados.

Tavernari *et al.* (2008) evidenciaram, testando 0 e 20% de níveis de inclusão de farelo de girassol, com ou sem suplementação de complexo enzimático (celulase, β -glucanase, xilanase e fitase), em dietas para frangos de corte sem alterar os níveis nutricionais, o efeito significativo para aumento do coeficiente de digestibilidade do cálcio e fósforo das rações.

No entanto, Taylor *et al.* (2018) salientaram, ao avaliar a ação conjunta da fitase e xilanase na dieta de poedeiras alimentadas com rações a base de milho e farelo de soja sobre o coeficiente de digestibilidade dos minerais da ração, ausência de efeito significativo para a combinação enzimática. Além disso, a suplementação das enzimas possibilitou aumento numérico para o coeficiente de digestibilidade do cálcio (5,70%), fósforo (36,6%) e magnésio (65,10%), sendo que tal acréscimo foi superior aos valores obtidos no estudo em voga.

Tal fato pode ser associado com a inespecificidade do grupo de carboidrases ao tipo de substrato, cuja natureza da fração dos polissacarídeos não amiláceos da torta de girassol é composta pela fração insolúvel, aproximadamente 85%, representados por ramnose, arabinose, xilose, manose galactose, glicose e ácido urônico, segundo demonstrado por Rostagno *et al.* (2017), ao passo que as carboidrases utilizadas no estudo foram compostas por α -galactosidase, xilanase e β -glucanase.

A melhora nos coeficientes de digestibilidade do cálcio, fósforo e magnésio da dieta por meio da suplementação de enzimas exógenas contribui com a redução da inclusão de fontes de minerais nas formulações. Além disso, o organismo animal pode se beneficiar da maior quantidade desses minerais disponíveis para diversas funções orgânicas nas quais são demandados, tanto na homeostase do tecido ósseo quanto na participação no estímulo do sistema nervoso, contração muscular, coagulação sanguínea, calcificação da casca do ovo e regulação das secreções hormonais (MATOS, 2008).

Não ocorreu a interação significativa ($P>0,05$) entre o nível de torta de girassol e a opção uso do complexo multienzimático, assim como não houve efeito significativo na comparação entre o tratamento controle e as rações com a inclusão de torta de girassol, suplementada ou não, com complexo multienzimático (Tabela 20). Não foram constatadas também diferenças estatísticas na comparação do fator nível de torta de girassol (12 e 24%), bem como entre a ausência e presença do complexo multienzimático nas rações com torta de girassol.

Por isso, mesmo que o uso das enzimas exógenas tenha resultado em melhora no coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio, fósforo e magnésio, isso não refletiu em maior taxa de mineralização óssea no tratamento com presença de complexo multienzimático.

A ação da suplementação enzimática contribuiu com a manutenção da mineralização óssea da tíbia de frangas alimentadas com dietas contendo torta de girassol com níveis nutricionais reduzidos, visto que os resultados não diferiram do tratamento controle. No entanto, Kim *et al.* (2018) comprovaram, ao avaliar a adição da enzima fitase na ração de frangos de corte contendo farelo de girassol, que a presença da fitase proporcionou maior conteúdo de cinzas na tíbia das aves.

Francesch & Geraert, (2009) também verificaram aumento das concentrações de cálcio, fósforo e cinza da tíbia de frangos de corte com dietas a base de milho e farelo de soja com níveis nutricionais reduzidos e suplementada com carboidrases e fitase.

Considerando que os resultados do tratamento controle representam a condição nutricional referencial no tocante ao atendimento adequado da demanda de minerais para as frangas, e que as rações com os níveis de 12 e 24% de torta de girassol sem a suplementação enzimática resultaram em pequenas alterações nos coeficientes de digestibilidade aparente dos minerais (Tabela 19), é possível afirmar que o incremento de fibra presente na torta de girassol, conforme Tabela 8, e valores do fósforo fítico (0,88%) (MILLER; PRETORIUS; DU TOIT, 1986) em relação aos encontrados no milho e farelo de soja (ROSTAGNO *et al.*, 2017), não compromete o atendimento das exigências de minerais para a formação do tecido ósseo das aves durante a fase de crescimento, garantido mineralização óssea adequada.

Tabela 20 - Composição mineral óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	MS ¹ (%)	MM ² (%)	Cálcio (g/kg)	Fósforo (g/kg)	Magnésio (g/kg)
0% TG ³	48,15	56,96	240,82	102,63	3,44
12% TG	47,26	56,79	249,53	103,91	3,35
24% TG	46,23	56,50	256,68	108,50	3,59
12% TG+CME ⁴	46,93	57,41	247,82	99,37	3,70
24% TG+CME	44,62	57,95	235,99	98,88	3,52
Média	46,64	57,12	246,17	102,66	3,52
CV ⁵ (%)	10,03	2,51	12,04	12,24	10,89
ANOVA ⁶			<i>p-valor</i>		
Rações	0,8065	0,5487	0,8305	0,7489	0,6466
Nível					
12%	47,10	57,10	248,68	101,64	3,52
24%	45,43	57,22	246,33	103,69	3,55
Enzimas					
Ausência	46,75	56,68	253,11	106,21	3,47
Presença	45,77	57,68	241,91	99,12	3,61
ANOVA			<i>p-valor</i>		
Nível	0,4463	0,8296	0,8587	0,7181	0,8805
Enzimas	0,6550	0,0733	0,4003	0,2217	0,4230
Nível X Enzimas	0,7674	0,4539	0,4747	0,6549	0,2268

¹MS = Matéria Seca; ²MM = Matéria Mineral; ³TG = Torta de Girassol; ⁴CME = Complexos Multienzimático; ⁵CV = Coeficiente de Variação; ⁶ANOVA = Análise de variância (p<0,05).

