

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA**

DANIELA BENACHIO JABLONSKI

**FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE
CORTE**

Marechal Cândido Rondon

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA

DANIELA BENACHIO JABLONSKI

**FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE
CORTE**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Cinthia Eyng

Marechal Cândido Rondon

2021

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Jablonski, Daniela Benachio

Farinha de mexilhão dourado na alimentação de frangos de corte / Daniela Benachio Jablonski; orientador Ricardo Vianna Nunes; coorientadora Cinthia Eyng. -- Marechal Cândido Rondon, 2021.

67 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.

1. Avicultura. 2. Nutrição Animal. 3. Mexilhão Dourado. I. Nunes, Ricardo Vianna, orient. II. Eyng, Cinthia, coorient. III. Título.

DANIELA BENACHIO JABLONSKI

Farinha de mexilhão dourado na alimentação de frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestra em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes", APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador / Presidente - Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

Membro – Prof. Dr. Arele Arlindo Calderano
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Marechal Cândido Rondon, 15 de julho de 2021.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à **distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Daniela Benachio Jablonski**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 15/07/2021, com o trabalho intitulado **"Farinha de mexilhão dourado em diferentes granulometrias na alimentação de frangos de corte de 1 a 42 dias"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

O Título da Dissertação foi alterado para **"Farinha de mexilhão dourado na alimentação de frangos de corte"**

Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes - ORIENTADOR/PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Júnior**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Daniela Benachio Jablonski**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 15/07/2021, com o trabalho intitulado "**Farinha de mexilhão dourado na alimentação de frangos de corte**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
JOSE GERALDO DE VARGAS JUNIOR - SIAPE 1457341
Departamento de Zootecnia - DZ/CCAE
Em 15/07/2021 às 15:52

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/229066?tipoArquivo=O>



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE Mestrado REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Arele Arlindo Calderano**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Daniela Benachio Jablonski**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 15/07/2021, com o trabalho intitulado "**Farinha de mexilhão dourado em diferentes granulometrias na alimentação de frangos de corte**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Arele Arlindo Calderano
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

AGRADECIMENTOS

À Deus, e as oportunidades obtidas

Aos meus pais, Irineu e Vanice Jablonski e irmão Leonardo, pelo apoio, incentivo e por sempre estarem comigo em todas as decisões.

À minha avó Armelinda Benachio, por sempre me apoiar e incentivar nos meus estudos.

À Família Benachio e a Família Jablonski, pelo amor, carinho, apoio e incentivo.

Ao meu orientador, Professor Ricardo Vianna Nunes, pelo apoio, incentivo, ensinamentos e amizade com todos os seus alunos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade de formação em Mestre em Produção e Nutrição de Monogástricos, pelo ensino e estrutura fornecida para realização do experimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento da pesquisa.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação, Paulo Henrique Morsh, pela dedicação, informações e paciência com todos os acadêmicos.

A todos os colegas do grupo de pesquisa GEMADA: Lucas, Cleison, Jomara, André, Keli, Guilherme, Nathan, Cristine, Ana Paula, Giovana, Maira, Paola, Felipe, Tânia, Alessandra, Jheovana, Edinan, Nilton, Clauber, Emerson, por toda a ajuda proporcionada, momentos de descontrações e troca de conhecimento, em especial ao Edinan, Nilton e Emerson por me ajudar nos desafios diários ocorrido no experimento.

Em especial aos meus Amigos: Nathan, Cristine, Ana Paula, Giovana, Maira, Paola, Ida, Augusto, Alessandro, Leomar e Karla por todos os momentos juntos, tanto de ensinamento como de entretenimento.

E a todos que de alguma forma me incentivaram e me apoiaram para que este sonho pudesse se realizar.

Muito obrigada!!

FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Resumo – Objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias na alimentação de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, sobre desempenho, parâmetros ósseos, bioquímica sérica e expressão gênica. Foram utilizados 900 frangos de corte machos da linhagem Cobb[®] 500, de 1 a 42 dias de idades. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 10 repetições e 18 aves por unidade experimental (UE). Os tratamentos foram constituídos por uma ração controle (calcário calcítico); ração com FMD 299 µm; ração com FMD 375 µm; ração com FMD 436 µm e ração com FMD 551 µm. A FMD foi fornecida durante todo o período experimental. Aos 21 e 40 dias de idade, uma ave por UE, foram sacrificadas para coleta das pernas (direita e esquerda) para avaliação de peso ósseo, índice de Seedor, densitometria óssea, resistência óssea, matéria seca (MS), matéria mineral (MM), cálcio (Ca) e fósforo (P). Aos 40 dias de idade foi realizado coleta de sangue e eutanásia de uma ave por UE para coleta da porção do intestino delgado para análise de expressão gênica. Com 42 dias de idade, duas aves por UE foram sacrificadas para rendimento de carcaça e cortes. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e quando significativo utilizou-se a análise de regressão polinomial, para comparação teste de Dunnett. Aos 21 dias de idade, houve diferença significativa ($P < 0,05$) para os parâmetros de desempenho, ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA), sendo que, a utilização da granulometria 551 µm apresentou pior CA. Em relação aos parâmetros ósseos, para o índice de Seedor aos 21 dias em tíbias houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a granulometria 375 µm. Para MS e MM dos ossos houve diferença significativa ($P < 0,05$) aos 21 dias para fêmur nas granulometrias 299 µm e 375 µm apresentando maior teor, e nas tíbias aos 21 dias a granulometria de 299 µm apresentou diferença ($P < 0,05$) para MS, e para MM a granulometria 551 µm, aos 40 dias o uso do tratamento controle apresentou menor teor de MS, e a MM da granulometria 436 µm foi menor comparado com os outros tratamentos. Para Ca em fêmur aos 21 dias observou-se efeito ($P < 0,05$) para as granulometrias 299 µm, 436 µm e 551 µm onde foram inferiores ao tratamento controle, e para P aos 40 dias de idade, foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) para fêmur ocorrendo maior concentração na granulometria 375 µm e para tíbia em 299 µm comparado com o tratamento controle. A substituição do calcário calcítico por FMD em

diferentes granulometrias pode ser realizada em frangos de corte sem prejudicar seu desenvolvimento e desempenho no período de 1 a 42 dias.

Palavras-chave: desempenho, macrominerais, nutrição de aves, ossos.

GOLDEN MUSSEL FLOUR IN THE FEEDING OF BEARING CHICKENS

Abstract - The aim of this work was to evaluate the addition of golden mussel flour (GMF) in different granulometries in the feed of broiler chickens from 1 to 42 days of age, on performance, bone parameter, serum biochemistry, and gene expression. 900 male broilers of the Cobb® 500 lineage, from 1 to 42 days of age, were used. The birds were distributed in a completely randomized design, with 5 treatments, 10 replicates and 18 birds per experimental unit (EU). The treatments consisted of a control diet (limestone); ration with GMF 299 µm; ration with GMF 375 µm; ration with GMF 436 µm and ration with GMF 551 µm. GMF was provided throughout the experimental period (1 to 42 days of age). At 21 and 40 days of age, one bird per UE was sacrificed to collect the legs (right and left) to assess bone weight, Seedor index, bone densitometry, bone strength, dry matter (MS), mineral matter (MM), calcium (Ca), and phosphorus (P). At 40 days of age, blood was collected, and a bird sacrificed per EU to collect a portion of the small intestine for gene expression analysis. At 42 days of age, two birds per EU were sacrificed for carcass and cuts yield. The data obtained were subjected to analysis of variance and, when significant, regression analysis was used to compare Dunnett's test. At 21 days of age, the birds showed significant differences in performance parameters ($P<0.05$), body weight gain (GP), and feed conversion (CA), and the use of particle size 551 µm showed worse CA. For bone parameters, the Seedor index at 21 days in tibias showed a significant difference ($P<0.05$) for the 375 µm particle size. For MS and MM, the evaluated bones showed a significant difference ($P<0.05$), at 21 days for femurs in the 299 µm and 375 µm grain sizes, with higher content, and in the tibias at 21 days, the 299 µm grain size showed a difference ($P<0.05$) for MS, and for MM the particle size 551 µm, at 40 days the use of the control treatment presented lower MS content, and the MM of the particle size 436 µm was smaller compared to the other treatments. For Ca in femur at 21 days, there was an effect ($P<0.05$) for particle sizes 299 µm, 436 µm and 551 µm, where they were inferior to the control treatment, and for P at 40 days of age, a significant effect was observed ($P<0.05$) for the femur, with a higher concentration in the 375 µm particle size and for the tibia in 299 µm, compared to the control treatment. The replacement of calcitic limestone by GMF in different particle sizes can be carried out in broiler chickens without harming their development and performance in a period of 1 to 42 days.

Keywords: performance, microminerals, chicken nutrition, bones.

SUMÁRIO

1 Introdução	15
2 Revisão de literatura.....	17
2.1 Avicultura e ingrediente alternativos.....	17
2.2 Mexilhão dourado.....	19
2.3 Ca e P nos parâmetros ósseos.....	21
2.4 Influência da granulometria na digestibilidade e no desempenho de frangos de corte...	23
2.5 Farinha de mexilhão.....	26
2.6 Referências bibliográficas.....	28
3 FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO EM DIFERENTES GRANULOMETRIAS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS.....	37
3.1 Introdução.....	39
3.2 Material e métodos.....	40
3.2.1 Manejo e instalações.....	40
3.2.2 Dietas experimentais.....	41
3.2.3 Desempenho zootécnico.....	43
3.2.4 Órgãos e rendimento de carcaça e cortes.....	43
3.2.5 Análise óssea.....	43
3.2.6 Análise sanguíneas.....	45
3.2.7 Expressão gênica de transportadores intestinais.....	45
3.2.8 Análise estatística.....	46
4 Resultados.....	48
5 Discussão.....	56
6 Conclusão	61
7 Referências bibliográficas	62

1 INTRODUÇÃO

O setor avícola pode ser considerado um dos mais tecnificados e desenvolvidos da agropecuária mundial. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de carne de frango, com produção de 13,845 milhões de toneladas em 2020 (ABPA, 2021). Para que a indústria avícola consiga manter os baixos custos de produção, ao mesmo tempo em que fornece um produto de qualidade, é importante que os custos com alimentação sejam eficientemente controlados, já que esses podem representar mais de 60% do total da produção, fator que se torna relevante no produto acabado (RIBEIRO et al., 2020).

Por este motivo existe interesse contínuo na busca de alimentos que possam reduzir o custo das dietas, sem que ocorra comprometimento no desempenho animal. Dentre as características desejadas nos alimentos alternativos possíveis de serem utilizados na formulação de dietas, destacam-se o conhecimento perante a digestibilidade, disponibilidade, e avaliação da presença de fatores antinutricionais (HISANO et al., 2008).

Porém, para obter boa nutrição, os nutrientes e alimentos da dieta, a ser fornecidas aos animais, devem ser distribuídos em quantidades adequadas, incluindo-se os minerais, sendo eles de grande importância para as aves, pois participam de todos os processos bioquímicos corporais (BRITO et al., 2006). No que diz respeito aos minerais presente nos alimentos, esses são utilizados para manutenção esquelética, a depender da exigência de cada fase (PESSÔA et al., 2012). Dentre os macrominerais utilizados nas rações, destacam-se o cálcio (Ca) e o fósforo (P), com atuação principal na formação de hidroxiapatita a ser depositada no osso. Porém também possuem funções na contração muscular, nas atividades enzimáticas, na formação da casca do ovo, entre outras funções.

Entre as fontes de Ca disponíveis no mercado, a farinha de mexilhão dourado é alternativa viável tanto do ponto de vista econômico e nutricional, quanto ambiental, particularmente em regiões onde sua ocorrência é indesejada e sua aquisição é de baixo custo.

A utilização do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) como fonte de Ca na alimentação animal se baseia no seu baixo custo e no fato de que esse molusco bivalve, é uma espécie exótica invasora que ocasiona danos econômicos e ambientais (WACHHOLZ et al., 2017). Assim, sua utilização na indústria da alimentação animal, sanaria problemas ambientais, como redução ou obstrução da passagem de água em tubulações, canais e sistemas coletores de água, filtros, bombas e sistemas de refrigeração (MANSUR et al., 2003). Além disso, problemas como a contaminação e/ou poluição de água, por sua decomposição após morte também seriam diminuídos ou eliminados (MANSUR et al., 2012).

Esta fonte alternativa de Ca pode ser representada na forma inorgânica de origem marinha, sendo estas fontes renováveis e com biodisponibilidade para minimizar o custo e maximizar o desempenho animal (MELO et al., 2006). A biodisponibilidade do Ca dos ingredientes, pode variar de acordo com alguns fatores correlacionados a fonte e ao tamanho de partículas. Resultado em influência na digestibilidade, consumo de ração e digestão, e consequentemente no desempenho produtivo, possivelmente por alterar a anatomia do aparelho digestivo e das secreções digestivas (SILVA & PASCOAL, 2014).

A solubilidade referente ao tamanho da partícula utilizada nas dietas pode ter degradação variada no trato digestório, sendo que, as partículas finas possuem melhor eficiência fisiológica em relação às partículas mais grosseiras, no entanto, as aves tendem a selecionar e preferir partículas mais grosseiras, as quais tem uma permanência mais longa na moela e o trânsito intestinal mais lento (MUNIZ et al., 2007).

A hipótese do trabalho é que a utilização de diferentes granulometrias de farinha de mexilhão dourado, poderá interferir no desenvolvimento, desempenho, parâmetros sanguíneos, fisiológicos e qualidade óssea em aves de corte. E como e por que utilizar o mexilhão dourado na alimentação animal.

Portanto, objetiva-se avaliar a adição de farinha de mexilhão dourado em diferentes granulometrias, na alimentação de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, sobre desempenho, parâmetro ósseo, bioquímica sérica e expressão gênica.

2. REVISÃO

2.1 Avicultura e ingredientes alternativos

A necessidade de otimizar a produção agropecuária, com métodos sustentáveis, vem crescendo a cada dia, sendo fundamental para o Brasil pois este é um dos maiores produtores agropecuários (ABPA, 2020), o que gera reflexo no uso de matérias-primas para a produção de alimentos para as aves.

Como ingredientes principais da ração, o milho e o farelo de soja possuem alto valor nutricional, energético e proteico, respectivamente. Porém esses dois ingredientes também têm maior custo na alimentação das aves (CUNHA et al., 2006; AWACHAT et al., 2012; BRAH; ISSA; HOUNDONUGBO, 2017). Ainda assim, estudos que avaliam eficiência e desenvolvimento na produção de frangos de corte apontam que farinhas de origem animal são fundamentais para fornecimento de energia e nutrientes (proteínas e minerais), visando também grande aproveitamento de resíduos agroindustriais na produção animal (CUNHA et al., 2006; RUFINO et al., 2019).

As dietas de frangos geralmente possuem uma base fixa de ingredientes, porém somente esses alimentos não são suficientes para fornecer minerais em quantidade necessária para seu desempenho. Por isso, a inclusão de fontes minerais que contenham Ca e P são necessárias para um adequado desenvolvimento animal (BRADBURY et al., 2018).

A composição das dietas, geralmente apresenta o mineral Ca na forma de calcário calcítico, determinando sua exigência nutricional em cada formulação. Por fim outras formas de apresentação de Ca podem ser utilizadas, mas nem sempre são utilizadas pelos nutricionistas (BAYERLE et al., 2015).

Nesse contexto, são necessários estudos que proporcionem o aproveitamento de fontes nutricionais alternativas que possam substituir os ingredientes usualmente utilizados na produção de ração avícolas, buscando a redução dos custos globais de produção e o aproveitamento de fontes distintas disponíveis na região, influenciando diretamente na sustentabilidade da atividade avícola. É importante levar em consideração a frequente preocupação apresentada por nutricionistas quanto ao valor nutricional e digestibilidade de alimentos alternativos para frangos de corte nas diferentes fases de produção (HUANG et al., 2005; BAYERLE et al., 2017).

Para a utilização de alimentos alternativos na nutrição animal é importante considerar diversos fatores como a idade das aves (TRAVID, 1995; HUANG et al., 2005; RODRIGUES; BORGES; BARWALDT, 2017), o valor nutricional do alimento (PRAYOGI, 2011; KAREEM & ABDULLA, 2018), o desempenho, a digestibilidade dos nutrientes, e as respostas fisiológicas dos animais - tais como a histomorfologia intestinal e concentrações e atividade enzimática dos metabólitos sanguíneos das aves (SILVA et al., 2000; RODRIGUES et al., 2003; HUANG et al., 2005; FUKAYAMA et al., 2008).

Dentre as alternativas que vem sendo estudadas nos últimos anos, pode-se destacar o sucesso de estudos com farinha de larvas (KAREEM & ABDULLA, 2018), farinha de gafanhoto (BRAH; ISSA; HOUNDONUGBO, 2017), subproduto de pescados em geral (RUFINO et al., 2019) e moluscos bivalves (BAYERLE et al., 2017).

É importante avaliar conjuntamente a presença de fatores antinutricionais que podem estar presentes nestes ingredientes, visto que estes podem reduzir os processos biológicos do organismo animal, como o valor nutritivo, interferir na absorção e digestibilidade dos nutrientes presente na dieta (ANDRADE et al., 2015).

Portanto as novas formas de minerais alternativos que não são de origem inorgânica, podem se tornar de extrema importância para minimizar os custos e melhorar o desempenho animal, apresentando maior biodisponibilidade e serem fontes renováveis de Ca (MELO & MOURA, 2009).

