

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DO BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS, ÓLEOS
ESSENCIAIS, CURCUMINA E TANINO SOBRE O
DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DAS
MATRIZES DE CODORNAS DE POSTURA (*Coturnix coturnix
japonica*) E SUAS PROGÊNIES

Autora: Keila Mileski Pontes
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Gasparino
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Del Vesco

MARINGÁ
Estado do Paraná
Agosto – 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DO BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS, ÓLEOS
ESSENCIAIS, CURCUMINA E TANINO SOBRE O
DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DAS
MATRIZES DE CODORNAS DE POSTURA (*Coturnix coturnix
japonica*) E SUAS PROGÊNIES

Autora: Keila Mileski Pontes
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Gasparino
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Paula Del Vesco

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Agosto - 2022

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

P814e

Pontes, Keila Mileski

Efeito do blend de ácidos orgânicos, óleos essenciais, curcumina e tanino sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das matrizes de codornas de postura (*coturnix coturnix japonica*) e suas progênies / Keila Mileski Pontes. -- Maringá, PR, 2022.

117 f.: il. color., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Gasparino.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Del Vesco.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2022.

1. Aditivos fitogênicos. 2. Antioxidantes. 3. Efeito materno. 4. Saco vitelino residual. 5. Nutracêuticos. I. Gasparino, Eliane, orient. II. Del Vesco, Ana Paula, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 636.6

Márcia Regina Paiva - CRB-9/1267



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EFEITO DO BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS, ÓLEOS
ESSENCIAIS, CURCUMINA E TANINO SOBRE
O DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DAS
MATRIZES DE CODORNAS DE POSTURA
(*COTURNIX COTURNIX JAPONICA*) E SUAS PROGÊNIES

Autora: Keila Mileski Pontes
Orientadora: Profª Drª Eliane Gasparino

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 26 de agosto de 2022.


Profª Drª Simara Marcia Marcato


Profª Drª Taynara Prestes Perine
Moretto Rodrigues


Profª Drª Eliane Gasparino
Orientadora

“Assim, permanecem agora esses três, a fé, a esperança e o amor. O maior deles, porém, é o amor.”

1 Coríntios 13:13.

Aos meus pais, Gisele e Josias, que fizeram tudo que estava ao seu alcance, para que eu pudesse realizar os meus sonhos.

Aos meus avós, Felício e Dulce. Vocês são minhas fontes de amor e inspiração.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Virgem Maria, que são meus pais celestiais protetores e minhas fontes de amor inesgotável.

Aos meus pais, Gisele e Josias, por estarem sempre ao meu lado.

À minha família, que sempre me ajudou em meus caminhos. Em especial, aos meus avós, Felício e Dulce, meus tios Aline, Ivan e Marli, minha prima Alana e meu padrinho Alessandro.

À minha família de Maringá, um agradecimento especial por todo suporte e apoio, em especial aos meus tios Ilda e Odelcio, minha prima Michely e minha madrinha, Andreia.

Aos meus amigos, em especial, Ana Paula e Camila, que mesmo distante, sempre estiveram ao meu lado.

Aos meus amigos do mestrado, em especial a Marina, Aíres, Marcos, Pedro, Vitória e Sílvio. Vocês fizeram tudo ser mais leve.

À Gabriela e Simone, por toda ajuda e amizade, vocês foram mais do que essenciais!

À Angélica, por todos os conselhos, amizade, ensinamentos e paciência comigo. Sem você eu não conseguiria chegar até aqui. Você é uma fonte de inspiração! Você sempre terá um lugar especial no meu coração e na minha vida.

Ao grupo de pesquisa Gene Z, especialmente ao Evandro, Jéssica, Isabella, Carolina, Rodrigo e Luana, por toda ajuda prestada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em especial a Solange, sempre disposta a nos ajudar.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia por todos os ensinamentos.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial ao Sr. Wilson e ao Sr. Antonio, por toda ajuda prestada no experimento a campo.

À empresa Vicami® e a NNatrivm, pela doação dos animais e do Sannimix®, respectivamente, que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dr^a. Ana Paula Del Vesco pela coorientação e aos professores integrantes da banca de defesa, por todas sugestões e ensinamentos que contribuíram para minha dissertação.

À minha querida “prof” Dr^a. Eliane Gasparino, por todo apoio, orientação, ensinamentos e palavras de incentivo. Obrigada por ter acreditado em meu potencial. Você é um exemplo de pessoa, mulher e profissional, e sempre será especial em minha vida.