Na avaliação da qualidade óssea das frangas na 12^a e 17^a semanas de idade, alimentadas com torta de girassol com ou sem suplementação de complexo multienzimático, observou-se que não aconteceu interação significativa entre os fatores testados para nenhuma das variáveis (Tabela 21). Não aconteceu também o efeito esperado para o nível de torta de girassol na ração, bem como para presença e ausência do complexo multienzimático.

Considerando que a pesquisa foi conduzida na faixa de idade das aves em que a estrutura óssea se encontra em formação e que os minerais oriundos da alimentação são direcionados para a mineralização do tecido ósseo, inicialmente hipotetizou-se que a ação negativa do aumento da fração fibrosa e a quantidade de fitato da ração com adição de torta de girassol reduzissem a disponibilidade de minerais e, assim, influenciassem o desenvolvimento ou qualidade dos ossos, conforme relatado por Scheideler, Jaroni e Puthongsiripron, (1998), quando verificaram que a adição de alimentos fibrosos na ração de frangas resultou em menor digestibilidade do cálcio e fósforo da ração, o que poderia comprometer a integridade óssea.

Os resultados obtidos por meio da pesquisa proposta são semelhantes aos relatados por Cruz *et al.* (2012), quando identificaram que o nível de 18,5% de fibra em detergente neutro na ração não influenciou o crescimento e a qualidade dos ossos de frangas.

Ao aplicar os valores de contribuição nutricional e energética da matriz enzimática na formulação das rações, ocorreu a redução das quantidades de milho e farelo de soja, o que pode representar uma alternativa para diminuir a dependência desses dois ingredientes, sem que houvesse comprometimento dos parâmetros de resistência e deformidade óssea, uma vez que foram mantidos ao longo do período de criação, garantindo a integridade óssea durante o estágio de crescimento das aves alimentadas com dietas contendo 12 e 24% de TG com suplementação multienzimática.

Tabela 21 - Parâmetros de qualidade óssea de frangas de reposição semipesadas alimentadas com rações contendo torta de girassol e suplementadas com complexo multienzimático

Rações	Peso (g)	Comprimento (mm)	Circunferência (mm)	Índice de Seedor (mg/mm)	Deformidade (mm)	Resistência (kgf/cm ²)
Tíbia						
0% TG ¹	7,07	120,22	8,38	58,74	2,77	14,34
12% TG	6,99	118,91	8,53	58,85	2,80	13,82
24% TG	7,14	119,07	8,37	59,88	3,35	15,23
12% TG+CME ²	6,68	117,18	8,24	56,97	3,05	14,31
24% TG + CME	7,39	117,62	8,51	62,77	2,94	14,40
Média	7,05	118,60	8,41	59,44	2,98	14,42
CV ³ (%)	10,60	2,72	4,71	9,93	17,35	19,94
ANOVA ⁴	<i>p-valor</i>					
Rações	0,4194	0,6170	0,2051	0,3572	0,7033	0,5650
Nível						
12%	6,84	118,04	8,38	57,91	2,92	14,06
24%	7,26	118,34	8,44	61,32	3,15	14,82
Enzimas						
Ausência	7,06	118,99	8,45	59,37	3,08	14,52
Presença	7,04	117,40	8,37	59,87	3,00	14,36
ANOVA	<i>p-valor</i>					
Nível	0,1873	0,8388	0,7087	0,1867	0,3340	0,5120
Enzimas	0,9328	0,2840	0,6417	0,8421	0,7394	0,8848
Nível X Enzimas	0,3808	0,9260	0,1971	0,3509	0,1600	0,5680

¹TG = Torta de Girassol; ²CME=Complexo multienzimático; ³CV=Coefficiente de Variação; ⁴ANOVA = Análise de Variância (p<0,05); *Difere do tratamento 0% de TG pelo teste de Dunnett; Na coluna, médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de F(5%).

5 CONCLUSÃO

A inclusão de até 25 e 30% de torta de girassol na ração para frangas leves e semipesadas, respectivamente, não compromete o aproveitamento dos minerais (Ca, P e Mg) da ração e a mineralização e qualidade óssea.