Sendo que estas fontes alternativas podem ser utilizadas para realizar a variação ou substituição deste mineral, porém deve-se levar em conta a finalidade determinada da produção. Pesquisa com farinha de casca de ostra, como fonte de cálcio, mostra que esta alternativa pode ser utilizada como fonte substituta ao Ca, tornando uma forma mais barata em comparação com as outras apresentações presentes no mercado, se adequando aos pequenos produtores avícolas para redução do custo da ração (POWELL et al., 2011).

Uma fonte alternativa para suplementação de Ca nas dietas avícolas poder ser a utilização da farinha de mexilhão dourado. Este molusco bivalve é invasor de águas doces. Sua disseminação pode formar densas colônias em lagos e rios. Porém esta colonização consegue absorver o carbonato de cálcio (CaCO_3) da água para depositar em suas valvas, consequentemente tornando-as mais resistentes e desenvolvidas (AVELINO et al., 2019).

A invasão e disseminação acelerada do mexilhão dourado faz com que o ecossistema aquático sofra grandes alterações, devido sua colonização ocorrer pela fixação em qualquer superfície, e possuírem capacidade reprodutiva elevada (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2011). Portanto, a utilização desta concha como fonte mineral de Ca poderá se tornar

subproduto de baixo custo, podendo substituir ou acrescentado na lista de premix, tornando-se assim ingrediente nas rações de aves.

Segundo Bayerle et al. (2017), a utilização de farinhas de conchas vem sendo estudadas com o intuito de estagnar sua proliferação, porém poucas são as pesquisas para alimentação avícola, mas a vantagem é que estas conchas possuem uma boa porcentagem de Ca (fonte de mineral) que poderá se tornar benéfica para produtores na relação de custo na produção.

Com a utilização deste ingrediente alternativo obtido do processamento do molusco, o ecossistema sofrerá menor impacto ambiental, podendo também ser uma solução e renda extra para pequenos produtores que possuem este problema em rios e reservatórios.

2.2 Mexilhão dourado

O mexilhão dourado (*Limnosperna fortunei*) (DUNKER, 1857) tem como habitat natural a cabeceira do rio do Leste, um afluente do rio das Pérolas, terceiro maior rio da China, localizado no sul do país (OLIVEIRA et al., 2004). A espécie foi detectada pela primeira vez na América do Sul nas margens do rio da prata (PASTORINO et al., 1993), o qual foi introduzido no continente por meio de água de lastro de navios comerciais (DARRIGRAN & PASTORINO, 1995). Ao longo dos anos essa espécie se espalhou por meio do curso do rio da prata, atingindo países como Argentina, Paraguai e Brasil (OLIVEIRA et al., 2004; DARRIGRAN, 2010).

A espécie pode ser caracterizada por indivíduos bivalves de água doce, da família *Mytilidae*, caracterizados por possuir concha de forma mitilóide, triangular retangulóide, e que se fixa ao substrato por bisso formando aglomerados (MANSUR & PEREIRA, 2006). Na região subtropical, apresenta crescimento rápido, vida útil curta e possui larvas planctônicas (veliger) (PASTORINO et al., 1993). Os adultos são dióicos, com dois terços da população sendo do sexo feminino e reproduzindo pelo menos uma ou duas vezes por ano (MORTON, 1997).

Atualmente pesquisadores buscam compreender a ecologia da *Limnosperna fortunei*, e entender quais fatores auxiliam em sua expansão e invasão, mesmo que o ambiente tenha condições muito distintas das de seu habitat de origem, buscando simultaneamente entender se a espécie pode ter fatores positivos no ecossistema, bem como qual a dimensão do impacto quando ocorrente em grandes quantidades (PIZARRO et al., 2016; BORGES & LUDWIG;

BOEGER, 2017; MACKIE & BRINSMEAD, 2017; BARBOSA et al., 2018; GATTÁS et al., 2018; NUNES et al., 2020). Além disso, ao longo dos anos pode-se constatar que esta espécie se destaca como invasora em função da sua plasticidade fisiológica que lhes permite suportar condições ambientais adversas (CORDEIRO et al., 2016).

Estudos mostram que a constante disseminação de mexilhão dourado, sem solução pode trazer impactos ambientais e financeiros negativos, podendo ser observado em diferentes setores de produção (MORATO et al., 2019). Como na aquicultura pela sua fixação em tanques-redes (AVELINO et al., 2019), na produção de energia por se fixarem nos canais de arrefecimento, causando a paralização do funcionamento da usina hidrelétricas (DARRIGRAN et al., 2007; NAKANO & STRAYER, 2014), no abastecimento de água domiciliar causando entupimento dos canos fornecedores (DARRIGRAN & DAMBORENEA, 2011; PEREYRA et al., 2011), e também pela contaminação de água, devido a deposição de mexilhões mortos, acarretando um problema de saúde pública (DARRIGRAN & DRAGO, 2000; MANSUR et al., 2003).

O controle de crescimento do mexilhão-dourado pode ser realizado com a utilização de filtros de autolimpezas, tintas anti-incrustantes, gás ozônio, campo magnético entre outros, mas nenhuma destas estratégias de controle são totalmente satisfatórias, acrescentando o fato de que algumas destas formas podem ser prejudiciais ao bioma aquático (BESEN, 2019).

Estima-se que a problemática de sua invasão deve se estender nos próximos anos para Norte e Nordeste, podendo apresentar risco potencial para Amazônia, onde projetos de estocagem de peixes com espécies não nativas são incentivados por políticas governamentais (PELICICE et al., 2014; BARBOSA et al., 2018).

Diversos estudos encontram que o mexilhão além de ser um problema global pode ser bioacumulador de diferentes substâncias tóxicas (ALMEIDA et al., 2006; MANSUR et al., 2012; SANTOS et al., 2012; MARENGONI et al., 2013; BAYERLER et al., 2017). Segundo Wachholz et al. (2017), os mexilhões presentes nos rios muitas vezes são contaminados por metais tóxicos, causadores de problemas oncológicos e outros, sendo que sua utilização deve ser avaliada, para que não ocorra contaminação de carcaça e prejudique a saúde animal.

Resultados de estudos que avaliaram a introdução do mexilhão dourado na alimentação animal encontrando que a espécie contém grandes quantidades de Ca, com baixas concentrações de metais tóxicos e ausência de contaminação microbiológica estando abaixo da faixa permitida, podendo ser usado para substituir calcário calcítico (BAYERLE et al., 2017).

Nesse contexto, visto que é espécie em abundância no ecossistema e que pode causar grande impacto no mesmo, estudos de aproveitamento nutricional da classe bivalves vêm sendo realizados, visando manejo adequado em associação à eficiência do processo de produção alimentícia (BAYERLE et al., 2017).

2.3 Ca e P nos parâmetros ósseos

Os minerais são elementos inorgânicos indispensáveis na dieta, porém a classe dos macrominerais são requeridas em maior quantidade pelos animais. O Ca e P entram nesta classe, sendo essenciais para o desenvolvimento animal (SAKOMURA et al., 2014) por possuírem funções como manutenção corporal, estrutural e fisiológica.

Os ossos desempenham funções como proteção, sustentação, locomoção e pode servir de reservatório metabólico. Sua constituição é de aproximadamente 70% de minerais, 22% de proteína e 8% de água, tornando-se tecidos extremamente rígidos (PIZAURO JR, 2002). Sua mineralização é constituída principalmente por células (osteócitos, osteoblastos e osteoclastos), componentes fundamentais para sua formação.

Os osteócitos são encontrados no interior da matriz óssea, sendo uma das células mais abundantes dos ossos. Possui responsabilidade de manutenção, sintetização e reabsorção da matriz óssea em extensão limitada (PIZAURO JR, 2002). Os osteoblastos são células responsáveis pela síntese e regulação dos ossos, participando no processo de mineralização, através da secreção da fosfatase alcalina (ROSS & ROWREL, 1993; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). E os osteoclastos têm origem hematopoiética, responsável pela reabsorção óssea, liberam ácidos e enzimas colagenases e hidrolases que digerem a matriz orgânica e dissolvem os sais de Ca (MUNDY, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Estas células são responsáveis pela remodelação óssea, e se preciso, mantendo as exigências de Ca necessárias para a homeostase no animal adulto (DUPLOMB et al., 2007). O acúmulo de Ca nos ossos na fase de crescimento servirá de reservatório para manutenção durante toda vida do animal (HONMA,1992).

Portanto, o Ca e P requer atenção especial nas dietas, pois são os minerais de maior importância para o desenvolvimento das aves, conjuntamente com o metabolismo e formação óssea, cerca de 98% a 99% do Ca e 80% a 85% do P estão presentes nos ossos, mas uma pequena parte, 1% de Ca, está distribuída no restante do corpo para exercer diferentes funções

como estar presente em tecidos moles, funções musculares, nervosas, processo de coagulação sanguínea, ativação enzimática e metabolismo (UNDERWOOD, 2010).

O tecido ósseo pode sofrer influência de fatores endógenos e exógenos, isto dependendo da sua nutrição, produção hormonal e temperatura durante suas fases de desenvolvimento, porém sua rigidez vem da deposição de Ca e P no tecido ósseo, em período de mineralização (ARAÚJO et al., 2012).

A regulação e metabolismo do Ca se faz de uma ação combinada de três estruturas: (1) proteínas transportadoras de Ca presente nos enterócitos, que tem a função de realizar a absorção do Ca dietético, (2) rins que atuam como órgão base de regulação do Ca plasmático e os (3) ossos, principais reservatórios de Ca do organismo (HOENDEROP et al., 2005). Conjuntamente com os órgãos, ocorre a ação de hormônios, para manter os níveis de Ca e P no sangue, sendo os principais: paratormônio (PTH) e calcitonina, além da vitamina D (SAKOMURA et al., 2014).

A absorção do Ca ocorre no intestino delgado (duodeno e jejuno) e seu controle homeostático é mantido pela ação da vitamina D₃ (colecalfiferol). Ao mesmo tempo, a absorção, excreção e metabolismo ósseo é controlada pelo PTH e calcitonina (HENRY, 1995). Estes dois hormônios também responsável pelo controle do nível de P sanguíneo (MCDOWELL, 1992).

O metabolismo do P é coparticipante ao metabolismo do Ca. A produção da vitamina D, pelo PTH, incentiva a absorção de P, enquanto a calcitonina, ao se contrapor a ação do PTH, baixa sua absorção intestinal e sua mobilidade óssea, aumentando a excreção renal (MAIORKA & MACARI, 2002).

O paratormônio faz a ativação da calbindina. Proteína responsável por transportar o Ca ao organismo e por ser responsável na ativação dos osteoclastos, que atuam na reabsorção óssea de Ca e redução da eliminação renal, fato antagônico realizado pela calcitonina, que atua diminuindo a ativação de osteoclastos e elevando a eliminação renal de Ca (SAKOMURA et al., 2014).

A vitamina D também possui papel importante na regulação e metabolismo do Ca. Sua forma ativa é a 1,25 di-hidroxicalcitriol (conhecida como calcitriol), produzida nos rins e fígado a partir da vitamina D por hidroxilação enzimática. Isto faz com que ocorra o aumento da absorção de Ca nos intestinos, diminua a excreção e eleve as concentrações sanguíneas deste mineral (UNDERWOOD, 2010; NELSON & COX, 2014; SAKUMURA et al., 2014). Esta vitamina é obtida na dieta ou por fotólise, por conversão de 7-desidrocolesterol nos tecidos epiteliais, tornando vitamina D₃ (NELSON & COX, 2014).

A suplementação inadequada de Ca na fase de crescimento, pode acarretar grandes problemas avícolas, resultante de desequilíbrio na homeostase do mineral, má formação dos ossos, crescimento desuniforme e diminuição no consumo de alimentos (MUNIZ et al., 2007).

Além disso, altos níveis de Ca incluídos na dieta podem aumentar o pH da digesta, causando a diminuição da digestibilidade de lipídios e outros nutrientes essenciais para sua manutenção. Porém a redução do nível de Ca pode aumentar a biodisponibilidade de P e outros nutrientes (MUTUCUMARANA et al., 2014).

O P está envolvido na constituição de colágeno, mineralização óssea, aumento da resistência tênsil dos ossos e cicatrização de fraturas (PIZZOLANTE, 2000). A eficiência de utilização destes minerais está relacionada com a quantidade e concentração entre eles, sendo que o excesso de Ca na corrente sanguínea pode ser prejudicial e causar baixa absorção de outros nutrientes, conseqüentemente o mesmo pode acontecer com P em excesso, afetando a disponibilidade de Ca ósseo.

2.4 Influência da granulometria na digestibilidade e no desempenho de frangos de corte

A realização de análises dos fatores que definem as características dos ingredientes a serem incluídos na ração animal são fundamentais para determinar sua ação nutritiva e assim determinar se o ingrediente será eficiente no desempenho dos animais. A análise química e avaliações como a digestibilidade são fundamentais para determinar o valor nutritivo de cada ingrediente (ZANOTTO & BELLAYER, 1996; CANZI, 2011).

Sabe-se que a capacidade das aves de digerir e absorver alimentos e nutrientes depende de diversos fatores, dentre eles ressalta-se a idade (UNI et al., 1995). A digestão é reconhecida durante os primeiros 7 a 10 dias de vida, mas estudos apontam que os efeitos da idade para o crescimento de aves geralmente desaparecem após 14 dias de idade (BATAL & PARSONS, 2002; THOMAS; RAVINDRAN; RAVINDRAN, 2008; RAVINDRAN et al., 2017).

Outros fatores que devem ser considerados são o status relacionado ao crescimento ou manutenção, consumo de ração ou adequação nutricional das dietas, pois estes podem influenciar as medidas de digestibilidade aparente e essas diferenças podem ser responsáveis, pelo menos em parte, pelas diferenças observadas entre os ingredientes avaliados para frangos de corte (HUANG et al., 2006).

O efeito do tamanho das partículas de alimentos no desempenho, apontando que podem ser mantidos mesmo após a granulação, sendo que, de maneira geral, o tamanho das partículas das dietas para frangos de corte com base em milho ou sorgo deve ser entre 600 e 900 μm , sendo que a idade do frango reflete na preferência do tamanho do grão (AMERAH et al., 2007).

O processo de moagem é a forma de reduzir o tamanho da partícula, podendo ser realizado por moinhos tipo martelo ou rolos. O tipo martelo geralmente é o mais utilizado por possuir baixo custo de implementação e manutenção, além de possibilitar moagens mais finas ($<600 \mu\text{m}$) em comparação com o moinho de rolos (BEHNKE, 1996; AMERAH et al., 2007).

Dos aspectos importantes, o grau de moagem dos alimentos pode interferir diretamente na digestibilidade e conseqüentemente no aproveitamento dos nutrientes por alterar a área de superfície de contato das partículas com as enzimas digestivas (BIAGI, 1998; ZAEFARIAN; ABDOLLAHI; RAVINDRAN, 2016). Sendo a moagem, um dos fatores que mais afeta a solubilidade do calcário, porém estudos apontam que para frangos de corte o ideal é que a fonte de calcário apresente uma solubilidade *in vitro* superior de 20%, entretanto é desconhecido o valor máximo (FASSINI et al., 2003; BERTECHINI, 2012).

Embora os estudos apontem que a moagem mais fina aumenta a disponibilidade de substrato para digestão enzimática e conseqüentemente favoreça o desempenho dos frangos, essa moagem aumenta acentuadamente o consumo de energia no processo de estruturação do alimento, sendo que em muitos casos o ganho no rendimento do frango de corte é compensado pela ingestão de alimentos, conseqüentemente de nutrientes (AMERAH et al., 2007; ZANG et al., 2009; ABDOLLAHI; RAVINDRAN; SVIHUS, 2013). Torna-se fundamental a realização de testes granulométricos nos diversos ingredientes para determinar a granulometria ideal para absorção dos nutrientes pelo animal, bem como a influência da ração no rendimento do frango de corte.

Para a variável de desempenho, Saunder-Blades et al. (2009) relataram que as diferentes granulometrias de calcário calcítico (0,425 a 4,00 μm) não influenciam neste parâmetro em aves poedeiras. Viapina et al. (2015), em estudo com codornas não observaram diferença para o parâmetro de desempenho com inserção de farinha de concha sururu com baixa granulometria (abaixo de 1,0 μm).

Kusakawa et al. (1998), em estudo com poedeiras não observaram diferenças referentes as variações da fonte de cálcio e das diversas partículas granulométricas utilizada de calcário e farinha de ostra (0,250 a 2,380 μm).

Partículas de cálcio de maior tamanho são menos solúveis, pois persiste na parte superior do trato digestório por mais tempo, sendo disponibilizado no período noturno em quais as aves não se alimentam (LEESON & SUMMERS, 2005).

A utilização de farinha de ostras e carbonato de Ca para poedeiras, foi constatado pelo autor que partículas maiores de farinha de ostra obtiveram resultados satisfatórios para qualidade da casca, por ser menos solúvel, o que resulta em permanência no papo e na moela no decorrer do dia, enquanto o Ca é lentamente liberado no período da noite, coincidindo com a fase de formação da casca (ROLAND, 1986).

A moela possui uma importante função, a qual realiza movimentos musculares junto com o suco gástrico (HCl e o pepsinogênio) secretado pelo proventrículo. No entanto, a moela contém músculos fortes e responsável pela trituração e maceração dos alimentos (SVIHUS, 2014), seu volume pode ser aumentado substancialmente, dependendo a forma de administração das partículas na dieta (cereais inteiros ou moído grosseiramente) (DAHLKE et al., 2003; ROHE et al., 2014).