Obrigada a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, estiveram envolvidos durante a realização deste trabalho. Que Deus os abençoe grandemente!

BIOGRAFIA

KEILA MILESKI PONTES, filha de Gisele Helena Mileski e Sérgio Paulo Martins Pontes nasceu em Ponta Grossa, estado do Paraná, em 27 de dezembro de 1990.

Em 2009, iniciou a sua graduação em Medicina Veterinária, na Universidade Estadual do Norte do Paraná, em Bandeirantes, estado do Paraná, finalizando-a no ano de 2014.

Em 2018, iniciou sua especialização em Biotecnologia no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental da Universidade Estadual de Maringá, em Maringá, no estado do Paraná, finalizando esta em 2019.

Em março de 2020, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá, em Maringá, no estado do Paraná, na área de concentração Produção Animal, linha de pesquisa Genética e Melhoramento Animal sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Eliane Gasparino e coorientação da Prof^a. Dr^a. Ana Paula Del Vesco, submetendo-se a banca examinadora em agosto de 2022, para defesa da Dissertação.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE FIGURA.....	xiii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xviii
I. INTRODUÇÃO.....	21
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	24
1.0. Nutrição materna.....	24
1.1. Aditivos promotores de crescimento e aditivos alternativos aos antibióticos.....	25
1.1.1 Óleos Essenciais.....	27
1.1.2 Ácidos orgânicos.....	31
1.1.3 Curcumina.....	33
1.1.4 Taninos.....	34
1.1.5 Vitamina E e Zinco.....	36
2.0 Benefícios da Microencapsulação de Aditivos.....	37
3.0 Metabolismo Oxidativo.....	38
4.0 Sistema de Defesa Antioxidante.....	40
5.0 Sistema Reprodutivo.....	43
6.0 Desenvolvimento Embrionário e temperatura de incubação.....	45
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
II- OBJETIVOS	62
III- Efeito da dieta materna suplementada com blend Sannimix® e da temperatura de incubação sobre o desempenho produtivo da matriz, da progênie e estado antioxidante	

do ovo e da progênie.....	64
1. Introdução.....	66
2. Materiais e Métodos.....	68
3. Resultados	85
4. Discussão	99
5. Referências.....	109

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1. Composição das rações de codornas de postura (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) fêmeas (1-126 dias de idade).....	70
Tabela 2. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre o desempenho produtivo de matrizes de codornas de postura (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) no período de 98 a 126 dias de idade.....	86
Tabela 3. Efeitos da dieta das matrizes (blend SANNIMIX ou CONTROLE) sobre o estado oxidante-antioxidante dos ovos (ambiente pré-eclosão da progênie).....	91
Tabela 4. Efeitos da dieta materna e temperatura de incubação sobre a taxa de eclosão (%) e número de pintainhos nascidos vivos.....	93
Tabela 5. Efeitos materno (dieta materna) e da temperatura de incubação sobre a porcentagem de saco vitelino residual nos embriões (E17 e E19) e o desempenho da progênie no período de 1 a 15 dias de idade.....	95
Tabela 6. Efeito intergeracional materno (dieta materna) sobre o estado oxidante-antioxidante da progênie com 15 dias de idade oriunda de ovos incubados em alta temperatura (38,5°C).....	99

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Defesas Antioxidantes do Organismo.....42
- Figura 1.** Folículos primários (FP) e folículos maduros (pré-ovulatórios) organizados em ordem hierárquica (F1, F2, F3 e F4).....44
- Figura 2.** O oviduto estende-se desde o ovário (Ov) até a região cloacal, sendo dividido em cinco regiões morfológicamente distintas: infundíbulo (In), magno (Mg), istmo (Is), útero (U) e vagina (Vg).....45

CAPÍTULO III

- Figura 1.** A figura representa o esquema experimental ilustrativo das matrizes.....73
- Figura 2.** Representação ilustrativa do esquema experimental utilizado para avaliar o efeito da dieta materna sobre a estabilidade oxidativa dos ovos (*ambiente pré-eclosão da progênie*).....74
- Figura 3.** Representação ilustrativa do esquema experimental utilizado na incubação dos ovos e para avaliar a progênie aos 15 dias de idade.....77
- Figura 4.** Efeito da dieta da matriz sobre o número de folículos pré-hierárquicos (pequenos folículos brancos). Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$). ^{a,b}Letras diferentes

significam médias diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). O círculo vermelho indica os folículos pré-hierárquicos.....87