A suplementação multienzimática de rações contendo até 20 e 24% de torta de girassol para frangas leves e semipesadas, respectivamente, aumenta a digestibilidade dos minerais, garantindo a composição e a qualidade óssea.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A. G.; BESHARA, M. M.; IBRAHIM, A. F. Effect of different levels and sources of dietary fiber on productive and economical performance in local laying hens 1- during growing period and subsequent laying performance. **Egyptian Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 35, n. 1, 2015.
- ADEOLA, O. *et al.* Contribution of exogenous dietary carbohydrases to the metabolizable energy value of corn distillers grains for broiler chickens. **Poultry Science**, [s.l.], v. 89, n. 9, p. 1947-1954, 2010.
- ADEOLA, O.; COWIESON, A. J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. **Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 89, n. 10, p. 3189-3218, 2011.
- ALAGAWANY, M.; ELNESR, S.H S.; FARAG, M. R. The role of exogenous enzymes in promoting growth and improving nutrient digestibility in poultry. **Iranian Journal of Veterinary Research**, [s.l.], v. 19, n. 3, p. 157, 2018.
- ALLEN, M. J. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. **Veterinary Clinical Pathology**, [s.l.], v. 32, n. 3, p. 101-113, 2003.
- ANDERSON, H. C. Matrix vesicles and calcification. **Current Rheumatology Reports**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 222-226, 2003.
- ANDERSON, K. E. *et al.* Changes in commercial laying stock performance, 1958-2011: thirty-seven flocks of the North Carolina random sample and subsequent layer performance and management tests. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], 69, n. 3, p. 489-514, 2013.
- AOAC-Association of official analytical chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International 18. ed, Gaithersburg, Maryland, USA, v. 45, p. 1298, 2005.
- ARAÚJO, W. A. G. *et al.* Sunflower meal and supplementation of an enzyme complex in layer diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. 363-370, 2015.
- ARRUDA, A. M. V.; FERNANDES, R. T. V. Energetic value of forages from semi-arid region and digestibility of rations for naked neck pullets. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, p. 232-238, 2014.
- AVOLIO, G. *et al.* O papel da vitamina D3 e da osteocalcina no metabolismo ósseo: uma análise necessária para se otimizar a osseointegração **Revista do Instituto de Ciências da Saúde (UNIP)**, [s.l.], v. 26, p. 347-350, 2008.
- BAIN, M. M.; NYS, Y.; DUNN, I. C. Increasing persistency in lay and stabilising egg quality in longer laying cycles. What are the challenges? **British Poultry Science**, [s.l.], v. 57, n. 3, p. 330-338, 2016.
- BAO, Y. M.; ROMERO, L. F.; COWIESON, A. J. Functional patterns of exogenous enzymes in different feed ingredients. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 69, n. 4, p. 759-774, 2013.

BARBOSA, N. A. A. *et al.* Enzimas exógenas em dietas de frangos de corte: desempenho. **Ciência Rural**, [s.l.], p. 1497-1502, 2012.

BARBOSA, N. A. A. *et al.* Enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade ileal de nutrientes em frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 43, n. 6, p. 755-762, 2008.

BAYE, K.; GUYOT, J.; MOUQUET-RIVIER, C. The unresolved role of dietary fibers on mineral absorption. **Critical reviews in food science and nutrition**, [s.l.], v. 57, n. 5, p. 949-957, 2017.

BECK, M. M.; HANSEN, K. K. Role of estrogen in avian osteoporosis. **Poultry Science**, [s.l.], v. 83, n. 2, p. 200-206, 2004.

BERAN, F. H. B. *et al.* Avaliação da digestibilidade de nutrientes, em bovinos, de alguns alimentos concentrados pela técnica de três estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], p. 130-137, 2007.

BERNARD, B. *et al.* Influence of calcium depletion on medullary bone of laying hens. **Calcified Tissue International**, [s.l.], v. 32, n. 1, p. 221-228, 1980.

BERNARDINO, V. M. P. Influência dos lipídeos da dieta sobre o desenvolvimento ósseo de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, [s.l.], v. 6, n. 3, p. 960-966, 2009.

BERWANGER, E. *et al.* Nutritional and energy values of sunflower cake for broilers. **Semina: ciências agrárias**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 3429-3438, 2014.

BERWANGER, E. *et al.* Sunflower cake with or without enzymatic complex for broiler chickens feeding. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [s.l.], v. 30, n. 3, p. 410, 2017.

BILAL, M. *et al.* Significant effect of NSP-ase enzyme supplementation in sunflower meal-based diet on the growth and nutrient digestibility in broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 101, n. 2, p. 222-228, 2017.

BRASIL. Congresso Nacional. **Projeto de Lei do Congresso Nacional nº**, de 2014. Dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, e 8.723, de 28 de outubro de 1993; revoga dispositivos da Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005; e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2014/Lei/L13033.htm. Acesso em: 02 abr. 2019.

BRAZ, N. *et al.* Fibra na ração de crescimento e seus efeitos no desempenho de poedeiras nas fases de crescimento e postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 40, n. 12, p. 2744-2753, 2011.

BRUNO, L.G.D. **Desenvolvimento ósseo em frangos de corte: influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente**. 2002, Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

CANDELOTTO, L. *et al.* Susceptibility to keel bone fractures in laying hens and the role of genetic variation. **Poultry Science**, [s.l.], v. 96, n. 10, p. 3517-3528, 2017.