A regulação da região pilórica da moela em aves depende do tamanho da partícula oferecida, ou seja, se o bolo alimentar se apresenta em granulometria superior, permanecerá na moela durante algumas horas (AMERAH et al., 2008), para que ocorra redução de tamanho entre 15 e 40 μm , tornando as partículas menores para que haja absorção no intestino delgado (TURK, 1982).

As partículas grandes permanecem por mais tempo na moela das aves (AMERAH et al., 2008), com desbloqueio gradual de Ca no intestino delgado (RAO & ROLAND, 1990, 1992) impedindo picos de Ca intestinais, por calcários muito solúveis. Sendo assim, uma moela bem desenvolvida aumenta a ação de moagem (FERKET, 2000).

Amerah et al. (2007) em um estudo de revisão, enfatizam que uma moela bem desenvolvida está associada ao aumento da atividade de moagem, resultando não apenas no aumento da motilidade intestinal e na maior digestão dos nutrientes, mas também na redução no tamanho das partículas que entram no intestino delgado e no aumento da acessibilidade das enzimas digestivas.

Gongruttanarun (2011), refere que as literaturas constam que não há influência das diferentes fontes de cálcio para conversão alimentar, consumo de ração e em taxa de postura para poedeiras.

2.5 Farinha de mexilhão

Bayerle et al. (2017), avaliando a utilização de mexilhão dourado em rações para frangos de corte de 1 a 21 dias, observaram que o consumo de ração, conversão alimentar, ganho de peso, viabilidade e desenvolvimento ósseo não foram afetados pela substituição da fonte de Ca. Sendo assim, afirmaram que a substituição total de calcário calcítico por farinha de mexilhão dourado nas dietas pode ser realizada sem prejuízos ao desempenho animal.

Fernandes & Peixoto (2000) substituíram o calcário dolomítico por farinha de conchas na dieta de frangos de corte (1 a 28 dias) e não observaram efeito desfavorável no desempenho destas aves.

Com relação a fonte mineral de cálcio encontrado no mexilhão, Canzi (2011), relatou que os valores de Ca encontrados foram relativamente altos 27,27% na FMI (Farinha de mexilhão integral). Sendo que o principal constituinte das conchas dos moluscos bivalves é de carbonato de Ca (OLIVEIRA & ALMEIDA, 2000). Mas este dado não atingiu o valor mínimo estabelecido pela portaria, que deve estar entre 36-35% de Ca para os diferentes tipos de farinhas de ostras (BRASIL, 1988).

Alguns estudos avaliaram a composição mineral de subprodutos de origem aquática como forma alternativa de Ca nas dietas e encontraram valores de 36,9% de Ca na casca de mexilhão azul e em concha de maçunim (SAFAMEHR et al., 2013). Ajakaiye et al. (2003), encontraram teores superiores de Ca em conchas de molusco bivalves 40,8%, em conchas de caramujo 36,7% e em conchas de caracol 36%.

Para análise óssea de codornas, estudo avaliou a substituição de calcário por casca de sururu com diferentes granulometrias, sendo que a utilização supriu a necessidade e não influenciou na calcificação óssea, tendo um aumento referente a resistência a flexão comparado com o tratamento de calcário calcítico como fonte de Ca (VIAPIANA et al., 2015).

Segundo Englert (1998), farinha de concha de ostra não contém magnésio, por este motivo pode ser utilizada como fonte de Ca para aves, sendo que o magnésio é nocivo para esta espécie, devido a isto esta fonte de cálcio está sendo cada vez, mas utilizada nas formulações de rações.

A farinha de mexilhão dourado com altas concentrações de metais pesados não causou toxidez nas aves nem comprometeu o desempenho dos frangos de corte provavelmente a concentração de metais pesados que foram incluídos, tornaram-se insignificantes ao serem

misturados com outros ingredientes da ração, conseqüentemente não comprometendo o desenvolvimento animal (WACHHOLZ et al., 2017).

2.6 Referências bibliográficas

- ABDOLLAHI, M.R.; RAVINDRAN, V.; SVIHUS, B. Influence of grain type and feed form on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of nitrogen, starch, fat, calcium and phosphorus in broiler starters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 186, n. 3–4, p. 193–203, 2013.
- ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL **Relatório anual 2021**. Disponível em:<ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal (abpa-br.org)> Acesso em: 06 jun. 2021.
- ABPA. **Relatório Anual 2020**: 2020. São Paulo: [s.n.].
- AJAKAIYE, A.; FAN, M.Z.; ARCHBOLD, T.; HACKER, R.R.; FORSBURG, C.W.; PHILLIPS, J.P. Determination of true digestive utilization of phosphorus and the endogenous phosphorus outputs associated with soybean meal for growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2766-2775, 2003.
- ALMEIDA, H.C.; SUSZEK, A.P.C.; MENDONÇA, S.N.T.G.D.C.; FLAUZINO, R.S.C. Estudo do *Limnoperna fortunei* (mexilhão dourado) como ingrediente na ração animal, através das características físico-químicas, microbiológicas e presença de mercúrio. **Higiene Alimentar**, v. 20, p. 61-65, 2006.
- AMERAH, A.M.; RAVINDRAN, V.; LENTLE, R.G.; THOMAS, D.G. Influência do tamanho de partícula da ração no desempenho, utilização de energia, desenvolvimento do trato digestivo e parâmetros de digesta de rações iniciais alimentadas com dietas à base de trigo e milho. **Poultry Science**, v. 87, p.2320–2328, 2008.
- AMERAH, A.M.; RIVINDRAN, V.; LENTLE, R.G.; THOMAS, D.G. Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. **World Poultry Science Journal**, v. 63, n. 3, p. 439-455, 2007.
- ANDRADE, T.V.; SANTOS, R.N.V.; ARAÚJO, D.J.; BRAULINO, D.D.S.; BORGES, L.D.S. Efeito de fatores antinutricionais encontrados nos alimentos alternativos e seu impacto na alimentação de não ruminantes. **Revista Eletrônica - Nutritime**, v. 12, n. 6, 2015.
- ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 79-89, 2012.
- AVELINO, P.G.; AVELINO, D.F.G.; SILVA, T.A. Impactos provocados pelo descarte do *Limnoperna fortunei* em pisciculturas do sub-médio rio São Francisco. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v.7, n. 2, p.282-288, 2019.
- AWACHAT, V.B; MAJUMDAR, S.; MANDAL, A.B.; BHANJA, S.K. Effect of feeding rendered poultry slaughter byproduct meal on growth and immunocompetance of growing turkey poult. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 82, n. 3, p. 312, 2012.
- BARBOSA, N.P.U.; FERREIRA, J.A.; NASCIMENTO, C.A.R.; SILVA, F.A.; CARVALHO, V.A.; XAVIER, E.R.S.; RAMON, L.; ALMEIDA, A.C.; CARVALHO, M.D.; CARDOSO, A.V. Prediction of future risk of invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) in Brazil with cellular automata.

- Ecological Indicators**, v. 92, p. 30-39, 2018.
- BATAL, A.B.; PARSONS, C.M. Effects of age on nutrient digestibility in chicks fed different diets. **Poultry Science**, v. 81, n. 3, p. 400-407, 2002.
- BAYERLE, D.F.; NUNES, R.V.; JUNIOR, A.C.G.; WACHHOLZ, L.; SCHERER, C.; DA SILVA, I.M.; VARGAS JUNIOR, J.G. Golden mussel (*Limnoperna fortunei*) in feed for broiler chicks using tannin as a sequestrant of toxic metals. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 843-854, 2017.
- BEHNKE, K.C. Tecnologia de fabricação de rações: questões e desafios atuais. **Animal Feed Sci Technol**. v.62, p. 49-57, 1996.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, 2012. p. 255.
- BESEN, M.A.; MARENGONI, N.G. Incrustação de mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) nas telas de tanques-rede. **Acta Iguazu**, v. 8, n. 5, p. 60-68, 2019.
- BIAGI, J.D. Implicações da granulometria de ingredientes na qualidade de peletes e na economia da produção de rações. In: **SIMPÓSIO SOBRE GRANULOMETRIA DE INGREDIENTES E RAÇÕES PARA SUÍNOS E AVES**. [s.l: s.n.]. p. 51-70.
- BORGES, P.D.; LUDWING, S.; BOEGER, W.A. Testing hypotheses on the origin and dispersion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) in the Iguassu River (Paraná, Brazil): molecular markers in larvae and adults. **Limnology**, v. 18, n. 1, p. 31-39, 2017.
- BRADBURY, E.J.; WILKINSON, S.J.; CRONIN, G.M.; WALK, C.L.; COWIESON, A.J. Efeitos da fitase, fonte de cálcio, concentração de cálcio e tamanho de partícula no desempenho de frangos de corte, digestibilidade de nutrientes e integridade esquelética. **Animal Production Science**, v. 58, n. 2, p. 271-283, 2018.
- BRAH, N.; ISSA, S.; HOUNDONUGBO, F.M. Effect of grasshopper meal on laying hens' performance and eggs quality characteristics. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 87, n. 8, p. 1005-1010, 2017.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação animal. **Associação Nacional dos fabricantes de Rações**. São Paulo/Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. Compêndio brasileiro de alimentação animal. ANFAR/CBNA/SDR, 1998.
- CANZI, C. Avaliação da utilização do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei* Dunker, 1857) na elaboração de farinha para alimentação da tilápia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758). **Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca)** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2011.
- CORDEIRO, N.I.S.; ANDRADE, J.T.; MONTRESOR, L.C.; LUZ, D.M.; MARTINEZ, C.B.; DARRIGAN, G.; VIDIGAL, T.H.D.A. Effect of starvation and subsequent feeding on glycogen concentration, behavior and mortality in the Golden mussel *Limnoperna Fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae). **Journal of Limnology**, v. 75, n. 3, p. 618-625, 2016.
- CUNHA, F.S.DE A.; RABELLO, C.B.V.; JUNIOR, W.M.D; LUDKE, M.C.M.M.; DE

- SOUZA LOUREIRO, R.R.; FREITAS, C.R.G. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo farinha de resíduos do processamento de camarões (*Litopenaeus vannamei*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 3, p. 273-279, 2006.
- DAHLKE, F.; RIBEIRO, A.; KESSLER, A.; LIMA, A.; MAIORKA, A. Efeitos do tamanho das partículas de milho e da forma física da dieta nas estruturas gastrointestinais de frangos de corte. **Brazilian Journal Poultry Science**, v.5, p.61-67, 2003.
- DARRIGRA, G. Summary of the distribution and impact of the Golden mussel in Argentina and neighboring countries. In: MACKIE, G. L.; CLAUDI, R. (Eds.). **Practical Guide for the Monitoring and Control of Aquatic Invasive Mollusca in Freshwater Systems**. [s.l.] Routledge Taylor & Francis Group, 2010. p. 389-396.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C. Ecosystem engineering impact of *Limnoperna fortunei* in South America. **Zoological Science**, v.28, n.1, p.1-7, 2011.
- DARRIGRAN, G.; DAMBORENEA, C.; GRECO, N. An evaluation pattern for antimacrobiofouling procedures: *Limnoperna fortunei* larvae 98 study in a hydroelectric power plant in South America. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, v.36, n.7, p.575-579, 2007.
- DARRIGRAN, G.; DRAGO, I.E. Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. **The Nautilus**, v. 114, n. 2, p.69-73, 2000.
- DARRIGRAN, G.; PASTORINO, G. The Recent Introduction of a Fresh-Water Asiatic Bivalve, *Limnoperna-Fortunei* (Mytilidae) into South-America. **The Veliger**, v. 38, n. 2, p. 171-175, 1995.
- DUNKER, W. Mytilacea nova collections. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 24, p. 358-366, 1857.
- DUPLOMB, L.; DAGOUASSAT, M.; JOURDON, P. HEYMANN, D. Concise review: embryonic stem cells: a new tool to study osteoblast and osteoclast differentiation. **Stem Cells**. v. 25, n.3, p.544-552, 2007.
- ENGLERT, S.I. **Avicultura: Tudo sobre raças, manejo e nutrição**. 7 ed. Atual Guaíba: agropecuária. ETCHE, R.J. **Reproduction in Poultry**. CAB International: UK, p. 328, 1998.
- FASSANI, É.J.; BERTECHINI, A.G.; KATO, R.K.; FILHO, E.T.; GERALDO, A. Composição e solubilidade in vitro de calcários calcíticos de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 913-918, 2004.
- FERKET, P. Feeding whole grains to poultry improves gut health. **Feedstuffs USA**, v. 71, p. 12-14, 2000.
- FERNANDES, A.L.S.; PEIXOTO, R.R. Avaliação de calcários dolomíticos como fontes de cálcio para frangos de corte em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 2260-2267, 2000.

- FUKAYAMA, E.H.; SALOMUR, N.K.; DOURADO, L.R.B.; NEME, R.; FERNANDES, J. B.K.; MARCATO, S.M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 629-635, 2008.
- GATTÁS, F.; DE STEFANO, L.G.; VINO CUR, A.; BORDET, F.; ESPINOSA, M.S.; PIZARRO, H.; CATALDO, D. Impacto f interaction between *Limnoperna fortunei* and Roundup Max® on freshwater phytoplankton: Na in situ approach in Salto Grande reservoir (Argentina). **Chemosphere**, v. 209, p. 748-757, 2018.
- GONGRUTTANANUN, N. Efeitos do cálcio da casca do ovo no desempenho produtivo, cálcio plasmático, mineralização óssea e características gonadais em poedeiras comerciais. **Ciência Avícola**, v. 90, n. 2, p. 524-529, 2011.
- HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 18.ed. Barueri: Editora Manole LTDA, 1995. p.1678.
- HISANO, H.; MARUYAMA, M.R.; ISHIKAWA, M.M.; MELHORANÇA, A.L.; OTSUBO, A.A. Potencial da utilização da mandioca na alimentação de peixes. **Embrapa Agropecuária Oeste-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.
- HOENDEROP, J.G.; NILIUS, B.; BINDELS, R.J. Calcium absorption across epithelia. **Physiological Reviews**, v.85, p.373-422, 2005.
- HONMA, N.H. Efeitos dos níveis nutricionais de Ca sobre a capacidade reprodutiva e integridade dos ossos de galos reprodutores de corte. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa. p. 63, 1992.
- HUANG, K.H.; LI, X.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. Comparison of apparent ileal amino acid digestibility of feed ingredients measured with broilers, layers, and roosters. **Metabolism and Nutrition**, v. 85, p. 625-634, 2006.
- HUANG, K.H.; LI, X.; RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L. Influence of age on the apparent ileal amino acid digestibility of feed ingredients for broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 46, n.2, p. 236-245, 2005.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.488.
- KARREM, K.Y.; ABDULLA, N. Effect of feeding larvae meal in the diets on growth performance, nutriente digestibility and meat quality in broiler chicken. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 88, n. 10, p. 1180-1185, 2018.
- KUSSAKAWA, K.C.K; MURAKANI, A.E.; FURLAN, A.C. Combinação de fontes de cálcio em rações de poedeiras na fase final de produção e após muda forçada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.3, p. 572-578, 1998.
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Commercial poultry nutrition**. 2 ed. Guelph-6 Ontario: University Books, 2005. p. 196.

- MACKIE, G.L.; BRINSMEAD, J.K. A risk assessment of the golden mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) for Ontario, Canada. **Management of Biological Invasions**, v. 8, n. 3, p.383-402, 2017.
- MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviária: aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.167-173.
- MANSUR, M.C.D.; PEREIRA, D. Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veneroidea e Mytiloidea). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 4, p. 1123-1147, 2006.
- MANSUR, M.C.D.; SANTOS, C.P.; PEREIRA, D.; PAZ, I.P.; ZURITA, M.L.; RODRIGUEZ, M.R.; NEHRKE, M.; BERGONCI, P. **Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle**. Porto Alegre: Redes Editora, p. 19- 30, 2012.
- MANSUR, M.C.D.; SANTOS, C.P.D.; DARRIGAN, G.; HEYDRICH, I.; CALLIL, C.T.; CARDOSO, F.R. Primeiros dados qualiquantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 20, n. 1, p.75-84, 2003.
- MARENGONI, N.G.; KLOSOWSKI, E.S.; OLIVEIRA, K.P.D.; CHAMBO, A.P.S.; GONÇALVES JR, A.C. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. **Química Nova**, v. 36, p.359-363, 2013.
- MCDOWELL, L.R. **Calcium and Phosphorus – Minerals in Animal and Human Nutrition**. California: Academy Press Inc, 1992, p.26-77.
- MELO, T.V.; MENDONÇA, P.P.; MOURA, A.M.A.; LOMNARDI, C.T.; FERREIRA, R. A.; NERY, V.L.H. Solubilidad in vitro de algunas fuentes de cálcio utilizadas em alimentacion animal. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, p. 297-300, 2006.
- MELO, T.V.; MOURA, A.M.A. Utilização da farinha de algas calcárias na alimentação animal. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 99-107, 2009.
- MORATO, M.M.; ÁVILA-SIMAS, S.; REYNALTE-TATAJE, D. A.; ZANIBONI-FILHO, E.; SILVEIRA, H. B.; NORMEY-RICO, J. E. Modelling the Ecological Effect of the Golden Mussel Invasion in Uruguay River. **IFAC-PAPERSONLINE**, v. 52, n. 1, p. 721-726, 2019.
- MORTON, B. The aquatic nuisance species: a global perspective and review. In: D'ITRI, F. M. (Ed.). **Zebra Mussels and Aquatic Nuisance Species**. 1. Ed. Michigan: AnnArbor Press, 1997. p. 1-54.
- MUNDY, G.R. Cellular and molecular regulation of bone turnover. **Departments of Medicine and Endocrinology, University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA**. v. 24, n.5S, p. 355-385, 1999.
- MUNIZ, E.B.; DE ARRUDA, A.M.V.; FASSANI, E.J.; TEIXEIRA, A.S.; PEREIRA, E.S. Avaliação de Fontes de Ca para Frangos de Corte. **Revista Caatinga**. v.20, n.1, p. 5- 14, 2007.