Figura 5. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre o número de folículos pré-ovulatórios fase 1 a 5 (A e B, respectivamente) e circunferência dos folículos pré-ovulatórios fase 1 (C e D, respectivamente). Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$).^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). BP = baixa produção; MP = média produção; PI = produção intermediária e AP = alta produção. SANNIMIX = dieta suplementada com o blend SANNIMIX e CONTROLE = dieta sem suplementação do blend. A seta vermelha indica o folículo pré-ovulatório.....88

Figura 6. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre os pesos relativos do fígado (A e D, respectivamente), intestino delgado + grosso (B e E, respectivamente) e do baço (C e F, respectivamente) de matrizes de codornas de postura com 126 dias de idade. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$).^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). BP = baixa produção; MP = média produção; PI = produção intermediária e AP = alta produção. SANNIMIX = dieta suplementada com o blend Sannimix® e CONTROLE = dieta sem suplementação do blend.....89

Figura 7. Efeito materno (dieta) e da temperatura de incubação sobre o peso relativo de órgãos e comprimento do trato intestinal da progênie com 15 dias. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental.^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste de t de Student ($P < 0,05$). SANNIMIX = dieta materna suplementada com o blend Sannimix®; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend. AT = incubadora alta temperatura (38,5°C); CTL = incubadora controle (37,5°C).....97

RESUMO

Estudos prévios têm avaliado o efeito da suplementação materna com diferentes tipos de aditivos alimentares e nutrientes que promovam efeitos benéficos nas matrizes e em suas progênes. Aditivos fitogênicos derivados de plantas, têm sido investigados por exercerem entre outras funções a antimicrobiana e antioxidante, com o benefício de não causarem resistência microbiana, promovendo melhorias na produção animal incluindo as aves de postura. Uma progênie de qualidade depende da qualidade dos ovos, que por sua vez, depende diretamente da dieta materna. Ovos com melhor aporte nutricional e antioxidantes advindos da dieta materna melhoram a composição nutricional e estabilidade oxidativa do ovo e do embrião. Além dos efeitos maternos, os embriões podem sofrer alterações durante o seu desenvolvimento devido a efeitos ambientais, como a temperatura de incubação, resultando em progênie de melhor e/ou pior qualidade. Neste contexto, com esse estudo objetivou-se avaliar os efeitos da taxa de produção de ovos da matriz e da adição de um blend composto por óleos essenciais de canela, eugenol, timol e orégano, ácidos orgânicos, curcumina, taninos, vitamina E e zinco microencapsulados em gordura vegetal (Sannimix[®]), sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das matrizes e a estabilidade oxidativa de seus ovos (ambiente de desenvolvimento do embrião) (**Experimento 1**). Além disso, o efeito materno (dieta materna suplementada com blend Sannimix[®] ou não suplementada com blend) e da temperatura de incubação (37,5°C ou 38,5°C) sobre a progênie também foi avaliado a curto e longo prazo (15 dias de idade), por meio dos seguintes parâmetros: utilização do saco vitelino residual (idades embrionárias E17 e E19), peso ao nascimento, pesos vivo

e relativo de órgãos, e estado oxidante-antioxidante da progênie com 15 dias de idade (**Experimento 2**). Para isso, no primeiro experimento, 128 codornas japonesas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) (64 machos e 64 fêmeas) com um dia de idade foram utilizadas. Aos 98 dias de idade, 64 fêmeas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2) sendo o primeiro fator a produção de ovos (baixa, média, intermediária e alta produção) e o segundo fator a suplementação ou não das dietas com o blend Sannimix® (CONTROLE e SANNIMIX, respectivamente). Após sete dias do início da alimentação das fêmeas com as dietas experimentais, 64 machos com 105 dias de idade foram colocados para acasalar com as fêmeas, durante uma hora por dia, num sistema de rodizio para minimizar o efeito parental do macho por um período de 21 dias. Nos últimos 11 dias de acasalamento, os ovos foram pesados e armazenados a uma temperatura de 22°C. Ao final do período de acasalamento e coleta dos ovos, as fêmeas com 126 dias de idade foram sacrificadas para a coleta do fígado, trato intestinal, baço e folículos ovarianos. Ao final do período de coleta dos ovos, 16 ovos selecionados aleatoriamente de matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX (n = 8) e CONTROLE (n = 8) foram coletados para análise de estabilidade oxidativa. No segundo experimento, 400 ovos foram incubados em duas incubadoras com temperaturas distintas (37,5°C, n = 100 ovos de matrizes suplementadas com o blend - SANNIMIX e 100 ovos de matrizes não suplementadas com o blend - CONTROLE; e 38,5°C, n = 100 ovos de matrizes suplementadas com o blend - SANNIMIX e 100 ovos de matrizes não suplementadas com o blend - CONTROLE). A partir do 17º dia ao 19º dia de incubação, os nascimentos foram monitorados, e, nesse período, a utilização do saco vitelino residual dos embriões (E17 e E19) e o peso ao nascimento foram avaliados. Após o nascimento, 240 pintainhos saudáveis foram distribuídos em um esquema fatorial 2x2 sendo o primeiro fator a dieta materna (suplementada com o blend SANNIMIX e sem suplementação (CONTROLE); e, o segundo fator, a temperatura de incubação: 37,5°C (controle - CTL) e 38,5°C (alta temperatura - AT). A progênie foi criada de maneira convencional, com ração (sem adição do blend) para atender suas exigências nutricionais e água a vontade até os 15 dias de idade. Nesse momento, seis animais de cada tratamento foram pesados e sacrificados para coleta e pesagem de órgãos (coração, fígado, trato intestinal, baço e bursa de Fabricius) utilizados para determinação do peso relativo desses órgãos. Além disso, o fígado da progênie foi utilizado para avaliar os