- CAPULLI, M.; PAONE, R.; RUCCI, N. Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s.l.], v. 561, p. 3-12, 2014.
- CASTRO, A. M.; CASTILHO, R. L.; FREIRE, D. M. G. Characterization of babassu, canola, castor seed and sunflower residual cakes for use as raw materials for fermentation processes. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 83, p. 140-148, 2016.
- CEYLAN, M. E.; CUFADAR, Y. Effect of Enzyme Supplementation to Laying Hens Diets Containing Different Levels of Sunflower Seed Meal on Performance and Egg Quality. **Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**, [s.l.], v. 32, n. 3, p. 402-406, 2018.
- CHOCT, M. Enzymes for the feed industry: past, present and future. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 62, n. 1, p. 5-16, 2006.
- CHOCT, M. Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: classification and function. **Animal Production Science**, [s.l.], v. 55, n. 12, p. 1360-1366, 2015.
- CLUNIES, M.; EMSLIE, J.; LEESON, S. Effect of dietary calcium level on medullary bone calcium reserves and shell weight of leghorn hens. **Poultry Science**, [s.l.], v. 71, n. 8, p. 1348-1356, 1992.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Brasília, v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/uploads/arquivos/17_12_12_09_15_51_dezembro.pdf. Acesso em: 09 jul. 2018.
- COMPTON, J T.; LEE, F. Y. A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, [s.l.], v. 96, n. 19, p. 1659-1668, 2014.
- CORREIA, I. M. S. Extração e caracterização do óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) utilizando o método de prensagem a frio e extração por solventes. In: XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ, 2010, Foz do Iguaçu. **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2010. p. 2402-2407.
- COWIESON, A. J. *et al.* Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 65, n. 3, p. 401-418, 2009.
- COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Carbohydrases, protease, and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**, [s.l.], v. 84, n. 12, p. 1860-1867, 2005.
- CRESPO, R; SHIVAPRASAD, H. L. Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. **Diseases of Poultry**, [s.l.], p. 1233-1270, 2013.
- CRUZ, C. E. B. *et al.* Bone quality of laying hens fed different levels of fiber in the growth phase (7 to 17 weeks of age). **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 41, n. 9, p. 2032-2038, 2012.
- D`AGOSTINI, P. *et al.* Exigência de metionina + cistina para frangas de reposição na fase inicial (1 a 6 semanas de idade). **Ciência Animal Brasileira**, [s.l.], v.18, p. 1-12, 2017.

DACKE, C. G. *et al.* Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, [s.l.], v. 184, n. 1, p. 63-88, 1993.

DALCHIAVON, F. C. *et al.* Características agronômicas e suas correlações em híbridos de girassol adaptados à segunda safra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 51, n. 11, p. 1806-1812, 2016.

DERSJANT-LI, Y. *et al.* Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 95, n. 5, p. 878-896, 2015.

DERSJANT-LI, Y.; EVANS, C.; KUMAR, A. Effect of phytase dose and reduction in dietary calcium on performance, nutrient digestibility, bone ash and mineralization in broilers fed corn-soybean meal-based diets with reduced nutrient density. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 242, p. 95-110, 2018.

DOUBE, Michael *et al.* Trabecular bone scales allometrically in mammals and birds. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 288, n. 1721, p. 3067-3073, 2011.

EDELSTEIN, S. *et al.* The functional metabolism of vitamin D in chicks fed low-calcium and low-phosphorus diets. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, [s.l.], v. 385, n. 2, p. 438-442, 1975.

EECKHOUT, W.; PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 47, n. 1-2, p. 19-29, 1994.

EUSEBIO-BALCAZAR, P. E. *et al.* Limestone particle size fed to pullets influences subsequent bone integrity of hens. **Poultry Science**, [s.l.], v. 97, n. 5, p. 1471-1483, 2018.

FAO. **Food Outlook**: Biannual Report on Global Food Markets. 2017. 150 p. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-I8080e.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2018.

FEDNA, **Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos**. 3a ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. 502 p, 2010.

FERNANDES, J. I. M. *et al.* Effect of vitamin K on bone integrity and eggshell quality of white hen at the final phase of the laying cycle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 38, n. 3, p. 488-492, 2009.

FERNANDES, R. T. V. *et al.* Grão de girassol e seus subprodutos: potenciais fontes proteicas para alimentação de aves. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l.], v. 8, n. 5, p. 40-46, 2014.

FERREIRA, A. M. *et al.* Collagen for bone tissue regeneration. **Acta biomaterialia**, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 3191-3200, 2012.

FRANCESCH, M.; GERAERT, P. A. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. **Poultry Science**, [s.l.], v. 88, n. 9, p. 1915-1924, 2009.