- MUTUCUMARANA, R.K.; RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; COWIESON, A.J. Influência da concentração de cálcio na dieta na digestão de nutrientes ao longo do trato intestinal de frangos de corte. **Journal of Poultry Science**, v. 51, p. 392-401, 2014.
- NAKANO, D.; STRAYER, D.L. Biofouling animals in fresh water: biology, impacts, and ecosystem engineering. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 12, n.3, p.167–175, 2014.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, p.935.
- NUNES, S.M.; MÜLLER, L.; SIMIONI, C.; OURIQUES, L.C.; GELESKY, M. A.; FATTORINI, D.; REGOLI, F.; MONSERRAT, J. M.; VENTURA-LIMA, J. Impacto of diferente crystalline forms of nTiO₂ on metabolismo and arsenic toxicity in *Limnoperna fortunei*. **Science of The Total Environment**, p. 138318, 2020.
- OLIVEIRA, M.D.; PELLEGRIN, L.A.; BARRETO, R.R.; DOS SANTOS, C.L.; XAVIER, I.G. **Área de ocorrência do Mexilhão Dourado (*Limnoperna fortunei*) na bacia do Alto Paraguai, entre os anos de 1998 e 2004**. 1. Ed. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004a. v.64.
- OLIVEIRA, M.P.; ALMEIDA, M.N. **Malacologia**, Juiz de Fora-MG: Editar Editora Associada, 2000.
- PASTORINO, G.; DARRIGAN, G.A.; LUNASCHI, L.; MARTÍN, S.M. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), otro bivalvo invasor em el Rio de La Plata. **Neotrópica**, v. 39, n. 34, p. 101-102, 1993.
- PASTORINO, G.; DARRIGAN, G.A.; LUNASCHI, L.; MARTÍN, S.M. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (*Mytilidae*), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio de la Plata. **Neotrópica**, v. 39, n. 34, p. 101-102, 1993.
- PELICICE, F.M.; VITULE, J.R.S.; LIMA JUNIOR, D.P.; ORSI, M.L.; AGOSTINHO, A. A.A. Serious new threat to brazilian freshwater ecosystems: The naturalization of nonnative fish by decree. **Conservation Letters**, v. 7, n. 1, p. 55-60, 2014.
- PEREYRA, P.J.; ROSSINI, G.B.; DARRIGAN, G. Toxicity of three commercial tannins to the nuisance invasive species *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): implications for control. **Fresenius Environmental Bulletin**, v.20, n.6, p.1432–1437, 2011.
- PESSÔA, G.B.S.; TAVERNARI, F.C.; VIEIRA, R.A.; ALBINO, L.F.T. Novos conceitos em nutrição de aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 755-774, 2012.
- PIZARRO, H.; DI FIORI, E.; SINISTRO, R.; RAMÍREZ, M.; RODRÍGUES, P.; VINOCUR, A.; CATALDO, D. Impacto f multiple anthropogenic stressors on freshwater: how do glyphosate and the invasive mussel *Limnoperna fortunei* affect microbial communities and water quality? **Ecotoxicology**, v. 25, n. 1, p. 56-68, 2016.
- PIZAURO JÚNIOR, J.M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M; FURLAN, R.L.; GOLZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.247-265.

- PIZZOLANTE, C.C.; SANTOS, C.D.; TEIXEIRA, A.S.; BERTICHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; GARCIA, E.A. Estabilidade da fitase em diferentes formas de armazenamento. **In: Conferência APINCO de Ciências e Tecnologia Avícola, Campinas: FACTA**, p.51, 2000.
- POWELL, S.; BIDNER, T.D.; SOUTHERN, L.L. Phytase supplementation improved growth performance and bone characteristics in broilers fed varying levels of dietary calcium. **Poultry Science**, v. 90, n. 3, p. 604-608, 2011.
- PRAYOGI, H. The effect of earthworm meal supplementation in the diet on quail's growth performance in attempt to replace the usage of fish meal. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 10, p. 804-807, 2011.
- RAO, K. S.; ROLAND, D. A. In vivo limestone solubilization in comercial leghoms: Role of dietary calcium level, limestone particle size, in vitro limestone solubility rate, and the calcium status of the hen. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 12, p. 2170 - 2176, 1990.
- RAO, K.S.; ROLAND, D.A. Improved limestone solubilization in comercial leghoms: **Journal Applied Poultry Research**, Améns, v. 1, p. 6 - 10, 1992.
- RAVINDRAN, V.; ADEOLA, O.; RODEHUTSCORD, M.; KLUTH, H.; VAN DER LIS, J.D.; VAN EERDEN, E.; HELMBRECHT, A. Determination of ileal digestibility of amino acids in raw materials for broiler chickens – Results of collaborative studies and assay recommendations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 225, p. 62-72, 2017.
- RIBEIRO, M.V.; BITTENCOURT, L.C.; HERMES, R.G.; RONNAU, M.; RORIG, A.; LIMA, F.K.; FERNANDES, J.L.M. Mineral source and vitamin level in broiler diets: Effects on performance, yield, and meat quality. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 22, n. 2, 2020.
- RODRIGUES, A.S.P.; BORGES, E.N.; BARWALDT, R. Um estudo sobre o comportamento alimentar de frangos de corte utilizando a mineração de dados. **Scientia Plena**, v. 13, n. 4, p.1-7, 2017.
- RODRIGUES, P.B.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; BARBOZA, W.A.; TOLEDO, R.S. Desempenho de Frangos de Corte, Digestibilidade de Nutrientes e Valores Energéticos de Rações Formuladas com Vários Milhos, Suplementadas em Enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 1, p. 171-182, 2003.
- ROHE, I.; RUHNKE, I.; KNORR, F.; MADER, A.; BOROOJENI, F.G.; LÖWE, R.; ZENTEK, J. Efeitos do método de moagem, tamanho de partícula e forma física da dieta na morfologia gastrointestinal e no transporte jejunal de glicose em poedeiras comerciais. **Poultry Science**, v. 93, p.2060–2068, 2014.
- ROLAND, D.A. Egg shel quality IV: Oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium source. **World's Poultry Science Journal**, v. 42, n.2, p. 166-171, 1986.
- ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. **Histologia – Texto e Atlas**. 2.ed. São Paulo: Média Panamericana, 1993, p.779.

- RUFINO, F.J.P.; CRUZ, F.G.G.; GUIMARÃES, C.C.; SILVA, A.F.; DE SOUZA BATALHA, O. Uso de subprodutos do pescado na alimentação de aves. **Revista Científica Avicultura e Suinocultura**, v. 5, n. 1, p. 1-14, 2019.
- SAFAMEHR, A.; LANGILLE, M.L.; ANDERSON, D.M.; MACLSAAC, J.L. Evaluation of composition and in vitro solubility rate of by-products of the Atlantic shellfish industry as alternative calcium sources. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 529-538, 2013.
- SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não-ruminantes**, Jaboticabal: FUNEP, p.313-329, 2014.
- SANTOS, S.B.; THIENGO, S.C.; FERNANDEZ, M.A.; MIYAHIRA, I.C.; GONÇALVES, I.B.; XIMENES, R.D.F.; PERREIRA, D. Espécies de moluscos límnicos invasores no Brasil. Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle. **Porto Alegre, RS: Redes Editora**; p. 25-49, 2012.
- SAUNDERS-BLADES, J.L.; MACLSAAC, J.L.; KORVER, D.R.; ANDERSON, D.M. Effect of calcium source and particle size on production performance and bone quality of the laying hen. **Poultry Science**, v. 88, n. 2, p. 338-353, 2009.
- SILVA, H.O.; FONSECA, R.A.D.; GUEDES FILHO, R.D.S. Características Produtivas e Digestibilidade da Farinha de Folhas de Mandioca em Dietas de Frangos de Corte com e sem Adição de Enzimas 1. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 29, n. 3, p. 823-829, 2000.
- SILVA, J.H.V.; PASCOAL, L.A.F. Funções e disponibilidade dos minerais. **Nutrição de não ruminantes**. Sakomura, N.K., São Paulo – Jaboticabal, 2014, p. 128-142.
- SVIHUS, B. Função do sistema digestivo. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.23, p.306–314, 2014.
- THOMAS, D.V.; RAVIDRAN, V.; RAVIDRAN, G. Nutrient digestibility and energy utilisation of diets based on wheat, sorghum or maize by the newly hatched broiler chick. **British Poultry Science**, v. 49, n. 4, p. 429-435, 2008.
- TRAVID, I. The development of protein digestion in poultry. **Poultry and Biology Reviews**, 1995.
- TURK, D.E. The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. **Poultry Science**, Champaign, v.61, n. 7, p. 1225-1244, 1982.
- UNDERWOOD, E.J.M. **The mineral nutrition of Livestock**. 4.ed. p.54-91, 2010.
- UNI, Z.; NOY, Y; SKLAN, D. Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light-strain chicks. **Poultry Science**. V. 74, p.1622-1629, 1995.
- VIAPIANA, J.G.; LANA, G.R.Q.; LANA, S.R.V. Casca de sururu na alimentação de codornas europeias. In: **XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia**, Fortaleza - CE, 2015.
- WACHHOLZ, L.; NUNES, R.V.; BROCH, J.; DE SOUZA, C. Possibilidade do uso de Mexilhão Dourado contaminado com metais tóxicos em dietas para frangos de corte. **Revista Colombiana De Ciências Animal**, v. 9, n. 2, p.227-235, 2017.

- ZAEFARIAN, F.; ABDOLLAHI, M.R.; RAVINDRAN, V. Particle size and feed form in broiler diets: Impact on gastrointestinal tract development and gut health. **World's Poultry Science Journal**, v. 72, n. 2, p.277-290, 2016.
- ZANG, J.J.; PIAO, X.S.; HUANG, D.S.; WANG, J.J.; MA, X.; MA, Y.X. Effects of feed particle size and feed form on growth performance, nutrient metabolizability and intestinal morphology in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 1, p. 107-112, 2009.
- ZANOTTO, D.L.; BELLAVER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. **EMBRAPA-CNPSA**, 1996, v. 2015, p. 1-5.

3. FARINHA DE MEXILHÃO DOURADO NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a adição de farinha de mexilhão dourado (FMD) de diferentes granulometrias em substituição ao calcário calcítico na alimentação de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade. Foram utilizados 900 frangos de corte machos da linhagem Cobb[®] 500, de 1 a 42 dias de idades. Os tratamentos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 10 repetições e 18 aves por unidade experimental (UE). Os tratamentos foram: ração controle (calcário calcítico); ração com FMD 299 μm ; ração com FMD 375 μm ; ração com FMD 436 μm e ração com FMD 551 μm . Aos 21 e 40 dias, uma ave por UE, foi sacrificada para coleta das pernas (direita e esquerda) para avaliação de peso ósseo, índice de Seedor, densitometria óssea, resistência óssea, MS, MM, Ca e P. Aos 40 dias foi realizada coleta de sangue e abate de uma ave por UE para coleta de uma porção do intestino delgado para análise de expressão gênica. Com 42 dias, duas aves por UE foram sacrificadas para rendimento de carcaça e cortes. Os dados foram submetidos a análise de variância, análise de regressão polinomial e para comparação teste de Dunnett. Os parâmetros ósseos avaliados apresentaram diferença para fêmur aos 21 dias e nas tíbias aos 21 e 40 dias para MS e MM. Para Ca em fêmur aos 21 dias observou efeito para as granulometrias 299 μm , 436 μm e 551 μm onde foram inferiores ao tratamento controle. Para P aos 40 dias, foi observado efeito para fêmur obtendo maior concentração na granulometria 375 μm e para tíbia em 299 μm comparado com o controle. A substituição de calcário calcítico por FMD em diferentes granulometrias pode ser realizada em frangos de corte sem prejudicar seu desenvolvimento e desempenho no período de 1 a 42 dias.

Palavras-chave: alimento alternativo, cálcio, fósforo, molusco bivalve, resistência óssea.

GOLDEN MUSSEL FLOUR IN THE FEEDING OF BEARING CHICKENS

Abstract – The objective of this work was to evaluate the addition of golden mussel flour (GMF) of different granulometries to replace calcitic limestone in the feed of broiler chickens from 1 to 42 days of age. 900 male broilers of the Cobb® 500 lineage, from 1 to 42 days of age, were used. The treatments were distributed in a completely randomized design, with 5 treatments, 10 replicates, and 18 birds per experimental unit (EU). The treatments were: control diet (calcitic limestone); ration with GMF 299 μm ; ration with GMF 375 μm ; feed with GMF 436 μm and feed with GMF 551 μm . At 21 and 40 days, one bird per EU was sacrificed to collect the legs (right and left) to assess bone weight, Seedor index, bone densitometry, bone strength, MS, MM, Ca, and P. At 40 days it was blood was collected and a bird slaughtered per EU to collect a portion of the small intestine for gene expression analysis. At 42 days, two birds per EU were sacrificed for carcass and cuts yield. Data were subjected to analysis of variance, polynomial regression analysis and Dunnett's test for comparison. The bone parameters evaluated showed difference for femur at 21 days and tibias at 21 and 40 days for MS and MM. For Ca in the femur at 21 days, there was an effect for particle sizes 299 μm , 436 μm and 551 μm , which were inferior to the control treatment. For P at 40 days, an effect was observed for the femur, with a higher concentration in the 375 μm particle size and for the tibia in 299 μm compared to the control. The replacement of calcitic limestone by GMF in different particle sizes can be carried out in broiler chickens without harming their development and performance in a period of 1 to 42 days.

Keywords: alternative food, bivalve mollusk, bone strength, calcium, phosphorus.

3.1 Introdução

O Ca é essencial na constituição óssea, contração muscular, coagulação sanguínea, ativação enzimática, ação direta ou indireta das glândulas endócrinas, no processo de absorção e transporte de substâncias (VEUM, 2010; ALEXANDER et al., 2014). A apresentação mais comum deste mineral na dieta de aves é pelo ingrediente calcário calcítico, de fonte originária de rochas e com baixo teor de magnésio. Porém, inúmeros estudos buscam substituição, amplificação e otimização de fontes alternativas deste mineral na dieta de frangos de corte.

As fontes alternativas de Ca utilizadas na alimentação animal podem ser uma boa escolha, de acordo com sua disponibilidade na região e podendo ter custo inferior ao calcário calcítico, reduzindo o custo da alimentação. Estas fontes podem ser: conchas de ostras, algas marinhas ou casca de ovos (MELO & MOURA, 2009; MARINHO et al., 2010). Para utilização destas fontes alternativas é importante verificar a concentração de Ca que está sendo disponibilizado para dieta, sua granulometria e solubilidade, pois estes fatores podem influenciar na disponibilidade de outros minerais, ou até mesmo causar raquitismo, baixo consumo de ração e crescimento retardado (PATORE et al., 2012; BERTECHINI, 2012).

O Ca oriundo de conchas, mariscos e algas é considerado fonte inorgânica de origem marinha, e vem sendo avaliado na alimentação animal, sendo que estas são fontes renováveis e possuem benefícios ao meio ambiente. A utilização destas fontes diminui o impacto sobre as reservas naturais de rocha calcária, que são fontes naturais não renováveis (ARAÚJO et al., 2008; MELO & MOURA, 2009). Seus altos teores de Ca, conseqüentemente trazer vantagens ao ecossistema, no aproveitamento de resíduos, sendo que a maioria destes alimentos alternativos são descartados de forma inadequada, gerando acúmulo ao ambiente (GONÇALVES et al., 2014; LEÃO et al., 2020; TAMANO et al., 2020).

A origem e o tamanho das partículas de calcário e concha de ostras podem influenciar a disponibilidade de Ca, tendo visto em aves poedeiras, por possuírem maior necessidade de Ca. Sendo possível o aumento de qualidade a casca do ovo com concha de ostras, mesmo que os níveis Ca na dieta fossem abundantes (ANWAR et al., 2017).

A maior exigência de Ca para as aves é na fase inicial, em que a taxa de desenvolvimento é alta, diminuindo na fase adulta, quando o peso corporal é atingido (VARGAS JR et al., 2004). Portanto o tamanho das partículas, fontes e origens de Ca podem influenciar na solubilidade mineral, notando que partículas menores aumentam a solubilidade em relação às partículas maiores, sendo que as partículas mais grosseiras são solubilizadas

mais lentamente, tendo melhor aproveitamento, ressaltando a origem variada deste alimento em relação a sua solubilização (SHIH et al., 2000; SAUNDERS-BLADES et al., 2009; CUFADAR et al., 2011; SA & BOYD, 2017).

Por isso, o conhecimento da fonte mineral, níveis de utilização, solubilidade e granulometria são importantes para melhor desenvolvimento animal, pois o Ca e o P estão inter relacionados em muitas funções biológicas, sendo que a exigência desses minerais é interdependente (MELLO et al., 2012).