efeitos dos tratamentos sobre seu estado oxidante-antioxidante. Os dados dos dois experimentos foram submetidos a ANOVA, e aos testes de médias (teste de Tukey e t de Student) ($P < 0,05$). **Experimento 1:** as matrizes de produção intermediária apresentaram maior consumo de ração e maior circunferência de folículos pré-ovulatórios (fase 1). Matrizes suplementadas com SANNIMIX apresentaram maior número de folículos pré-hierárquicos, peso de ovos, taxa de eclosão total e progênie com maior peso ao nascimento. No albúmen dos ovos de matrizes suplementadas com SANNIMIX, houve menor atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), maior conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) e menor oxidação proteica. Na gema, houve maior atividade da enzima SOD, menor atividade da enzima CAT, maior capacidade antioxidante e menor oxidação proteica. **Experimento 2:** os embriões na idade E19 filhos de matrizes suplementadas com SANNIMIX apresentaram menor porcentagem de saco vitelino residual. A progênie das matrizes suplementadas com SANNIMIX apresentaram maior peso vivo e peso relativo do fígado, do trato intestinal, bem como maior comprimento intestinal aos 15 dias de idade. Os embriões de ovos incubados a $38,5^{\circ}\text{C}$ nas idades embrionária E17 e E19 apresentaram menor porcentagem de saco vitelino residual, menor peso vivo e peso da bursa de Fabrícus aos 15 dias de idade. A progênie oriunda de ovos incubados a $38,5^{\circ}\text{C}$ e de mães suplementadas com SANNIMIX apresentaram maior conteúdo de espécies reativas de oxigênio (ROS), atividades das enzimas SOD e CAT, capacidade antioxidante e conteúdo de dienos conjugados. Em resumo, os resultados mostram que a temperatura de incubação de $38,5^{\circ}\text{C}$ não afetou o desenvolvimento embrionário e a eclosão dos pintainhos, mas suprimiu seu desempenho aos 15 dias de idade. A suplementação das matrizes com SANNIMIX exerceu efeitos positivos na matriz e em seus ovos, com esses efeitos estendendo-se para a progênie a curto e longo prazo mesmo quando essa foi submetida a uma maior temperatura de incubação.

Palavras-chave: saco vitelino residual, aditivos fitogênicos, antioxidantes, efeito materno, nutracêuticos

ABSTRACT

Previous studies have evaluated the effect of maternal supplementation with different types of food additives and nutrients that promote beneficial effects on hens and their progeny. Phytogetic additives have been investigated for their ability to exert, among other functions, antimicrobial and antioxidant effects, with the added benefit of not causing microbial resistance, thereby promoting improvements in animal performance, including that of laying birds. Progeny quality depends on egg quality, which, in turn, directly depends on the quality of the maternal diet. An adequate nutrient and antioxidant supply from the maternal diet improves the nutritional composition and oxidative stability of eggs and embryos. In addition to maternal effects, embryos are affected by environmental factors during development, such as incubation temperature, which may result in better or worse progeny quality. In view of the above, this study aimed to assess the effects of breeder egg production and supplementation with a premix composed of cinnamon and oregano essential oil, eugenol, thymol, organic acids, curcumin, tannins, vitamin E, and zinc microencapsulated in vegetable fat (Sannimix[®]) on breeder productive and reproductive performance and egg oxidative stability (embryo developmental environment) (**Experiment 1**). Moreover, the effects of maternal diet (unsupplemented or supplemented with Sannimix[®]) and incubation temperature (37.5 or 38.5 °C) on progeny were evaluated in the short and long term (15 days of age) by measuring the following parameters: yolk sac utilization (E17 and E19 embryos), weight at hatch, live weight, relative organ weights, and oxidant/antioxidant status at 15 days of age (**Experiment 2**). For this, in the first experiment, 128 one-day-