- FRATZL, P. Cellulose and collagen: from fibres to tissues. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 32-39, 2003.
- FREITAS, E. R. *et al.* Fiber level for laying hens during the growing phase. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 38, n. 2, p. 188-198, 2014.
- GALLINGER, C. I.; SUÁREZ, D. M.; IRAZUSTA, A. Effects of rice bran inclusion on performance and bone mineralization in broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 183-190, 2004.
- GELSE, K.; PÖSCHL, E.; AIGNER, T. Collagens — structure, function, and biosynthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 55, n. 12, p. 1531-1546, 2003.
- GENEAU-SBARTAÏ, C. *et al.* Sunflower cake as a natural composite: composition and plastic properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 56, n. 23, p. 11198-11208, 2008.
- GUSMÃO, C. V. B.; BELANGERO, W. D. Como a célula óssea reconhece o estímulo mecânico? **Revista Brasileira de Ortopedia**, [s.l.], v. 44, n. 4, p. 299-305, 2009.
- GUZMÁN, P. *et al.* Inclusion of fiber in diets for brown-egg laying pullets: effects on growth performance and digestive tract traits from hatching to 17 weeks of age. **Poultry Science**, [s.l.], v. 94, n. 11, p. 2722-2733, 2015.
- HABTE-TSION, H. M.; KUMAR, V. Nonstarch polysaccharide enzymes—general aspects. **Enzymes in Human and Animal Nutrition**, [s.l.], p. 183-209, 2018.
- HADJIDAKIS, D. J.; ANDROULAKIS, I. I. Bone remodeling. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s.l.], v. 1092, n. 1, p. 385-396, 2006.
- HELL, R. C. R. *et al.* Efeito da triiodotironina na expressão das proteínas ósseas durante a diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, [s.l.], v. 55, p. 339-44, 2011.
- HERDON, D. N.; HAYWARD, P.; G.; RUTAN, R.; L. Growth hormones and factors in surgical patients. **Advantage in Surgery**, [s.l.], v. 25, p. 65-97, 1992.
- HETLAND, H.; CHOCT, M.; SVIHUS, B. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 60, n. 4, p. 415-422, 2004.
- HUMER, E.; SCHWARZ, C.; SCHEDLE, K. Phytate in pig and poultry nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 99, n. 4, p. 605-625, 2015.
- INGRAM, R. T. *et al.* Distribution of noncollagenous proteins in the matrix of adult human bone: evidence of anatomic and functional heterogeneity. **Journal of Bone and Mineral Research**, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 1019-1029, 1993.
- JOHNSON, A. L. Reproduction in the female. In: **Sturkie's Avian Physiology**. [s.l.]: Academic Press, 2015.

- JONES, G. P. D.; TAYLOR, R. D. The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets: production and physiological responses. **British Poultry Science**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 477-483, 2001.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: Histologia básica. 12 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara-Koogan**, 2013. cap. 8, p. 132-148.
- KALMENDAL, R. *et al.* High-fibre sunflower cake affects small intestinal digestion and health in broiler chickens. **British Poultry Science**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 86-96, 2011.
- KARGOPOULOS, A. *et al.* Use of Sunflower Cake in the Diet of ISA Brown Pullets. **Journal of Agricultural Science and Technology**, [s.l.], v. 7, p. 129-134, 2017.
- KASIM, A. B.; EDWARDS JR, H. M. The analysis for inositol phosphate forms in feed ingredients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 76, n. 1, p. 1-9, 1998.
- KEBREAB, E. *et al.* Development and evaluation of a dynamic model of calcium and phosphorus flows in layers. **Poultry Science**, [s.l.], v. 88, n. 3, p. 680-689, 2009.
- KERSCHNITZKI, M. *et al.* Rapid alterations of avian medullary bone material during the daily egg-laying cycle. **Bone**, [s.l.], v. 69, p. 109-117, 2014.
- KIARIE, E.; ROMERO, L. F.; NYACHOTI, C. M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. **Nutrition Research Reviews**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 71-88, 2013.
- KIES, A. K. *et al.* Interaction between protein, phytate, and microbial phytase. In vitro studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 5, p. 1753-1758, 2006.
- KIM, J. W. *et al.* Relative bioavailability of phosphorus in high-protein sunflower meal for broiler chickens and effects of dietary phytase supplementation on bone traits, growth performance, and apparent ileal digestibility of nutrients. **Poultry science**, [s.l.], v. 98, n. 1, p. 298-305, 2018.
- KIM, W. K. *et al.* Comparative assessment of bone among wild-type, restricted ovulator and out-of-production hens. **British Poultry Science**, [s.l.], v. 45, n. 4, p. 463-470, 2004.
- KIM, W. K. *et al.* Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 68, n. 1, p. 71-82, 2012.
- KORVER, D. R.; SAUNDERS-BLADES, J. L.; NADEAU, K. L. Assessing bone mineral density in vivo: Quantitative computed tomography. **Poultry Science**, [s.l.], v. 83, n. 2, p. 222-229, 2004.
- KUMAR, V. *et al.* Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s.l.], v. 96, n. 3, p. 335-364, 2012.
- KUSHWAHA, P.; WOLFGANG, M. J.; RIDDLE, R. C. Fatty acid metabolism by the osteoblast. **Bone**, [s.l.], v. 115, p. 8-14, 2018.

KWAKKEL, R. P.; DUCRO, B. J.; KOOPS, W. J. Multiphasic analysis of growth of the body and its chemical components in White Leghorn pullets. **Poultry Science**, [s.l.], v. 72, n. 8, p. 1421-1432, 1993.