A hipótese do trabalho é que a utilização de diferentes granulometrias de farinha de mexilhão dourado, poderá interferir no desenvolvimento, desempenho, parâmetros sanguíneos, fisiológicos e qualidade óssea em aves de corte. E como e por que utilizar o mexilhão dourado na alimentação animal.

Portanto, objetiva-se avaliar a adição de farinha de mexilhão dourado em diferentes granulometrias, na alimentação de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, sobre desempenho, parâmetro ósseo, bioquímica sérica e expressão gênica.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Manejo e instalações

O experimento foi realizado no Centro de Pesquisa em Avicultura da Fazenda Experimental Professor Antônio Carlos dos Santos Pessoa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon – Paraná. As aves foram manuseadas com todos os cuidados respeitando todos os procedimentos exigidos, inclusive todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade sob o nº 59-15 e certificado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) nº 17-20 – CEUA.

As aves foram alojadas em aviário experimental de alvenaria, posicionado no sentido Leste-Oeste, dividido por boxes equipados com comedouros tubulares e bebedouros tipo *nipple*, resistências elétricas para aquecimento (250 watts), exaustores e placas evaporativas para auxiliar a troca de ar e resfriamento. Todos os boxes possuíam dimensões de 1,76 m² e o piso foi revestido por maravalha de pinus de primeiro uso. O programa de iluminação seguiu as recomendações do manual da linhagem.

Para a realização do ensaio de desempenho, foram utilizados 900 frangos de corte machos da linhagem Cobb[®] 500, com 1 dia de idade e peso vivo médio de $38,88 \pm 0,44$ gramas, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, 10 repetições e 18 aves por unidade experimental (UE).

Os tratamentos utilizados foram constituídos pela inclusão da farinha de mexilhão dourado (FMD) nas diferentes granulometrias em substituição total ao calcário calcítico das rações, sendo que estas foram ajustadas para as concentrações de Ca e P determinadas no mexilhão dourado analisado.

3.2.2 Dietas Experimentais

Os mexilhões dourados utilizados durante todo o período experimental, foram obtidos de tanques redes, localizado no lago artificial da Usina Hidrelétrica de Itaipu, Porto Mendes – no estado do Paraná, sendo coletado 38 quilos de mexilhão dourado e impurezas, os quais foram secos ao sol por um período de 4 horas, selecionados para retirada de materiais contaminantes como pedras e material vegetal e novamente expostos ao sol por um período de 72 horas. Amostras do mexilhão seco, foram coletadas, e encaminhadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Unioeste para determinação das concentrações de cálcio (Ca) e fósforo (P) e o teor de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM). O mexilhão dourado apresentou 98,44% de MS; 86,53% de MM; 24,60% de Ca e 0,30% P total todos com base na matéria natural. Avaliações microbiológicas, para *Escherichia coli* e *coliformes fecais*, do mexilhão dourado, foram realizadas pelo método de contagem em placas, conforme metodologia ISO 16649-2 (2001), sendo os resultados encontrados menores que $1,0 \times 10$ UFC g⁻¹ para ambas as análises.

Para a obtenção das farinhas de mexilhão dourado utilizadas no estudo, o material coletado e previamente seco foi dividido em quatro porções e moído em moinho do tipo martelo. Para obtenção das quatro (4) diferentes granulometrias foram utilizadas as peneiras de 2, 4, 6 e 8 milímetros. Após a moagem, amostras de cada farinha foram separadas para determinação da granulometria segundo a metodologia de Zanoto & Belaver (1994), sendo realizado no Laboratório de Nutrição Animal da Unioeste. O resultado obtido das granulometrias foram: calcário calcítico (376 μ m), mexilhão dourado moído em peneira 2 (299 μ m), mexilhão dourado moído em peneira 4 (375 μ m), mexilhão dourado moído em peneira 6 (436 μ m) e mexilhão dourado moído em peneira 8 (551 μ m). A solubilidade *in vitro*

(Tabela 1) foi determinado segundo método de perda de peso descrita por Zhang e Coon (1997), adaptada por Kim et al. (2019).

Tabela 1. Solubilidade *in vitro* do calcário calcítico e farinha mexilhão dourado em diferentes tempos

Granulometria	5 minutos	15 minutos	30 minutos
Calcário calcítico 376 µm	55,70	66,15	78,95
FMD 299 µm	65,65	66,80	70,50
FMD 375 µm	61,70	66,85	71,25
FMD 436 µm	57,40	68,50	72,00
FMD 551 µm	62,40	67,30	70,80

Dietas experimentais isoprotéicas e isocalóricas, foram fornecidas na forma farelada e formuladas à base de milho e farelo de soja de acordo com as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2017), para frangos de corte de desempenho médio-regular na fase inicial (1 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 33 dias de idade) e terminação (34 a 42 dias de idade) (Tabela 2).

Assim os tratamentos foram constituídos de: ração controle (calcário calcítico); ração com FMD 299 µm; ração com FMD 375 µm; ração com FMD 436 µm e ração com FMD 551 µm. A FMD foi fornecida durante todo o período experimental (1 a 42 dias de idade).

Tabela 2. Composição percentual e exigências nutricionais das rações experimentais

Ingredientes (g kg ⁻¹)	Inicial		Crescimento		Terminação	
	Calcário	Mexilhão	Calcário	Mexilhão	Calcário	Mexilhão
Milho grão (7,88%)	534,9	528,3	549,1	544,4	596,9	592,5
Farelo de soja (46%)	387,1	388,2	365,0	364,6	329,2	329,3
Óleo de soja degomado	34,30	36,50	46,14	48,00	44,47	46,08
Sal comum	3,90	3,90	3,63	3,63	3,39	3,39
Bicarbonato de sódio	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	17,20	17,00	14,83	14,66	11,03	10,89
Lisina sulfato (54%)	3,90	3,90	3,58	3,62	1,93	1,94
DL-Metionina (98%)	3,70	3,70	3,38	3,40	2,40	2,41
L-Treonina (99%)	1,10	1,10	0,91	0,94	0,16	0,17
L-Valina (98%)	-	-	0,58	0,61	-	-
Suplemento vitamínico ¹	1,20	1,20	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento mineral ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de colina (60%)	0,60	0,60	0,50	0,50	-	-
Antioxidante ³	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,10
Salinomicina 24% ⁴	0,60	0,60	0,20	0,20	-	-
Enramicina 8% ⁵	0,10	0,10	0,06	0,06	-	-
Calcário calcítico	9,00	-	8,49	-	6,99	-
FMD ⁶	-	12,40	-	11,75	-	9,68
Especificações de nutrientes						
EM (kcal kg ⁻¹)	3050	3050	3150	3150	3200	3200
Proteína bruta (g kg ⁻¹)	225,0	225,0	215,5	215,5	201,5	201,5
Lisina digestível (g kg ⁻¹)	13,1	13,1	12,35	12,35	10,67	10,67
Met+cist digestível (g kg ⁻¹)	9,66	9,66	9,14	9,14	7,90	7,90
Treonina digestível (g kg ⁻¹)	8,62	8,62	8,15	8,15	7,04	7,04
Valina digestível (g kg ⁻¹)	9,36	9,36	9,51	9,51	8,40	8,39
Arginina digestível (g kg ⁻¹)	14,13	14,14	13,47	13,44	12,49	12,48
Isoleucina digestível (g kg ⁻¹)	8,75	8,76	8,36	8,34	7,78	7,77
Triptofano digestível (g kg ⁻¹)	2,61	2,61	2,48	2,47	2,30	2,29
Cloro (g kg ⁻¹)	2,99	2,98	2,84	2,83	2,72	2,71
Cálcio (g kg ⁻¹)	9,07	9,07	8,22	8,22	6,61	6,61
Fósforo total (g kg ⁻¹)	6,75	6,75	6,21	6,20	5,41	5,40
Fósforo disponível (g kg ⁻¹)	4,32	4,32	3,84	3,84	3,09	3,09
Sódio (g kg ⁻¹)	2,21	2,21	2,11	2,11	2,01	2,01
Potássio (g kg ⁻¹)	8,80	8,79	8,43	8,41	7,93	7,92

¹Suplemento vitamínico, fase inicial, composição por kg de dieta: Vitamina A (min) 132000 UI; Vitamina D3 (min) 48000 UI; Vitamina E (min) 660 UI; Vitamina K3 (min) 36 mg; Vitamina B1 (min) 27,6 mg; Vitamina B2 (min) 84 mg; Ácido pantotênico (min) 0,144 g; Vitamina B6 (min) 48 mg; Vitamina B12 (min) 300 mcg; Ácido nicotínico (min) 0,72 g; Ácido fólico (min) 24 mg; Biotina (min) 3 mg; Selênio (min) 3,6 mg. ¹Suplemento vitamínico, fase crescimento e terminação, composição por kg de dieta: Vitamina A (min) 110000 UI; Vitamina D3 (min) 40000 UI; Vitamina E (min) 550 UI; Vitamina K3 (min) 30 mg; Vitamina B1 (min) 23 mg; Vitamina B2 (min) 70 mg; Ácido pantotênico (min) 0,12 g; Vitamina B6 (min) 40 mg; Vitamina B12 (min) 250 mcg; Ácido nicotínico (min) 0,6 g; Ácido fólico (min) 20 mg; Biotina (min) 2,5 mg; Selênio (min) 3 mg. ²Suplemento mineral, composição por kg de dieta: Ferro (min) 0,5 g; Cobre (min) 0,1 g; Manganês (min) 0,65 g; Zinco (min) 0,65 g; Iodo (min) 10 mg. ³BHT. ⁴Anticoccidiano. ⁵Melhorador de desempenho. ⁶Farinha de mexilhão dourado, moído em diferentes peneiras.

3.2.3 Desempenho zootécnico

Para a determinação do ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA), todas as aves e ração foram pesadas, aos 21 e 42 dias de idade, a

mortalidade foi registrada diariamente para a realização das correções no consumo de ração e conversão alimentar, de acordo com Sakomura & Rostagno (2016).

3.2.4 Órgãos e rendimento de carcaças e corte

Aos 42 dias de idade, duas aves por UE (n=100), escolhidas por acaso, foram sacrificadas por meio de deslocamento cervical e posteriormente sangria, em conformidade com a resolução CFMV nº 1000/2012 (CFMV, 2012) e Instrução Normativa nº 3 de 17 de janeiro de 2000 da DSA/MAPA (BRASIL, 2000), que estabelece os Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário. Para determinação de rendimento de carcaça, pernas, asa, filé, sassami e peso relativo da gordura abdominal.

O rendimento de carcaça foi determinado dividindo-se o peso absoluto da carcaça eviscerada, sem cabeça, pés e pescoço, pelo peso da ave viva. O rendimento de cortes foi obtido dividindo-se o peso absoluto de cada corte pelo peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal foi constituída pelo tecido adiposo presente ao redor da cloaca, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes, em relação ao peso da ave viva.

3.2.5 Análise óssea

Para avaliar Índice de Seedor, aos 21 e 40 dias de idade uma ave por UE (n=50 por idade), foi eutanaziada, por insensibilização elétrica (eletronarcole) seguida de sangria. Coletadas as pernas (direita e esquerda), identificadas e congeladas a -20°C. Após o descongelamento a 8°C, foram desossados 100 ossos (fêmures e tíbias) obtidos aos 21 e 40 dias de idade, identificados, pesados em balança analítica ($\pm 0,0001$ g) e seus comprimentos foram obtidos com paquímetro digital (precisão de 0,01 mm). Estes valores foram utilizados para o cálculo do Índice Seedor (SEEDOR et al., 1991), dividindo o peso do osso (mg) pelo seu comprimento (mm).

Após a mediação para o índice de Seedor os 100 (por unidade 21 e 40 dias) ossos in natura (fêmures e tíbias) foram utilizados para determinar a densitometria mineral óssea radiográfica (DMO). Esta avaliação foi determinada por imagens radiográficas em comparação com escala de alumínio com 10 graus para 1 mm (penetrômetro). A análise foi realizada na Clínica Odontológica do Hospital Universitário de Cascavel (Unioeste – Campus de Cascavel/PR). As radiografias foram realizadas em equipamento de raio X odontológico (Orthopantomograph OP 300) a 85 kVp, 6,3 mA e 10 s de tempo de exposição.

As imagens foram digitalizadas e analisadas com o programa Adobe Photoshop CS6. Para as avaliações foram consideradas cinco áreas de cada grau do penetrômetro (1 a 5 mm) e os valores obtidos equalizados em uma equação. Conjuntamente foram avaliadas seis áreas de cada osso e o valor obtido foi utilizado na equação para determinar a DMO, expressa em milímetros de alumínio (mmAl).

Os fêmures e as tíbias (n=100), foram submetidos a força de ruptura óssea (FRO), utilizando sonda TA-TPB acoplada a um Texturômetro (CT3 Texture Analyzer, Brookfield). Os ossos, tíbias e fêmures, foram apoiados individualmente pela epífise e aplicado carga de força de 200 kgf na velocidade de 5 mm s⁻¹ na região central de cada osso, segundo metodologia proposta por Broch, et al. (2018).

Após a determinação da resistência óssea, os fragmentos ósseos (n=100) foram identificados e utilizados para a determinação da MS e da MM. Para isso, foram pesados individualmente em balança analítica, levados a estufa à 105°C por 4 horas, e após resfriarem em dessecador, foram novamente pesados e em seguida calcinados em mufla a 600°C/10 horas para obtenção das cinzas.

As amostras foram analisadas de acordo com AOAC (1990), método nº 934.01 para MS e 930.05 para cinzas. Para determinação das concentrações de cálcio e fósforo os métodos utilizados foram: método nº 935.13 e 965.17, respectivamente. Nas cinzas obtidas da calcinação foram adicionados 5 mL de solução HCl (P.A.) e, colocadas em banho de areia (250 °C). Após evaporação parcial da solução de HCl, foi adicionado 10 mL de HCl 1:1, seguindo metodologia descrita por Van Keulen & Young (1977) e adaptada por Carvalho et al. (2013). Ao final do processo de digestão, o conteúdo obtido foi diluído em água deionizada, filtrado em papel filtro quantitativo e transferido para balão volumétrico de 100 mL, sendo seu volume completado. As concentrações dos minerais cálcio e fósforo foram determinados por espectrofotometria e absorção atômica, segundo metodologia proposta por Sarruge & Haag (1974).

3.2.6 Análise sanguíneas

A coleta de sangue, de uma ave por UE (n=50) após jejum de seis horas, foi realizada na veia ulnar aos 40 dias de idade. Utilizou-se sistema a vácuo com tubos contendo anticoagulante (heparina sódica). As amostras foram identificadas e o sangue foi coagulado e centrifugado a 1008g rpm por 10 minutos para obtenção de soro. Este foi armazenado a -20 °C para análises posteriores. Para a realização das análises o soro foi descongelado em

temperatura ambiente, centrifugados a 1008g rpm por 5 minutos, com posterior avaliação do cálcio (Ca), fósforo (P), fosfatase alcalina (FAL), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT). As leituras foram realizadas utilizando o analisador bioquímico automático Selectra ProM da Elitech, em espectrofotômetro automático, com calibração automática e leitura de alta performance (analisador bioquímico flexor EL 200).

3.2.7 Expressão gênica de transportadores intestinais

Para avaliação da expressão gênica, por RT-PCR (reação da transcriptase reversa seguida pela reação em cadeia de polimerase) em tempo real. Aos 40 dias de idade, foi sacrificado uma ave por UE (n=50), para a retirada de um fragmento do intestino delgado (segmento jejuno) para análise de expressão gênica de transportadores intestinais *Transient Receptor Potential Vanilloid 6* (TRPV6), Calbindina D-28k (Protéina ligadora de cálcio induzida pela 1,25(OH)₂D₃), *Plasma Membrane Calcium* (PMCA 1b). A mucosa de cada segmento foi raspada e submetida em solução RNA Later (Invitrogen®) e armazenadas em ultra freezer -80 °C até o momento da análise. A análise foi realizada no Laboratório de Tecnologia da Reprodução de Animais Aquáticos Cultiváveis, (laboratório de Biologia Molecular) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, Campus de Toledo.

A extração foi realizada seguindo as recomendações do fabricante, segundo kit comercial Qiazol (Qiagen®), e posteriormente diluído em água ultrapura livre de DNase e RNase (Invitrogen®, Carlsbad CA, USA). Para avaliar a quantificação e concentração total de RNA, as amostras foram avaliadas utilizando aparelho em espectrofotômetro (Nanodrop Lite, Thermo Fisher Scientific®). A integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose 1%, corado com SYBR *Safe*TM DNA Gel Stain (Invitrogen®, Carlsbad CA, USA) e visualizado em aparelho transiluminador com luz ultravioleta.

Para remoção de possíveis resíduos de DNA genômico, as amostras de RNA foram tratadas com *QuantiNova gDNA Removal Mix* (Quiagen GmbH®), conforme instruções do fabricante. Após remoção do DNA genômico, foram utilizados 5 µg de RNA para síntese do cDNA utilizando kit *QuantiNova reverse transcription* (Quiagen GmbH®), de acordo com as instruções do fabricante. As análises de qPCR foram realizadas em duplicata e conduzidas utilizando um Rotor Gene, utilizando o kit *QuantiNova SYBR Green* (Qiagen®).