old laying Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) (64 males and 64 females) were used. At 98 days of age, 64 females were distributed in a completely randomized design with a 4×2 factorial arrangement, where the first factor was egg production (low, medium, intermediate, and high) and the second factor was dietary supplementation (control and Sannimix®). Seven days after females had been fed on experimental diets, 64 males aged 105 days were allowed to mate with females for 1 h a day during 21 days according to a rotational mating scheme to minimize the paternal effect. In the last 11 days of mating, laid eggs were weighed and stored at 22 °C. At the end of the mating and egg collection period, 126-day-old females were sacrificed for collection of liver, intestinal tract, spleen, and ovarian follicle specimens. At the end of the egg collection period, 16 eggs were randomly collected from supplemented ($n = 8$) and control ($n = 8$) breeder groups for oxidative stability analysis. In the second experiment, 400 eggs were incubated in two incubators at different temperatures (37.5 °C, $n = 100$ eggs from supplemented breeders and 100 eggs from control breeders; and 38.5 °C, $n = 100$ eggs from supplemented breeders and 100 eggs from control breeders). From days 17 to 19 of incubation, egg hatching was monitored, and yolk sac utilization (E17 and E19 embryos) and weight at hatch were evaluated. After hatching, 240 healthy chicks were arranged according to a 2×2 factorial, where the first factor was maternal diet (control and supplemented) and the second factor was incubation temperature (control = 37.5 °C and high = 38.5 °C). Progeny were reared conventionally up to 15 days of age, with ad libitum access to water and a basal diet (without Sannimix®). After this period, six animals from each treatment were weighed and sacrificed for determination of relative organ weights (heart, liver, intestinal tract, spleen, and bursa of Fabricius). The liver was used to evaluate the effects of treatments on oxidant/antioxidant status. Data from both experiments were subjected to analysis of variance and mean tests (Tukey's and Student's *t*-test at $p < 0.05$). **Experiment 1:** Breeders with intermediate egg production had higher feed intake and preovulatory follicle circumference (Phase 1). Breeders supplemented with Sannimix® showed higher prehierarchical follicle number, egg weight, total hatching rate, and progeny with higher birth weight. In the albumen of eggs from hens supplemented with Sannimix®, there were lower superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities, higher content of reduced glutathione (GSH), and lower protein oxidation. In the yolk, there was higher SOD activity, lower CAT activity,

higher antioxidant capacity, and lower protein oxidation. **Experiment 2:** Embryos at E19 from hens supplemented with Sannimix® had a lower percentage of residual yolk sac. The progeny of supplemented hens showed higher live weight and relative weights of the liver and intestinal tract, as well as greater intestinal length at 15 days of age. Embryos at E17 and E19 incubated at 38.5 °C had lower residual yolk sac percentage, lower live weight, and lower bursa of Fabricius weight at 15 days of age. Progeny from eggs incubated at 38.5 °C and hens supplemented with Sannimix® showed higher reactive oxygen species levels, SOD and CAT activities, antioxidant capacity, and conjugated diene content. Overall, the results show that incubation at 38.5 °C did not influence embryonic development or hatching but negatively affected chick performance at 15 days of age. Maternal supplementation with Sannimix® exerted positive effects on layers, eggs, and progeny in the short and long terms, even when eggs were incubated at high temperatures.

Keywords: residual yolk sac, phytogetic additives, antioxidants, maternal effect, nutraceuticals

I- INTRODUÇÃO

A coturnicultura é o segmento da avicultura voltado para a criação de codornas (Khan et al., 2016; Silva et al., 2018). Entre as espécies criadas no Brasil, está a codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), utilizada para produção de ovos (Lima, 2012) e a codorna europeia (*Coturnix coturnix coturnix*), criada principalmente para a produção de carne (Barbosa et al., 2021).