LANYON, L. E. Analysis of surface bone strain in the calcaneus of sheep during normal locomotion: strain analysis of the calcaneus. **Journal of Biomechanics**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 41-42, 1973.

LATORRE, J. D. *et al.* Evaluation of a Bacillus direct-fed microbial candidate on digesta viscosity, bacterial translocation, microbiota composition and bone mineralisation in broiler chickens fed on a rye-based diet. **British Poultry Science**, [s.l.], v. 56, n. 6, p. 723-732, 2015.

LEE, A. J.; HODGES, S.; EASTELL, R. Measurement of osteocalcin. **Annals of Clinical Biochemistry**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 432-446, 2000.

LEESON, S.; SUMMERS, D. J. **Commercial Poultry Nutrition**. 3ed. Ontario: University Books, 2005.

LENTLE, R. G.; JANSSEN, P. W. M. Physical characteristics of digesta and their influence on flow and mixing in the mammalian intestine: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, [s.l.], v. 178, n. 6, p. 673-690, 2008.

LI, Q. *et al.* Letrozole induced low estrogen levels affected the expressions of duodenal and renal calcium-processing gene in laying hens. **General and Comparative Endocrinology**, [s.l.], v. 255, p. 49-55, 2018.

LI, X.; ZHANG, D.; BRYDEN, W. L. Calcium and phosphorus metabolism and nutrition of poultry: are current diets formulated in excess?. **Animal Production Science**, [s.l.] v. 57, n. 11, p. 2304-2310, 2017.

LIBAO-MERCADO, A. J. O. *et al.* Dietary and endogenous amino acids are the main contributors to microbial protein in the upper gut of normally nourished pigs. **The Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 139, n. 6, p. 1088-1094, 2009.

LOMASCOLO, A. *et al.* Rapeseed and sunflower meal: a review on biotechnology status and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 95, n. 5, p. 1105-1114, 2012.

LOTT, J. N. A *et al.* Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. **Seed Science Research**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 11-33, 2000.

MACKIE, E. J. *et al.* Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 46-62, 2008.

MACKIE, E. J.; TATARCZUCH, L.; MIRAMS, M. The skeleton: a multi-functional complex organ: the growth plate chondrocyte and endochondral ossification. **Journal of Endocrinology**, [s.l.], v. 40, p. 109-121, 2011.

MANTOVANI, C. *et al.* Composição química e valor energético do farelo e da semente de girassol para frangos de corte. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s.l.], v. 22, p. 745-749, 2000.

- MATEOS, G. G. *et al.* Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. **Journal of Applied Poultry Research**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 156-174, 2012.
- MATOS, R.; Calcium metabolism in birds. **Veterinary clinics of North America: exotic animal practice**, [s.l.], v. 11, n. 1, p. 59-82, 2008.
- MAZZUCO, H. Boas Práticas na Recria de Frangas Comerciais. Produção Animal - Avicultura, Suplem. da **Revista Avisite**, p. 10 - 15, 12 nov. 2011. Disponível em: http://www.avisite.com.br/revistadoovo/pdfs/revistaovo_edicao02.pdf. Acesso em: 23 de fev. 2018.
- METZLER-ZEBELI, B. U. *et al.* Dietary supplementation of viscous and fermentable non-starch polysaccharides (NSP) modulates microbial fermentation in pigs. **Livestock Science**, [s.l.], v. 133, n. 1-3, p. 95-97, 2010.
- MILLER, N.; PRETORIUS, H. E.; DU TOIT, L. J. Phytic acid in sunflower seeds, pressed cake and protein concentrate. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 21, n. 3, p. 205-209, 1986.
- MONTAGNE, L.; PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 108, n. 1-4, p. 95-117, 2003.
- MONTENEGRO T. P. *et al.* Otimização da prensagem a frio de grãos de amendoim em prensa contínua tipo expeller. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 28, n. 1, 2008.
- MORETTI, C. S. Pontos críticos na recria e produção de poedeiras comerciais. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola**. Santos: FACTA, 1992. p. 129-36.
- NASCIMENTO, F. A.; CAVALCANTI, L. A. P. Protótipo de um Reator de Biodiesel Sustentável Alimentado Energeticamente por Energia Solar. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, [s.l.], v. 6, n. 4, 2017.
- NASR, M. A. F. *et al.* The effect of keel fractures on egg-production parameters, mobility and behaviour in individual laying hens. **Animal Welfare-The UFAW Journal**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 127, 2012.
- NIELSEN, H. K. Circadian and circatrigintan changes in osteoblastic activity assessed by serum osteocalcin. Physiological and methodological aspects. **Danish Medical Bulletin**, [s.l.], v. 41, n. 2, p. 216-227, 1994.
- NORTEY, T. N. *et al.* Effects of xylanase supplementation on the apparent digestibility and digestible content of energy, amino acids, phosphorus, and calcium in wheat and wheat by-products from dry milling fed to grower pigs. **Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 86, n. 12, p. 3450-3464, 2008.
- NUNES, J. K. *et al.* Qualidade de ovos e resistência óssea de poedeiras alimentadas com minerais orgânicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 65, n. 2, p. 610-618, 2013.
- O'NEILL, H. V. M.; SMITH, J. A.; BEDFORD, M. R. Multicarbohidrase enzymes for non-