Para avaliar por PCR em tempo real (qRT-PCR) os genes (TRPV6, Calbindina D-28k, PMCA 1b) foram desenhados primers de acordo com as sequências depositados no site www.ncbi.nlm.nih.gov para aves. Para controle endógeno, foi utilizado o gene da β -actina (Tabela 3).

Tabela 3. Sequência dos oligonucleotídeos indicadores (S: oligonucleotídeo iniciador “sense”
A: oligonucleotídeo iniciador “antisense”)

Genes	Sequência	Tamanho do amplicon (pb)	Nº acesso
TRPV6 ¹	S 5'ATGACCAGAGCAAAGAGGGACCAA 3' A 5'TCCGCCTCTGCATGAGGTATTGA 3'	127	006088.5
Calbindina D-28K ²	S 5'GGGAATGGCTACATCGAAGGCAAA 3' A 5'TGAACTCCTTCATCTTGTCGCCCA 3'	121	006098.5
PMCA 1b ³	S 5'AGGAGCAGCAATCCTCCTTTCTGT 3' A 5'TGTTCAATACGGCTCTGCAGTCCT 3'	105	006088.5

¹*Transient Receptor Potential Vanilloid 6*; ²Protéina ligadora de cálcio induzida pela 1,25(OH)₂D₃; ³*Plasma Membrane Calcium*.

Os resultados da qRT-PCR foram transformados conforme sugerido por Coble et al. (2011), calculando o Cycle threshold (Ct) ajustado:

Ct ajustado = 40 – [(Ct médio do gene alvo) + (Ct mediano do gene endógeno – Ct médio do gene endógeno) × (slope do gene alvo/ slope do gene endógeno)].

3.2.8 Análise estatística

Os efeitos dos tratamentos foram verificados por meio de análise de variância (ANOVA) e quando significativa utilizou-se a análise de regressão polinomial para estimar o efeito das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado. Além disso, para a comparação com o tratamento controle (fonte padrão) foi utilizado teste de Dunnett. O nível de significância adotado em todos os testes de hipóteses foi de alfa = 0,05. O software estatístico utilizado para as avaliações foi o SAS® University Edition (2017).

4. RESULTADOS

Os resultados de desempenho aos 7 dias de idade, foram semelhantes para o uso de calcário calcítico e a farinha de mexilhão dourado, independente da granulometria utilizada. Aos 21 dias de idade, houve efeito dos tratamentos sobre o ganho de peso ($P = 0,041$) e conversão alimentar ($P = 0,009$), sendo que a utilização da farinha de mexilhão de 551 μ m proporcionou a pior CA quando comparado com o tratamento controle (Tabela 4). O uso de diferentes granulometrias da FMD proporcionou resposta quadrática para ganho de peso ($P = 0,030$; Figura 1), com ponto de máxima de 417,67 μ m e resposta estimada de 977,39g para máximo ganho CA ($P = 0,025$; Figura 2), ponto de mínima de 397,19 μ m e resposta estimada de 1,215 $g\ g^{-1}$ para melhor CA.

A FMD em diferentes granulometrias pode ser utilizada nas rações de frangos de corte de 1 a 35 e 1 a 42 dias de idade sem que haja efeitos negativos no desempenho das aves. Desta forma, o uso contínuo da FMD de 1 a 42 dias de idade, não influenciou os resultados das variáveis de desempenho avalía (Tabela 4).

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 42 dias alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	1 a 7 dias de idade			1 a 21 dias de idade			1 a 35 dias de idade			1 a 42 dias de idade		
	CMR	GP	CA	CMR	GP	CA	CMR	GP	CA	CMR	GP	CA
Controle	123	105	1,176	1167	965	1,209	2885	2238	1,289	4431	3161	1,401
FMD 299 μ m	120	105	1,153	1180	958	1,235	2860	2180	1,313	4458	3126	1,426
FMD 375 μ m	126	108	1,181	1184	979	1,209	2924	2236	1,308	4590	3218	1,426
FMD 436 μ m	121	104	1,162	1191	973	1,223	2894	2226	1,302	4457	3142	1,418
FMD 551 μ m	120	105	1,152	1196	955	1,253*	2900	2231	1,301	4481	3128	1,421
EPM	5,50	6,94	0,07	28,62	19,84	0,03	94,67	62,65	0,04	174,43	107,37	0,03
CV (%)	4,51	6,60	5,79	2,42	2,05	2,46	3,27	2,82	2,99	3,89	3,40	2,40
¹ P (Dunnett)	0,116	0,667	0,819	0,224	0,041	0,009	0,666	0,228	0,710	0,295	0,303	0,461
² P (Regressão)	0,077	0,586	0,784	0,615	0,030 ³	0,025 ⁴	0,510	0,200	0,909	0,293	0,210	0,943

CMR = consumo médio de ração (g); GP = ganho de peso (g); CA = conversão alimentar ($g\ g^{-1}$); EPM = erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação;

¹Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

³Equação Quadrática: $GP_{21} = 747,6146781 + 1,1003002x - 0,0013172x^2$; $R^2 = 0,92$.

⁴Equação Quadrática: $CA_{21} = 1,471902035 - 0,001291668x + 0,000001626x^2$; $R^2 = 0,91$.

*Médias seguidas de *, diferem do tratamento controle pelo teste de dunnett a 5%.

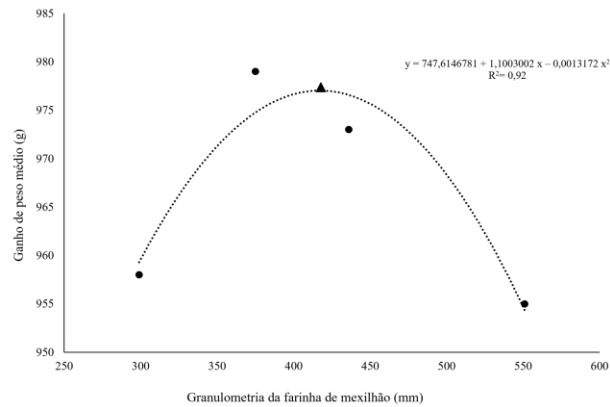


Figura 1. Ganho de peso de frangos de corte em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

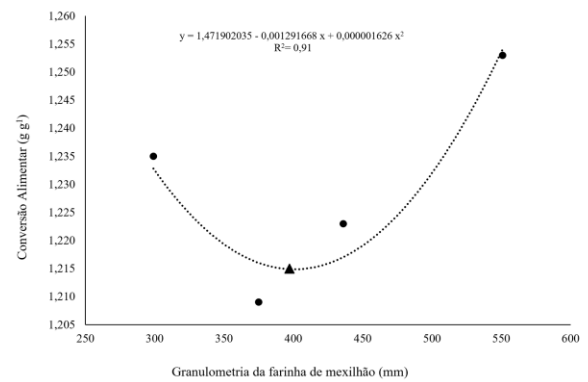


Figura 2. Conversão alimentar de frangos de corte em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

Para o rendimento de carcaça e cortes, o uso da FMD não afetou nenhuma das variáveis avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5. Teor percentual (%) de rendimento de carcaça, cortes e peso relativo da gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	RCQ	RQF	Pernas	Asas	Filé	Sassami	GA
Controle	67,67	68,43	31,84	9,43	27,25	5,58	1,07
FMD 299 µm	68,79	69,55	31,24	9,34	27,74	5,48	0,95
FMD 375 µm	68,92	69,70	31,91	9,34	28,11	5,68	0,99
FMD 436 µm	68,00	68,88	30,86	9,27	28,02	5,42	1,06
FMD 551 µm	68,71	69,47	31,53	9,48	28,07	5,46	1,12
EPM	1,34	1,34	1,01	0,77	1,14	0,39	0,19
CV (%)	1,96	1,94	3,20	8,18	4,11	7,08	18,18
¹ P (Dunnett)	0,188	0,222	0,162	0,977	0,437	0,601	0,299
² P (Regressão)	0,494	0,608	0,189	0,948	0,894	0,522	0,249

RCQ: Rendimento de carcaça quente; RCF: Rendimento de carcaça fria; GA: Gordura abdominal; EPM = erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação.

¹Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

Os parâmetros bioquímicos séricos das aves avaliados aos 40 dias de idade não foram influenciados pelo uso da FMD em diferentes granulometrias, entretanto a atividade enzimática para AST foi maior nas aves que consumiram FMD com granulometria de 436 µm quando comparadas com as aves que receberam a ração com calcário calcítico (Tabela 6).

Tabela 6. Perfil bioquímico sérico de frangos de corte aos 40 dias de idade alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	Cálcio (mg dL ⁻¹)	Fósforo (mg dL ⁻¹)	ALT (IU l ⁻¹)	AST (IU l ⁻¹)	FAL (U L ⁻¹)	GGT (IU l ⁻¹)
Controle	9,30	6,16	7,41	347	6,72	14,13
FMD 299 µm	8,01	6,15	9,75	373	8,53	13,59
FMD 375 µm	7,29	5,67	10,90	426	6,49	13,91
FMD 436 µm	9,31	6,39	9,90	473*	7,68	11,74
FMD 551 µm	7,51	5,58	8,73	424	8,05	17,25
EPM	2,44	1,18	3,25	95,60	3,10	4,32
CV (%)	29,40	19,73	34,35	23,46	41,18	31,16
¹ P (Dunnett)	0,263	0,537	0,258	0,046	0,766	0,211
² P (Regressão)	0,383	0,457	0,703	0,180	0,740	0,134

ALT: Atividade da alanina aminotransferase; AST: Atividade da aspartato aminotransferase; FAL: Atividade da fosfatase alcalina; GGT: GamaGT (GGT); EPM: erro padrão da média; CV (%): coeficiente de variação.

¹Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

*Médias seguidas de * diferem do tratamento controle pelo teste de dunnett a 5%.

Para os resultados de índice de Seedor, somente os obtidos com as aves recebendo a ração com a FMD moído na peneira 375 µm, apresentaram diferença significativas, a qual foi encontrado maior índice de Seedor, na tíbia aos 21 dias de idade (P = 0,0445), comparada àquelas que receberam a ração controle (Tabela 7).

Os valores de densitometria óssea (DMO) e de resistência óssea, não apresentaram diferenças estatísticas pelo uso da FMD em diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado, aos 21 e 40 dias de idade (Tabela 7).

Tabela 7. Índice de Seedor (mg mm^{-1}), densitometria óssea (mmAl) e Resistência óssea (kgf mm^{-1}) do fêmur e tíbia de frangos de corte aos 21 e 40 dias de idade alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	Índice de Seedor (mg mm^{-1})				Densitometria óssea (mmAl)				Resistencia óssea (kgf mm^{-1})			
	21 dias		40 dias		21 dias		40 dias		21 dias		40 dias	
	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia
Controle	99,73	94,48	217,55	219,71	5,21	4,96	6,24	5,81	20,36	16,67	29,85	35,35
FMD 299 μm	91,83	90,77	225,48	217,77	5,03	4,83	6,21	5,93	20,47	17,62	33,90	33,31
FMD 375 μm	97,42	96,61*	220,52	220,87	4,99	4,82	6,23	6,08	20,50	16,56	26,90	34,79
FMD 436 μm	92,95	90,00	217,86	219,86	4,96	4,78	6,30	5,87	21,14	15,75	32,45	33,49
FMD 551 μm	93,88	90,34	221,82	226,41	5,05	4,84	6,02	5,91	21,57	14,87	29,43	36,56
EPM	7,09	5,70	17,39	18,09	0,23	0,23	0,35	0,30	4,46	3,62	6,73	9,11
CV (%)	7,45	6,17	7,88	8,19	4,62	4,84	5,72	5,08	21,65	22,20	22,04	26,28
¹ P (Dunnnett)	0,0881	0,0443	0,8449	0,8750	0,1563	0,5153	0,5379	0,3842	0,9957	0,5184	0,1801	0,9325
² P (Regressão)	0,3988	0,0555	0,8275	0,7558	0,683	0,9089	0,3764	0,4553	0,9862	0,3900	0,1337	0,8449

EPM: erro padrão da média; CV (%): coeficiente de variação.

¹Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnnett ($P < 0,05$).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

*Médias seguidas de * diferem do tratamento controle pelo teste de dunnnett a 5%.

A utilização da FMD na granulometria 299 μm e 375 μm proporcionou maior teor de MS ($P = 0,0096$) e MM ($P = 0,0469$), respectivamente, nos fêmures das aves aos 21 dias de idade quando comparado com os ossos das aves que receberam a ração referência com calcário calcítico (Tabela 8). As variáveis nos ossos dos fêmures aos 40 dias de idade não foram influenciadas pelo uso da FMD.

A utilização da FMD na granulometria 299 μm e 551 μm proporcionou maior teor de MS ($P = 0,0017$) e menor teor de MM ($P = 0,0479$), respectivamente nas tíbias das aves aos 21 dias de idade quando comparado com os ossos das aves que receberam a ração com calcário calcítico. Os ossos da tíbia avaliados aos 40 dias de idade das aves que receberam FMD em qualquer granulometria apresentaram maiores teores de MS ($P < 0,001$), comparadas as aves recebendo dietas contendo calcário calcítico. Aves alimentadas com FMD 375 μm , apresentaram menor teor de MM na tíbia ($P = 0,0273$), quando comparada as aves recebendo calcário calcítico, pelo teste de Dunnnett.

Tabela 8. Teor percentual (%) de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) no fêmur e tíbia de frangos de corte aos 21 e 40 dias de idade alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	Fêmur				Tíbia			
	21 dias		40 dias		21 dias		40 dias	
	MS	MM	MS	MM	MS	MM	MS	MM
Controle	35,37	39,38	39,09	35,72	35,22	42,13	39,29	39,90
FMD 299 μm	37,13*	40,52	39,71	37,76	37,61*	40,61	42,43*	38,92
FMD 375 μm	36,19	41,51*	39,04	37,87	36,71	41,60	55,39*	37,51*
FMD 436 μm	36,10	40,63	39,26	37,29	36,15	40,54	54,86*	39,08
FMD 551 μm	35,75	39,45	38,50	36,36	34,90	39,79*	55,94*	39,74
EPM	1,07	1,74	1,15	1,85	1,54	1,81	2,30	1,78
CV (%)	2,95	4,33	3,69	4,99	4,26	4,42	4,65	3,77
¹ P (Dunnett)	0,0096	0,0469	0,4976	0,0560	0,0017	0,0470	<0,0001	0,0273
² P(Regressão)	0,0671	0,0694	0,4095	0,2975	0,0019 ³	0,1226	<0,0001 ⁴	0,0431 ⁵

MS: matéria seca; MM: matéria mineral; EPM: erro padrão da média; CV (%): coeficiente de variação.

¹ Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

³ Equação Linear: $MS_{21} = 40,76787935 - 0,01066193x$; $R^2 = 0,99$.

⁴ Equação Quadrática: $MS_{40} = -45,37002792 + 0,43049362x - 0,00044904x^2$; $R^2 = 0,91$.

⁵ Equação Quadrática: $MM_{40} = 48,81240379 - 0,05558594x + 0,0000716 x^2$; $R^2 = 0,59$.

*Médias seguidas de * diferem do tratamento controle pelo teste de dunnett a 5%.

A utilização de diferentes granulometrias da FMD sem a inclusão de calcário calcítico apresentou efeito quadrático para o teor de MS aos 40 dias ($P < 0,0001$; Figura 3), com ponto de máxima de 479,35 μm e resposta estimada de 51,81% de MS. Para MM a utilização da farinha na granulometria de 375 μm apresentou efeito quadrático aos 40 dias ($P = 0,0431$; Figura 4), com ponto de mínima 388,17 μm e resposta estimada de 38,28% de MM.

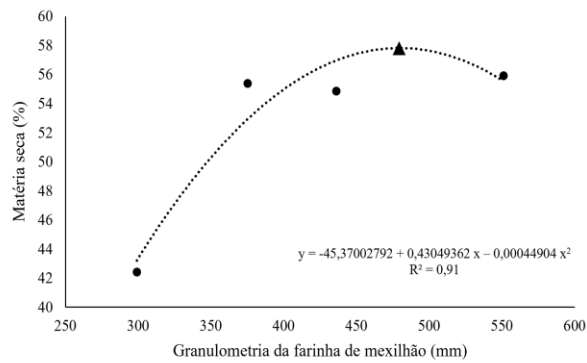


Figura 3. Matéria seca da tíbia de frangos de corte aos 40 dias de frangos de corte em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

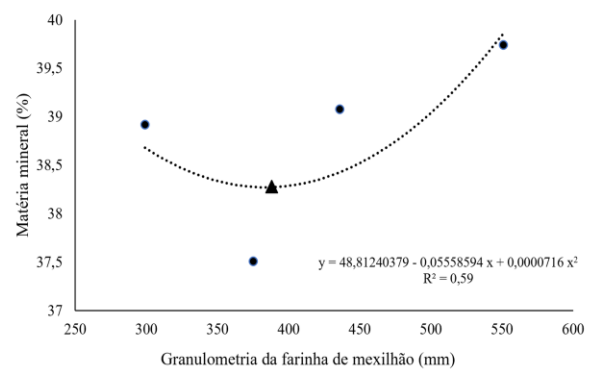


Figura 4. Matéria mineral da tíbia de frangos de corte aos 40 dias de frangos de corte em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

Para concentração de Ca no fêmur e tíbia aos 21 dias de idade, não houve diferença significativa. Entretanto a concentração de Ca no fêmur aos 40 dias de idade, apresentou efeito significativo ($P = 0,0036$), para as aves alimentadas com as granulometrias 299, 436 e 551 μm de FMD sendo inferiores aos do tratamento controle (Tabela 9). Para tíbias aos 40 dias de idade não houve diferença na concentração de Ca.