As codornas possuem características de interesse para a produção animal, como o rápido crescimento, a precocidade sexual e a alta rusticidade (Silva et al., 2018), o que tem aumentado o interesse de produtores por este segmento. De acordo com Silva et al. (2018), o interesse na criação de codornas comerciais aumentou em diversas partes do mundo, como os Estados Unidos, Brasil, Europa e Ásia. Com isso, a criação de subsistência tem dado lugar a criação comercial, com novas tecnologias sendo empregadas a cada dia para a sua produção.

Para o adequado desenvolvimento deste setor, assim como em outras espécies animais, pesquisas na área de melhoramento genético, nutrição, manejo sanitário, incubação e ambiência são fundamentais (Porto et al., 2021). Ressalta-se ainda que a codorna possui uma importância global como modelo animal para a experimentação, devido principalmente ao seu curto intervalo de geração, servindo como um econômico modelo animal para outras criações, como frangos de corte ou matrizes de postura (El-Shater et al., 2021).

Apesar dos retornos financeiros observados e da rusticidade das codornas, problemas em relação à susceptibilidade a doenças infecciosas e estresse térmico podem comprometer a saúde destas aves, pois, mesmo resistentes, elas são criadas em um ambiente de desafio sanitário, o que pode afetar a sua produtividade (Bonfim e Araujo Melo, 2015). Um dos principais desafios para a produção animal é em relação ao uso de antibióticos específicos, devido ao risco de resistência bacteriana (Huyghebaert et al., 2011; Fouladi et al., 2018; Bosetti et al., 2020). Contudo, apenas a retirada desses medicamentos sem um composto substituto pode resultar em grandes prejuízos no desempenho animal. Dificilmente consegue-se alcançar uma alta produtividade, mantendo os baixos custos de produção sem o auxílio de aditivos (Oututumi et al., 2008), e a sua escolha deve basear-se em dois fatores a saber: (1) aspecto econômico e (2) segurança animal e humana (Reis e Vieites, 2019).

Em resposta às tendências atuais, diversos aditivos alternativos aos promotores de crescimento vêm sendo estudados como estratégia de substituição dos antibióticos. Entre esses, destacam-se os aditivos compostos por uma combinação de óleos essenciais, ácidos orgânicos, curcumina, taninos, entre outros, que são preconizados por possuírem efeitos principalmente na manutenção da saúde intestinal devido à sua atuação como antibacterianos, anti-inflamatórios e antioxidantes (Fouladi et al., 2018; Abd El-Hack et al., 2022).

Outro ponto chave destes aditivos é a moderna tecnologia empregada na sua fabricação, como o microencapsulamento dos ingredientes que compõem os aditivos (Mehta et al., 2022). Essa tecnologia de proteção aos ingredientes previne que os mesmos se oxidem ou volatilizem, além de retardar a rápida degradação dos mesmos no trato gastrointestinal superior (Abdelli et al., 2021). Dessa forma, a liberação de componentes dos aditivos ocorre em porções específicas do trato gastrointestinal (especialmente nas porções finais do intestino delgado e grosso), promovendo, assim, o aumento significativo do aproveitamento dos nutrientes pelo organismo do animal (Nascimento et al., 2019). Em estudo com frangos de corte, Abdelli et al. (2021) confirmaram a capacidade do microencapsulamento em permitir uma liberação mais lenta de ácido fumárico e timol em todo o trato gastrointestinal do frango. Esses autores também concluíram que o ácido fumárico microencapsulado, o timol ou a combinação

dos dois, apresentaram efeitos positivos sobre o desempenho animal, morfologia intestinal e microbiota, quando os frangos foram submetidos a condições desafiadoras.

A dieta das matrizes é outro assunto de interesse na produção avícola, devido aos seus efeitos diretos sobre a progênie (Frésard et al., 2013). Esse fator (dieta materna) torna-se extremamente importante quando temos em mente que a nutrição do embrião depende da dieta materna, que interfere diretamente no fornecimento de nutrientes depositados no ovo, afetando o desempenho do pintainho e seu fenótipo na fase adulta (Videla et al., 2020).

O ambiente durante o desenvolvimento embrionário também apresenta grande importância na produção de aves, uma vez que embriões ainda nos ovos podem sofrer alterações a curto e/ou longo prazo, devido a efeitos ambientais antes da eclosão, como aqueles relacionados à temperatura de incubação (Reed e Clark, 2011). Esse período é conhecido pelo seu intenso metabolismo, e a disponibilidade adequada de nutrientes nos ovos aliada ao ambiente controlado de incubação são imprescindíveis para o bom desempenho do embrião, refletindo na sua vida adulta.