- ruminants. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 290, 2014.
- OLGUN, O.; AYGUN, A. Nutritional factors affecting the breaking strength of bone in laying hens. **World's Poultry Science Journal**, [s.l.], v. 72, n. 4, p. 821-832, 2016.
- OLIVEIRA, T. M. M. *et al.* Farelo de girassol para aves: composição química e alterações metodológicas na determinação dos valores energéticos e de aminoácidos digestíveis. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 35, n. 6, 2014.
- OLUKOSI, O. A.; COWIESON, A. J.; ADEOLA, O. Age-related influence of a cocktail of xylanase, amylase, and protease or phytase individually or in combination in broilers. **Poultry science**, [s.l.], v. 86, n. 1, p. 77, 2007.
- PAVAN, A. C. *et al.* Efeito da densidade na gaiola sobre o desempenho de poedeiras comerciais nas fases de cria, recria e produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], p. 1320-1328, 2005.
- PEREIRA, E. S. *et al.* Torta de girassol em rações de vacas em lactação: produção microbiana, produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s.l.], v. 33, n. 4, p. 387-394, 2011.
- PIGHINELLI, A. L. M. T. *et al.* Otimização da prensagem de grãos de girassol e sua caracterização. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], 2009.
- PINHEIRO, J. *et al.* Torta de girassol na alimentação de poedeiras semipesadas. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 34, n. 2, 2013.
- PIZZOLANTE, C. C. *et al.* Limestone and oyster shell for brown layers in their second egg production cycle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 13, n. 2, p. 103-111, 2011.
- QAISRANI, S. N. *et al.* Protein source and dietary structure influence growth performance, gut morphology, and hindgut fermentation characteristics in broilers. **Poultry Science**, [s.l.], v. 93, n. 12, p. 3053-3064, 2014.
- QWELE, K. *et al.* Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. **Meat Science**, [s.l.], v. 93, n. 3, p. 455-462, 2013.
- RABONATO, L. C. **Otimização tecnológica do processamento de grãos de girassol alto oleico para a obtenção de óleo e biodiesel**. 2017, (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 2017.
- REZAEI, M.; HAFEZIAN, H. Use of different levels of high fiber sunflower meal in commercial leghorn type layer diets. **International Journal of Poultry Science**, [s.l.], v. 6, n. 6, p. 431-433, 2007.
- RIBER, A. B.; HERSKIN, M. S.; CASEY-TROTT, T. M. The influence of keel bone damage on welfare of laying hens. **Frontiers in Veterinary Science**, [s.l.], v. 5, p. 6, 2018.
- RODRIGUES, E. A. *et al.* Calcium in pre-laying and laying rations on the performance and quality of laying hens' eggshell. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, [s.l.], v. 35, n. 2, p. 153-157, 2013.

- RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B. *et al.* Influence of physical activity on tibial bone material properties in laying hens. **Journal of Structural Biology**, [s.l.], v. 201, n. 1, p. 36-45, 2018.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- SAKOMURA, N. K. *et al.* Avaliação de equações de predição de exigências energéticas na alimentação de frangas de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 22, n. 4 p. 575-584, 2004.
- SAKOMURA, N. K. Exigências nutricionais das aves utilizando o método fatorial. In: Simpósio Internacional sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos, 1996, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996, 1996. P. 319-44.
- SAN JUAN, L. D.; VILLAMIDE, M. J. Nutritional evaluation of sunflower products for poultry as affected by the oil extraction process. **Poultry Science**, [s.l.], v. 80, n. 4, p. 431-437, 2001.
- SANDILANDS, V.; MOINARD, C.; SPARKS, N. H. C. Providing laying hens with perches: fulfilling behavioural needs but causing injury? **British Poultry Science**, [s.l.], v. 50, n. 4, p. 395-406, 2009.
- SANTOS, A. L. *et al.* Growth and Body Composition of Laying Hens under Different Feeding Programs up to 72 Weeks. **Journal of Animal Science and Research**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 1-6, 2017.
- SCHARLACK, N. K.; ARACAVALA, K. K.; RODRIGUES, C. E. C. Effect of the type and level of hydration of alcoholic solvents on the simultaneous extraction of oil and chlorogenic acids from sunflower seed press cake. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 97, n. 13, p. 4612-4620, 2017.
- SCHEIDELER, S. E.; JARONI, D.; PUTHPONGSIRIPRON, U. Strain, fiber source, and enzyme supplementation effects on pullet growth, nutrient utilization, gut morphology, and subsequent layer performance. **Journal of Applied Poultry Research**, [s.l.], v. 7, n. 4, p. 359-371, 1998.
- SCHREIWEIS, M. A. *et al.* The use of densitometry to detect differences in bone mineral density and content of live White Leghorns fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, [s.l.], v. 82, n. 8, p. 1292-1301, 2003.
- 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**, [s.l.], v. 6, n. 4, p. 339-346, 1991.
- SELLE, P. H. *et al.* Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. **Nutrition Research Reviews**, [s.l.], v. 25, n. 1, p. 1-17, 2012.
- SELLE, P. H.; COWIESON, A. J.; RAVINDRAN, V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. **Livestock Science**, [s.l.], v. 124, n. 1-3, p. 126-141, 2009.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 135, n. 1-2, p. 1-41, 2007.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. **Livestock Science**, [s.l.], v. 113, n. 2-3, p. 99-122, 2008.