A concentração de P no fêmur e tíbia aos 21 dias não foi afetada pela FMD, tanto quando comparada ao tratamento controle, quando comparado às granulometrias da FMD entre si (Tabela 9). Aos 40 dias de idade foi verificado efeito na concentração de P no fêmur das aves, em que, comparando-se a FMD com o tratamento controle foi observado maior concentração de P para as aves alimentadas a granulometria de 375 μm ($P = 0,0030$) e quando testado somente as granulometrias da FMD foi observado efeito quadrático ($P = 0,0029$; Figura 5) com ponto de máxima de 337,56 μm e resposta estimada de 5,90% de P. Para tíbia aos 40 dias, a concentração de P foi afetada pela utilização da FMD, em que o uso da granulometria de 299 μm apresentou maior teor e as demais granulometrias apresentaram menor concentração quando comparados ao uso do calcário calcítico ($P < 0,0001$). Ao se avaliar somente as granulometrias da FMD verificou-se efeito quadrático para a concentração de P na tíbia aos 40 dias ($P < 0,0001$; Figura 6), com ponto de mínima de 473,02 μm e resposta estimada de 6,35% de P.

Tabela 9. Concentração de cálcio e fósforo (%) do fêmur e tíbia de frangos de corte aos 21 e 40 dias de idade alimentados com dietas contendo farinha de mexilhão dourado (FMD) em diferentes granulometrias

Tratamentos	Cálcio				Fósforo			
	21 dias		40 dias		21 dias		40 dias	
	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia	Fêmur	Tíbia
Controle	12,17	15,47	15,19	18,21	8,65	10,23	5,13	9,20
FMD 299 μm	13,26	14,87	13,72*	18,46	8,90	9,13	5,75	10,61*
FMD 375 μm	12,66	15,14	13,98	17,22	9,01	10,03	6,28*	7,11*
FMD 436 μm	12,39	15,94	13,35*	17,74	9,41	9,46	5,40	6,98*
FMD 551 μm	12,71	15,32	12,91*	17,36	9,11	9,53	5,24	7,08*
EPM	1,00	1,15	1,26	1,33	0,92	0,98	0,68	0,79
CV (%)	7,92	7,48	9,08	7,47	10,16	10,12	12,16	9,65
¹ P (Dunnett)	0,1741	0,3148	0,0036	0,2013	0,4623	0,0978	0,0030	<0,0001
² P (Regressão)	0,3522	0,2346	0,1420	0,2181	0,6403	0,2916	0,0029 ³	<0,0001 ⁴

EPM: erro padrão da média; CV (%): coeficiente de variação.

¹Anova realizada com os 5 tratamentos, sendo as médias comparadas ao tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05).

²Anova realizada sem o tratamento controle.

³Equação Quadrática: $FF_{40} = 4,058229942 + 0,01091725x - 0,000016171x^2$; $R^2 = 0,52$.

⁴Equação Quadrática: $FT_{40} = 36,65674263 - 0,12816113x + 0,00013547x^2$; $R^2 = 0,94$.

*Médias seguidas de * diferem do tratamento controle pelo teste de dunnett a 5%.

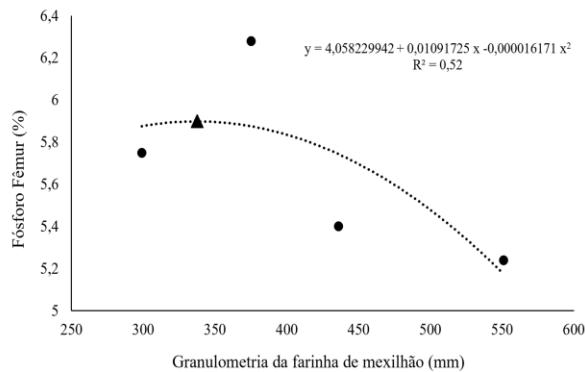


Figura 5. Concentração de fósforo em fêmur de frangos de corte aos 40 dias em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

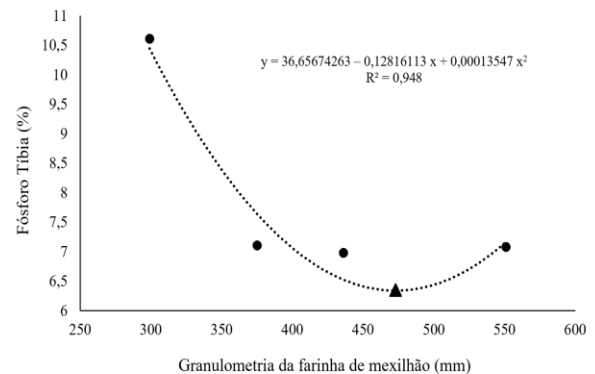


Figura 6. Concentração de fósforo em tíbia de frangos de corte aos 40 dias em função das diferentes granulometrias da farinha de mexilhão dourado.

Os resultados de expressão gênica após o processo de extração, todas as amostras de intestino (jejuno) apresentaram o RNA integro (Figura 7). Contudo, os primers selecionados para realizar as reações em qRT-PCR apresentaram baixa especificidade e por isso não foi possível realizar a quantificação relativa dos genes TRPV6¹, Calbindina D-28k², PMCA 1b³.

Portanto, o desenho de novos primers estão atualmente sendo realizados, os quais serão submetidos aos testes de eficiência e finalmente utilizados nas reações de qRT-PCR.

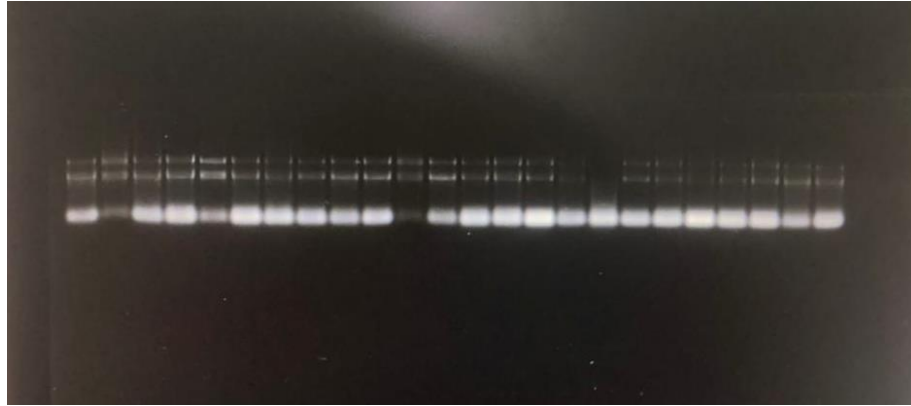


Figura 7. Gel de agarose para quantificação de RNA na porção do jejuno em aves com 40 dias de idade.

5. DISCUSSÃO

Em concordância com o presente estudo, Vipiana et al. (2015), substituindo calcário por diferentes níveis de casca de sururu na dieta de codornas de corte, no período de 1 a 35 dias de idade, não observaram diferença estatística no desempenho das aves. Assim como Carlos et al. (2011), ao adicionarem alga calcária na dieta de aves de corte de 1 a 42 dias de idade, não observaram diferença no desempenho produtivo. Fontes alternativas de Ca de origem aquática apresentam absorção e metabolização semelhantes ao calcário, sendo uma alternativa que não causa prejuízo no desempenho das aves.

No presente estudo com FMD até os 21 dias de idade, as aves apresentaram melhor GP e CA, comparadas às aves recebendo calcário calcítico na dieta. Somente para FMD de 551 μm houve efeito sobre as respostas animais, sendo encontrado os piores resultados para CA. Ao contrário de Wachholz et al. (2019), que ao substituírem o calcário pelo FMD nas dietas de frangos de corte, não encontraram diferenças para o desempenho das aves de 14 a 42 dias de idade entre os tratamentos.

Segundo Muniz et al. (2007), a granulometria influencia a permanência da digesta na moela e o tempo de trânsito no aparelho digestório. Quanto maior o tempo de permanência da fonte de Ca no sistema digestório, maior se torna a sua disponibilidade (BRETAS; TOMAZELLI, 2018) e elevados níveis de Ca na dieta diminuem a absorção de manganês, zinco e P (SCHOULTEN et al., 2002), atrelado ao fato do intestino estar em desenvolvimento até os 16 dias de idade das aves (SANTOS et al., 2012), que foi a maior parte do período avaliado, podem ter sido os motivos da pior CA apresentada pelas aves que receberam a FMD em maior granulometria.

Aos 35 e 42 dias a utilização de FMD em diferentes granulometrias não influenciou o CMR, GP e CA das aves. Leão et al. (2020), ao determinarem os coeficientes de digestibilidade e a biodisponibilidade relativa de fontes orgânicas de Ca (conchas de sururu, maçunim e ostra) em codornas, não encontraram diferença no CR, GP e CA.

Bayerle et al. (2019), substituindo o calcário calcítico pelo mexilhão dourado como fonte de Ca em dieta de frangos de corte, bem como verificando a possível contaminação por metais tóxicos, concluíram que o mexilhão dourado é uma fonte alternativa de Ca segura para aves, resultando em redução de custos com sua utilização na ração animal. Neste trabalho, foi observado que a substituição de 100% da fonte comum de cálcio (calcário) pelo alternativo

(mexilhão dourado) em dietas de frangos de corte de 21 a 42 dias, pode ser realizada, sem comprometer o desempenho das aves.

No presente estudo não houve diferença para as variáveis de rendimento de carcaça e peso da gordura abdominal. Estes dados corroboram com Bayerle et al. (2019), que não encontraram diferença significativa ao substituir o calcário pela FMD na dieta de frangos de corte entre 21 e 42 dias de idade para esses mesmos parâmetros, indicando a viabilidade da substituição do calcário por esta fonte alternativa de Ca.

O perfil bioquímico sérico reflete as respostas fisiológicas, através das quais podemos avaliar o metabolismo e saúde do animal, possibilitando interpretação e ajustes referentes aos alimentos ingeridos (YARI et al., 2014).

Aos 40 dias, a atividade enzimática de AST (aspartato aminotransferase) foi maior nas aves do tratamento com FMD de 436 µm. A AST é uma enzima sintetizada pelo fígado, e em níveis elevados podem indicar problema no fígado e lesões musculares, outros parâmetros devem ser levados em consideração, visto que não foram observadas outras alterações (TRAESEL et al., 2011). Entretanto, os valores encontrados para esta enzima estão dentro da normalidade, de acordo com dados apresentados por Nunes et al. (2016), o que indica que as aves não apresentavam problemas hepáticos.

Os demais parâmetros bioquímicos séricos avaliados não sofreram influência dos tratamentos e se encontram dentro das faixas consideradas normais para frangos de corte segundo Nunes et al. (2018). Resultados semelhantes foram encontrados por Wang et al. (2014), que testaram a influência do tamanho das partículas e fontes de Ca (calcário e conchas de ostras) em patos frente as variáveis plasmáticas, Ca e P séricos e a atividade da fosfatase alcalina, não encontrando diferença significativa.

Os resultados referentes aos parâmetros bioquímicos séricos com o uso da FMD em diferentes granulometrias em frangos de corte, indicou segurança alimentar, ou seja, não ocorreu intoxicação ou alterações que afetam negativamente o metabolismo nas aves.

O índice de Seedor apresentou-se maior nas aves alimentadas com granulometria 375 µm em tíbias, aos 21 dias de idade, sendo o valor significativo quando comparado com o tratamento controle. O que demonstra que esta granulometria proporcionou maior deposição de Ca nos ossos da tíbia, possivelmente pelo maior tempo gasto na sua digestão, o que acarreta maior disponibilidade do Ca.

Estes resultados são em parte semelhantes aos encontrados por Bayerle et al. (2017), que analisando os valores de índice de Seedor e resistência óssea da tíbia de frangos de corte com 1 a 21 dias de idade, alimentados com FMD, não obtiveram diferenças entre os

tratamentos. Esse resultado permite concluir que a saúde óssea não foi afetada pela substituição da fonte de Ca. Assim como Vipiana et al. (2015), ao testarem diferentes níveis de casca de sururu em substituição de calcário, observaram que não houve diferença na mineralização óssea dos animais que receberam o aditivo orgânico, viabilizando a substituição por tal composto sem reduzir a rigidez óssea, pois supriu a necessidade efetiva de calcificação.

Em avaliação radiográfica de DMO não foi observado diferença nas fases analisadas no presente estudo, confirmando que não houve alteração na estrutura esquelética das aves com o uso da FMD como fonte de Ca.

Segundo Barreiro et al. (2009) ao avaliarem os valores densitométricos e bioquímicos de tíbias em frangos de corte com diferentes idades, concluíram que nas fases de crescimento e final a exigência mineral da tíbia é maior, levando ao aumento dos valores MM aos 22 dias de idade. Araújo et al. (2006) avaliaram a densitometria óssea em diferentes níveis de aminoácidos e de Ca em frangos de corte. Utilizando rações com 75% e 100% de Ca conforme recomendações da NRC (1994) não foi observado diferenças de densidade óssea na tíbia das aves testadas.

As granulometrias da FMD na avaliação dos ossos, apresentaram efeito para fêmur aos 21 e 40 dias de idade, para MS e MM. Assim como no teor de MS e MM das tíbias neste mesmo período, quando comparados com o calcário calcítico.

A FMD a 299 μm ocasionou maior teor de MS em tíbia aos 21 dias, enquanto a granulometria de 551 μm ocasionou diminuição significativa de MM, ou seja, o aumento na granulometria da farinha resultou na diminuição da MM. Esse resultado difere do encontrado por Bayerle et al. (2017), que ao avaliarem o efeito da substituição de calcário por FMD não encontraram diferença significativa para MM nos tratamentos testados em aves de 1 a 21 dias de idade. Leão et al. (2020) ao investigarem a MM a partir de diferentes fontes orgânicas de Ca (conchas de sururu, maçunim e ostra) em codornas também não encontraram diferença nos tratamentos testados aos 21 dias.

Esses resultados podem ser explicados devido a granulometria. Granulometrias menores apresentam maior impacto no processo digestivo e na função intestinal, pois a área de superfície de contato é aumentada, o que pode ocasionar melhor eficiência da digestão e da absorção dos nutrientes (Liu et al., 2015).

Ao avaliar o teor de MS em tíbia aos 40 dias, o uso de calcário calcítico apresentou um menor valor em comparação com as demais granulometrias de FMD. Comparado ao tratamento controle, o teor de MM aos 40 dias apresentou redução nas aves alimentadas com

FMD a 375 μm . Discordando, estudos mais recentes de Bayerle et al. (2019), observaram que o teor de MM na substituição de calcário por FMD não foi diferente para aves aos 42 dias de idade. Assim como Carlos et al. (2011), ao compararem o calcário calcítico com a alga *Lithothamnium calcareum* como fonte orgânica alternativa de Ca em rações de aves de corte entre 1 e 42 dias de idade não observaram efeito dos tratamentos para nenhuma das variáveis de desempenho, crescimento ósseo e na MM e Cordeiro et al. (2017), avaliaram poedeiras alimentadas com minerais orgânicos e inorgânicos e três tamanhos de partículas de calcário e também não encontraram significância para MM da tíbia.

Ao avaliar a concentração de Ca e P do fêmur e tíbia de frangos de corte aos 21 dias de idade não houve diferença significativa para os tratamentos com calcário e FMD e quando comparado com as diferentes granulometrias. Esses resultados são consistentes com os encontrados por Bayerle et al. (2017) que demonstraram que a disponibilidade de Ca e P nas dietas a base de calcário e FMD não afetam sua deposição nos ossos das aves na fase inicial.

Para concentração de Ca em fêmur e tíbia aos 40 dias de idade foi observado efeito significativo. Nos tratamentos com a granulometria 299, 436 e 551 μm foram observados valores inferiores de Ca comparado com o tratamento controle. Já ao comparar as granulometrias da FMD entre si não foi observado efeito desse parâmetro sobre a concentração de Ca no fêmur e tíbia aos 40 dias de idade. Bayerle et al. (2019) não encontraram diferença para a concentração de Ca na substituição do calcário pela FMD. Estudos de Reis et al. (2012) e Moura et al. (2020) demonstraram que a porcentagem de Ca na tíbia de codornas com substituição de calcário por pó de casca de ovo não foi influenciada, mantendo eficiência e integridade dos ossos. Estes resultados podem indicar que a disponibilidade de Ca na FMD foi menor que a do calcário calcítico utilizado.

A concentração de P aos 40 dias em fêmur das aves apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Comparando a FMD com o tratamento controle foi possível observar maior concentração de P para as aves alimentadas com FMD a 375 μm . Para tíbia aos 40 dias, a concentração de P foi afetada pela utilização da FMD, em que o uso da granulometria de 299 μm apresentou maior teor e as demais granulometrias apresentaram menor concentração quando comparados ao uso do calcário calcítico. Para Bayerle et al. (2019) os frangos de corte aos 42 dias não apresentaram diferença estatística para a concentração de P.

Na avaliação óssea, Alves et al. (2015) ao substituírem minerais orgânicos por inorgânicos testando duas granulometrias de calcário, observaram alterações significativas para as variáveis MM, Ca e P. Wang et al. (2014), observaram que partículas de maior

tamanho aumentam a resistência a ruptura da tíbia, peso seco e teor de Ca na tíbia desengordurada, e a inclusão de calcário em vez de conchas de ostra aumentou a resistência a ruptura das tíbias, mas não influenciou as outras características, obtendo melhores índices pelo uso de calcário de partículas grandes em estudo com patas poedeiras com diferentes tamanhos de partículas e fontes de Ca na avaliação de parâmetros ósseos.