Nesse sentido, a adição de aditivos com funções específicas na dieta das matrizes, assim como os parâmetros de incubação adequados, são fatores fundamentais para potencializar a resposta fisiológica e metabólica do embrião, levando a maior viabilidade dos pintainhos, principalmente durante os primeiros dias de vida (Paiva et al., 2018).

Partindo desse princípio, pressupõe-se que a adição de um blend de ácidos orgânicos, óleos essenciais, curcumina, tanino, vitamina E e zinco microencapsulados na dieta das matrizes de codorna de postura pode ser benéfico ao desempenho produtivo e reprodutivo destas, com seus efeitos refletindo em seus ovos e em suas progênies, submetidas a diferentes temperaturas de incubação (controle 37,5°C e alta temperatura 38,5°C).

Até o presente momento, não foi encontrado dados na literatura nacional e internacional, avaliando simultaneamente os efeitos da adição de blend na dieta materna de codornas de postura e/ou em matrizes de frangos sobre a progênie oriunda de ovos submetidos a diferentes temperaturas de incubação. Sendo assim, com esse estudo, em um primeiro momento, os possíveis efeitos do blend Sanninix® na dieta de matrizes de codornas sobre o seu desempenho produtivo, reprodutivo, e sobre parâmetros

antioxidantes-oxidantes de seus ovos foram investigados. Em um segundo momento, os possíveis efeitos da dieta materna sobre os parâmetros de desempenho produtivo e estado oxidante-antioxidante da progênie proveniente de ovos incubados a 37,5°C (Controle, CT) e 38,5°C (Alta temperatura, AT) também foram investigados. Para avaliar esses efeitos, nas matrizes os seguintes parâmetros foram avaliados: desempenho produtivo, reprodutivo e peso relativo de órgãos. Nos ovos das matrizes, foi avaliado efeito da dieta sobre a estabilidade oxidativa. Na progênie, a utilização do saco vitelino, peso ao nascimento e aos 15 dias de idade, peso relativo de órgãos e parâmetros oxidativos e antioxidantes do fígado da progênie com 15 dias de idade foram avaliados.

II.. REVISÃO DE LITERATURA

1.0. Nutrição materna

A crescente demanda por ovos gerou desafios para a indústria de poedeiras, incluindo o aumento dos custos de produção e riscos sanitários (Wang et al., 2017). Para superá-los, o fornecimento de dietas funcionais e que atendam às necessidades nutricionais das matrizes é fundamental (Macelline et al., 2021). A nutrição adequada da matriz visa a otimização do seu potencial genético (Bryden et al., 2021), para a maior produção de ovos e melhor qualidade nutricional de seus ovos (Bouvaerl et al., 2011).

A nutrição da matriz também impacta o desenvolvimento da prole através do efeito materno, que pode ser definido como a influência do fenótipo da mãe sobre o fenótipo da progênie (Adkins-Regan et al., 2013). Nas aves, esses efeitos são transferidos principalmente através do ovo (Grindstaff et al., 2003; Hasselquist e Nilsson, 2008; Okuliarova et al., 2014). De acordo com Rocha et al. (2010), a

suplementação materna pode levar a um melhor desempenho da progênie, através dos nutrientes alocados no ovo.

Assim, o objetivo da nutrição de matrizes também passou a ser abordado sobre a perspectiva de obtenção de ovos e progênie de melhor qualidade (Rocha et al., 2010). A transferência de nutrientes ocorre de forma ativa da ave para o ovo e é influenciada diretamente pelos nutrientes que estão presentes em sua alimentação, sendo que,

qualquer mudança no perfil nutricional na dieta de matrizes, principalmente em fase de produção, pode acarretar em reflexos no desenvolvimento da próxima geração (Grindstaff et al., 2003).

Entre os nutrientes e compostos contidos no ovo necessários para o bom desenvolvimento do embrião (Surai, 2002) estão aqueles com funções nutricionais propriamente dita e os compostos com funções específicas, por exemplo, a antioxidante, sendo esta fundamental para prevenção de danos oxidativos nas matrizes e progênie, ocasionados pelo intenso metabolismo na fase de postura e incubação, respectivamente (Possenti et al., 2018). Nesse contexto, a utilização de diversos nutrientes e mais recentemente de aditivos fitogênicos derivados de plantas na dieta de matrizes, tem se apresentado como uma alternativa para redução desses impactos negativos decorrentes da alta produção sobre a matriz e sua progênie.