SENKOYLU, N.; DALE, N. Nutritional evaluation of a high-oil sunflower meal in broiler starter diets. **Journal of Applied Poultry Research**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 40-47, 2006.

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**, [s.l.], v. 91, n. 8, p. 1790-1795, 2012.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2002.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

SIMSA, S.; ORNAN, E. M. Endochondral ossification process of the turkey (*Meleagris gallopavo*) during embryonic and juvenile development. **Poultry Science**, [s.l.], v. 86, n. 3, p. 565-571, 2007.

SINGH, K. K. *et al.* Influence of moisture content and cooking on screw pressing of crambe seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [s.l.], v. 79, n. 2, p. 165-170, 2002.

SINHA, A. K. *et al.* Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 127, n. 4, p. 1409-1426, 2011.

SLOMINSKI, B. A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. **Poultry Science**, [s.l.], v. 90, n. 9, p. 2013-2023, 2011.

SOYSA, N. S.; ALLES, N. Osteoclast function and bone-resorbing activity: an overview. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 476, n. 3, p. 115-120, 2016.

SWIATKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WLOSEK, A.; JOZEFIAK, D. Bone quality, selected blood variables and mineral retention in laying hens fed with different dietary concentrations and sources of calcium. **Livestock Science**, [s.l.], v. 181, p. 194-199, 2015.

TAVERNARI, F. C. *et al.* Inclusion of sunflower meal, with or without enzyme supplementation, in broiler diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 233-238, 2008.

TAYLOR, A. E. *et al.* The effects of phytase and xylanase supplementation on performance and egg quality in laying hens. **British poultry science**, [s.l.], v. 59, n. 5, p. 554-561, 2018.

TEIRLYNCK, E. *et al.* The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 102, n. 10, p. 1453-1461, 2009.

- TEITELBAUM, S. L. Bone resorption by osteoclasts. **Science**, [s.l.], v. 289, n. 5484, p. 1504-1508, 2000.
- TELLEZ, G. *et al.* Rye affects bacterial translocation, intestinal viscosity, microbiota composition and bone mineralization in turkey poults. **PLoS One**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 379-390, 2015.
- TRIFFITT, J. T. The special proteins of bone tissue. **Clinical Science**, [s.l.], v. 72, n. 4, p. 399-408, 1987.
- USDA. **World Agricultural Production**. 2018. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Acesso em: 08 jul. de 2018.
- VÄÄNÄNEN, K. Mechanism of osteoclast mediated bone resorption—rationale for the design of new therapeutics. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 57, n. 7, p. 959-971, 2005.
- VIEIRA, S. L.; STEFANELLO, C.; CEMIN, H. S. Lowering the dietary protein levels by the use of synthetic amino acids and the use of a mono component protease. **Animal Feed Science and Technology**, [s.l.], v. 221, p. 262-266, 2016.
- WAITITU, S. M. *et al.* Improvement of the nutritional value of high-protein sunflower meal for broiler chickens using multi-enzyme mixtures. **Poultry Science**, [s.l.], v. 97, n. 4, p. 1245-1252, 2018.
- WARREN, B. E.; FARRELL, D. J. The nutritive value of full-fat and defatted Australian rice bran. IV. Egg production of hens on diets with defatted rice bran. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 27, n. 3, p.259-268, 1990.
- WHITEHEAD, C. C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. **Poultry Science**, [s.l.], v. 83, n. 2, p. 193-199, 2004.
- WHITEHEAD, C. C.; FLEMING, R. H. Osteoporosis in cage layers. **Poultry Science**, [s.l.], v. 79, n. 7, p. 1033-1041, 2000.
- WOLF, G. Function of the bone protein osteocalcin: definitive evidence. **Nutrition Reviews**, [s.l.], v. 54, n. 10, p. 332-333, 1996.
- WOYENGO, T. A.; NYACHOTI, C. M. Supplementation of phytase and carbohydrases to diets for poultry. **Canadian Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 91, n. 2, p. 177-192, 2011.
- YOKHANA, J. S.; PARKINSON, G.; FRANKEL, T. L. Effect of insoluble fiber supplementation applied at different ages on digestive organ weight and digestive enzymes of layer-strain poultry. **Poultry Science**, [s.l.], v. 95, n. 3, p. 550-559, 2016.
- YU, S. *et al.* Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. **Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 90, n. 6, p. 1824-1832, 2012.
- ZAITSEVA, O. V.; SHANDRENKO, S. G.; VELIKY, M. M. Biochemical markers of bone collagen type I metabolism. **The Ukrainian Biochemical Journal**, [s.l.], v. 87, n 1, p. 21-32, 2015.