Os resultados encontrados nesta pesquisa podem ter ocorrido em função da fonte de Ca escolhida, pois fontes de origem animal apresentam menor biodisponibilidade do Ca que as fontes minerais, atrelado ao fato de que fontes de Ca que possuem P em sua composição são responsáveis por menor deposição de cinzas nos ossos, quando comparadas a fontes exclusivas deste mineral, devido a menor biodisponibilidade nutricional de Ca para as aves (MUNIZ et al., 2007).

6 CONCLUSÃO

A farinha de mexilhão dourado pode ser utilizada como fonte inorgânica de origem marinha de cálcio e em diferentes granulometrias para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade, sem ter efeito negativo sobre o desenvolvimento ósseo e desempenho das aves.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R.T.; RIEVAJ, J.; DIMKE, H. Transporte de cálcio paracelular através dos epitélios renais e intestinais. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 92, n. 6, p.467-480, 2014.
- ALVES, M.G.M.; BASTOS-LEITE, S.C.; GOULART, C.C.; SILVA, J.D.B.S.; MEDEIROS, F.M. Substituição dos minerais inorgânicos por orgânicos e duas granulometria de calcário na dieta de poedeiras comerciais leves. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 36, p.128-135, 2015.
- ANWAR, M. N.; RAVINDRAN, V.; MOREL, P. C. H.; RAVIDRAN, G.; COWIESON, A. J. Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 224, p. 39-45, 2017.
- ARAÚJO, C.S.S.; BARALDI-ARTONI, S.M.; ARAÚJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M.; LOUZADA, M.J.Q.; OLIVEIRA, D. Densidade óssea de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de aminoácidos e cálcio durante a fase final de criação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 2, p. 203-208, 2006.
- ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, C.B.; DE OLIVEIRA, E.R.A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v. 2, p. 53-60, 2008.
- ARRUDA, A.B.; BORGES, A.P.C.; OLIVEIRA, J.C. Deformidade óssea causadas pela carência de cálcio em aves de corte. **Científic@-Multidisciplinary Journal**, v. 21, n. 1, p. 58-70, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. 1990. **Official methods of analysis**. 17 th ed. AOAC, Gaithersburg.
- BALDO, G.A.A.; PAZ, I.C.L.A.; GARCIA, E.A.; MOLINO, A.B.; ALMEIDA, I.C.L. Productivity and bone quality of broilers supplemented with vitamin d (25-O HD₃). **Revista Energia na Avicultura**, v. 32, n. 4, p. 364-371, 2017.
- BARREIRO, F.R.; SAGULA, A.L.; JUNQUEIRA, O.M.; PEREIRA, G.T.; Baraldi-Artoni, S. M. Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. **Poultry Science** **Poultry Science**. v. 88, p. 2644-2648, 2009
- BAYERLE, D.F.; NUNES, R.V.; JUNIOR, A.C.G.; WACHHOLZ, L.; SCHERER, C.; DA SILVA, I.M.; VARGAS JUNIOR, J.G. Golden mussel (*Limnoperna fortunei*) in feed for broiler chicks using tannin as a sequestrant of toxic metals. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 843-854, 2017.
- BAYERLE, D.F.; NUNES, R.V.; WACHHOLZ, L.; BRUXEL, T.M.O.; VARGAS JUNIOR, J.G.; SANGALLI, G.; GIRON, T.V.; SCHONE, R.A. Use of golden mussel and wattle tannin in the supply of cut chickens. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 5, p. 1951-1964, 2019.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de Monogástricos**, Lavras: Editora UFLA – Mg, 2012, p.255.

- BERTECHINI, A.G.; FASSANI, E.J. Macro minerais na alimentação animal. In: Simpósio Sobre Ingredientes Na Alimentação Animal, n. 1, 2001, Campinas. **Anais...**Campinas: CBNA, 2001. p.219-234.
- BORGES, L.L.; BARALDI-ARTONI, S.M. Densidade mineral óssea na produção de frangos de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, n. 5, p.1-14, 2010.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L. P.; SAITO, M. E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p.675-677, 2006.
- BRASIL. Conselho federal de medicina veterinária – CFMV. Atribuições lhe conferidas pelo artigo 16, alínea “F”, Lei nº 5,517, de 23 de outubro de 1968. Resolução Nº 1000, Instrução Normativa nº 3 de 17 de janeiro de 2000 da **DSA/MAPA**, 2000.
- BRETAS, A.A.; TOMAZELLI, V. A importância da granulometria do calcário na produção e qualidade externa do ovo de aves de reposição: revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 4, n. 4, p. 1435-1448, 2018.
- BROCH, J.; NUNES, R.V.; EYNG, C.; PESTI, G.M.; SOUZA, C.; SANGALLI, G.G.; FASCINA, V.; TEIXEIRA, L. High levels of dietary phytase improves broiler 5 performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 244, p. 56-65, 2018.
- CARLOS, A.C.; SAKOMURA, N.K.; PINHEIRO, S.R.F.; TOLEDANO, F.M.M.; GIACOMETRI, R.; SILVA JÚNIOR, J.W. Uso da alga *Lithothamnium calcareum* como fonte alternativa de cálcio nas rações de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, v. 35, n. 4, p. 833-839, 2011.
- CARVALHO, G.B.; DOURADO, L.R.B.; LOPES, J.B.; FERREIRA, A.H.C.; RIBEIRO, M.N.; SILVA, S.R.G.; MERVAL, R.R.; BIAGIOTTI, D.; SILVA, F.E.S. Métodos de análise da cinza insolúvel em ácido utilizada como indicador na determinação da energia metabolizável do milho para aves. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 1, p. 43-53, 2013.
- CONDÉ, M.S.; DEMARTINI, G.P.; PENA, S.M.; ROCHA JÚNIOR, C.M.; HOMEM, B.G.C. Influência da granulometria do milho na alimentação de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 11, n. 5, p. 3637- 3647, 2014.
- CORDEIRO, C.N.; BASTOS-LEITE, S.C.; VASCONCELOS, F.C.; GOULART, C.C.; SOUSA, A.M.; COSTA, A.C. Chelated minerals and limestone particle sizes on performance and bone quality of brown-egg layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 19, n. SPE, p. 35-42, 2017.
- CUFADAR, Y.; OLGUN, O.; YILDIZ, A.O. The effect of dietary calcium concentration and particle size on performance, eggshell quality, bone mechanical properties and tibia mineral contents in moulted laying hens. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 761-768, 2011.

- DOMINGUES, R.M.; LAURENTIZ, A.C.; MELO, A.P.F.; MELLO, E.S.; SOBRANE, S.T.F.; SILVA, M.L.A.; LAURENTIZ, R.S. Parâmetros sanguíneos de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com sementes secas de *Piper cubeba* como aditivo fitogênico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n.11, p. 1139-1144, 2016.
- GERALDO, A.; BERTECHINI, A.G.; MURGAS, L.D.S.; FASSANI, É.J.; KATO, R.K.; BRITO, J.Á.G.D. Níveis de cálcio e granulometrias do calcário para frangas de reposição no período de 3 a 5 semanas de idade. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1415-1420, 2004.
- GONÇALVES, L.B.; TENÓRIO, H.C.L.; MOTTA, P.D.M.S.; MARINHO, A.A. Reaproveitamento de conchas de mariscos e resíduos da construção civil em Alagoas. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, Maceió, v. 1, n. 1, p. 61-71, 2014.
- KIM, S.W.; LI, W.; ANGEL, R.; PLUMSTEAD, P. W. Modification of a limestone solubility method and potential to correlate with in vivo limestone calcium digestibility. **Poultry Science**, v. 98, p. 6837-6848, 2019.
- LEÃO, A.P.A.; LANA, S.R.V.; LANA, G.R.Q.; JUNIOR, R.F.B.; MENDONÇA, D.S.; OLIVEIRA, T.J. Digestibility and bioavailability of organic calcium sources for European quail. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 41, n. 6, p. 3275-3284, 2020.
- LI, T.; XING, G.; SHAO, Y.; ZHANG, L.; LI, S.; LU, L.; LIU, Z.; LIAO, X.; LUO, X. Dietary calcium or phosphorus deficiency impairs the bone development by regulating related calcium or phosphorus metabolic utilization parameters of broilers. **Poultry Science**, v. 99, n. 6, p. 3207-3214, 2020.
- LIU, S.; TRUONG, H.H. and SELLE, P.H. Whole-grain feeding for chicken-meat production: possible mechanisms driving enhanced energy utilization and feed conversion. **Animal Production Science**, v. 55, n. 5, p. 559-572, 2015.
- MARINHO, A.L.; LANA, S.R.V.; LANA, G.R.Q.; LIRA, R.C.; CAMELO, L.C.L. VIANA JR, P.C.; AMORIN, P.L. Efeito da inclusão do resíduo de goiaba sobre o rendimento de carcaça de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). **Revista Científica de Produção Animal**, v. 12, n. 1, p. 46-49, 2010.
- MELLO, H.H.D.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; ROCHA, T.C.D.; ALMEIDA, R.L.D.; CALDERANO, A.A. Dietary requirements of available phosphorus in growing broiler chickens at a constant calcium: available phosphorus ratio. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 41, n. 11, p. 2323-2328, 2012.
- MELO, T.V.; MOURA, A.M.A. Utilização da farinha de algas calcárias na alimentação animal. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 1, p. 99-107, 2009.
- MOURA, G.R.S.; REIS, R.S.; MENDONÇA, M.O.; SALGADO, H.R.; ABREU, K.S.; MADELLA, G.S.; LIMA, M.B. Substitution of limestone for eggshell powder in the diet of Japanese laying quails. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 21, 2020.
- MUNIZ, E.B.; ARRUDA, A.M.V.; FASSANI, E.J.; TEIXEIRA, A.S.; PEREIRA, E.S. Avaliação de fontes de cálcio para frangos de corte. **Revista Caatinga**, v.20, n.1, p.514, 2007.

- NUNES, R.V.; BROCH, J.; WACHHOLZ, L.; et al. Choosing sample sizes for various blood parameters of broiler chickens with normal and non-normal observations. **Poultry Science**, v.97, p.3746–3754, 2018.
- ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DE NORMALIZAÇÃO. ISO 16649-2: 2001 **Microbiologia de alimentos e rações para animais** - Método horizontal para a enumeração de *Escherichia coli* beta-glucuronidase-positiva - Parte 2: Técnica de contagem de colônias a 44 graus °C usando 5-bromo-4-cloro-3-indolilbeta-D-glucuronídeo. 2001.
- PASTORE, S.M.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; CALDERANO, A.A.; VELLASCO, C.R.; VIANA, G.S.; ALMEIDA, R.L. Níveis de cálcio e cálcio: proporções de fósforo disponíveis em dietas para poedeiras de ovos brancos de 42 a 58 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 12, p. 2424-2432, 2012.
- REIS, S.R.; BARRETO, S.L.T.; LIMA, H.J.D.; PAULA, E.; MUNIZ, J.C.L.; MENCALHA, R.; VIANA, G.S.; BARBOSA, L.M.R. Substituição do calcário por farinha de casca de ovo na dieta de codornas japonesas no período de 40 a 52 semanas de idade. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa – MG, v. 2, n. 2, p. 107-112, 2012.
- REZENDE, M.S.; SILVA, P.L.; GUIMARÃES, E.C.; LELLIS, C.G.; MUNDIM, A.V. Variações fisiológicas, influência da idade e sexo no perfil bioquímico sanguíneo de aves da linhagem pesada de frango de corte na fase de recria. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 5, p. 1649-1658, 2019.
- ROSTAGNO, S.H.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I.; DONZELE, J.L.; SAKOMURA, N.K.; PERAZZO, F.G.; SARAIVA, A.; ABREU, M.L.T.; RODRIGUES, P.B.; OLIVEIRA, R.F.; BARRETO, S.L.T.; BRITO, C.O. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2017, p. 488.
- SA, M.V.D.C.E.; BOYD, C.E. Variabilidade na solubilidade do calcário agrícola de diferentes origens e sua pertinência para a aquicultura. **Research Aquaculture**, v. 48, p. 4292-4299, 2017.
- SAKOMURA, N. K.; VILAR DA SILVA, J. H.; PERAZZOCOSTA, F. G.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não-ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2014. 678 p.
- SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2016, p. 262.
- SANTOS, F.R.; OLIVEIRA, P.R.; MINAFRA, C.S.; DUARTE, E.F.; ALMEIDA, R.R.; SILVA, W.J. Desenvolvimento digestivo e aproveitamento energético em frangos de corte. **PUBVET**, v. 6, n. 18, p. 1-24, 2012.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análise química das plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. p. 56.
- SAS Institute, 2017. **SAS user's Guide: Statistics**. Version 9.3 Edition (Cary, NC, SAS Inst. Inc.).

- SAUNDERS-BLADES, J.L.; MACLSAAC, J.L.; KORVER, D.R.; ANDERSON, D.M. Effect of calcium source and particle size on production performance and bone quality of the laying hen. **Poultry Science**, v. 88, n. 2, p. 338-353, 2009.
- SCHOULTEN, N.A.; TEIXEIRA, A.S.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; CONTE, A.J.; SILVA, H.O. Efeito dos níveis de cálcio sobre a absorção de minerais em dietas iniciais para frangos de corte suplementadas com fitase. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.6, p.1313-1321, 2002.
- SEEDOR, J.G.; QUARTUCCIO, H.H.; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n. 4, p. 339-346, 1991.
- SHAO, Y.; SUN, G.; CAO, S.; LU, L.; ZHANG, L.; LIAO, X.; LUO, X. Bone phosphorus retention and bone development of broilers at diferente ages. **Poultry Science**, v. 98, n. 5, p. 2114-2121, 2019.
- SHIH, S.-M.; LIN, J.-P.; SHIAU, G.Y. Taxas de dissolução de calcários de diferentes origens. **Journal of Hazardous Materials**, v. 79, p.159-171, 2000.
- TAMANO, L.T.O.; DE LIMA, B.B.C.; DA SILVA, J.; ARAUJO, D.M. Pesca, processamento, comercialização e proposta de reutilização de resíduos de pesca de sururu *Mytella falcata* na lagoa de Mundaú, Maceió – AL, Brasil. **Caminhos de Geografia**, v. 21, n. 76, p. 306-320, 2020.
- TRAESEL C.K.; WOLKMER P.; SCHMIDT C.; SILVA C.B.; PAIM F.C.; ROSA A.P.; ALVES S.H.; SANTURIO J.M.; LOPES S.T.A. Serum biochemical profile and performance of broiler chickens fed diets containing essential oils and pepper. **Comparative Clinical Pathology**. v. 20, n. 5, p. 453-460, 2011.
- VAN KEULEN, J.; YOUNG, B.A. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal of Animal Science**, v. 4, p. 282-287, 1977.
- VARGAS JR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CARVALHO, D.C.O.; CUPERTINO, E.S.; TOLEDO, R.S.; PINTO, R. Níveis nutricionais de cálcio e fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 13 a 20 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1263-1273, 2004.
- VEUM, T.L. Nutrição e metabolismo de fósforo e cálcio. Edited: VITTI, D.M.S.S.; KEBREAB, E. **Phosphorous and Calcium Utilization and Requirements in Farn Animals**, CAB international, Oxfordshire, Reino Unido, 2010, p. 94-111.
- VIAPIANA, J.G.; LANA, G.R.Q.; LANA, S.R.V.; MADALENA, J.A.S.; LANA, A.M.Q.; FERREIRA, T.S.; BARROS JR, R.F. Influência da casca de sururu em rações de codornas europeias sobre o rendimento de carcaça e resistência óssea. **In: XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia/XVI Congresso Internacional de Zootecnia**, 2015, Fortaleza, CE.
- WACHHOLZ, L.; NUNES, R.V.; BROCH, J.; DE SOUZA, C. Possibilidade do uso de Mexilhão Dourado contaminado com metais tóxicos em dietas para frangos de corte. **Revista Colombiana Ciência Animal**, v. 9, n. 2, p. 227-235, 2017.

- WACHHOLZ, L.; NUNES, R.V.; GONÇALVES JUNIOR, A.F.; EYNG, C.; CASTILHA, L.D.; CIRILO, E.H.; BROCH, J.; SOUZA, C. Effect of the use of golden mussel flour contaminated with lead as a source of calcium on the performance of broilers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 6, p. 2783-2794, 2019.
- WANG, S.; CHEN, W.; ZHANG, H.X.; RUAN, D.; LIN, Y.C. Influence of particle size and calcium source on production performance, egg quality, and bone parameters in laying ducks. **Poultry Science**, v. 93, n. 10, p. 2560-2566, 2014.
- YARI, P.; YAGHOB FAR, A.; SHAHRYAR, H.A.; NEZHAD, Y.E.; GOUDARZI, S.M. Productive and serum biological responses of broiler chicks to use of diferente patterns of diet formulation. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, n. 3, p. 459-464, 2014.
- ZANOTTO, D.L.; BELLAVER, C. **Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves**. Concórdia: EMBRAPA suínos e aves, 1996. p.1-5. (Comunicado técnico).
- ZHANG, B.; COON, C. N. Improved in vitro methods for determining limestone and oyster shell solubility. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 6, p. 94-99, 1997.