1.1. Aditivos promotores de crescimento e aditivos alternativos aos antibióticos

Os antibióticos foram os primeiros a serem utilizados como aditivos na alimentação animal por sua atuação como promotores de crescimento, devido a inúmeros fatores, especialmente por seus efeitos contra inúmeros patógenos (Mehdi et al., 2018). Geralmente, na produção animal, os antibióticos (promotores de crescimento) são fornecidos aos animais em doses inferiores às farmacológicas durante quase toda a vida do animal, respeitando apenas o período de carência pré-abate (Reis e Vieites, 2019). Entretanto, a União Europeia proibiu a sua utilização como aditivo em 2006, devido ao aumento do risco de resistência bacteriana (Ajuwon, 2015; Bosetti et al., 2020). No Brasil, apesar da não proibição em sua totalidade, a lista de compostos permitidos se restringe a cada ano (Reis e Vieites, 2019). Tendo em vista que aproximadamente 70% das defesas da ave advém do intestino (Fascina et al., 2012), o impacto da eliminação progressiva dos antibióticos promotores de crescimento animal precisa ser minimizado, implementando estratégias alternativas para a manutenção da microbiota intestinal saudável e equilibrada (Huyghebaert et al., 2011). A manutenção da saúde do trato gastrointestinal é fundamental, já que esse sistema é detentor do sucesso da produção animal, visto que é o local onde ocorre a digestão e absorção dos

nutrientes da dieta (Shang et al., 2018). Aproximadamente, 70% dos custos da produção são provenientes da alimentação, e a sua digestibilidade ideal é uma consequência direta do ambiente intestinal saudável, sendo de extrema necessidade e importância a manutenção da saúde intestinal desses animais, aumentando assim a eficiência dos sistemas de produção e minimizando as perdas econômicas

Em aves de produção, os segmentos intestinais proximais são menos colonizados pela microbiota, em contraste com o ceco, onde existe uma microbiota intestinal abundante e diversificada, com gêneros bacterianos como *Ruminococcus*, *Bacterioides*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Lactobacillus* (Dunislawska et al., 2021). No intestino de animais saudáveis, os microrganismos apresentam-se em equilíbrio com o meio e o hospedeiro, proporcionando inúmeros benefícios ao organismo, como a síntese de vitaminas, inibição de microrganismos patogênicos, estímulo imunológico e melhora da digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes. Porém, caso ocorra um desequilíbrio nesta população, problemas como o crescimento de microrganismos patogênicos e consequente aumento de suas toxinas podem resultar em infecções localizadas ou sistêmicas, causando redução do desempenho animal e perdas econômicas (Vieites et al., 2020).

Neste contexto, o uso de plantas medicinais, óleos prensados a frio e seus constituintes bioativos vem ganhando importância na produção animal, devido aos seus efeitos benéficos sobre o crescimento, sistema imunológico e a saúde animal (Hussein et al., 2019). Várias pesquisas têm demonstrado que a substituição dos antibióticos por produtos naturais, além de combaterem possíveis infecções, melhoram o ambiente intestinal como um todo, garantindo o bom desempenho produtivo do animal e a tendência é de que cada vez mais a utilização desses compostos seja preconizada (Shen et al., 2020).

Iqbal et al. (2018) demonstraram que a utilização de ácidos orgânicos e óleos essenciais atuam na regulação da microbiota intestinal aumentando a digestibilidade de nutrientes, incluindo os polissacarídeos não amiláceos, o que aumenta a oferta de nutrientes disponíveis para a ave e para alocação nos ovos. Os compostos com características antioxidantes, como os óleos essenciais, vêm sendo extensamente estudados devido a inúmeros fatores, incluindo os seus efeitos de minimização e combate do estresse oxidativo, capaz de manter a saúde das galinhas poedeiras em

produção (Wang et al., 2017). Os compostos bioativos com funções antioxidantes possuem importância por desativar metabólitos oxidativos reativos e radicais livres, que são subprodutos do metabolismo normal e da defesa imunológica, e que podem causar danos extensos ao DNA, proteínas e lipídios (Yigit et al., 2014).

Os aditivos alimentares propostos para serem utilizados como alternativa aos antibióticos, são por definição produtos de origem natural não nutritivos que são adicionados à ração basal como menores componentes afim de melhorar a qualidade da ração e dos alimentos de origem animal (Ayalew et al., 2022), além de melhorar o desempenho e a saúde dos animais (Ayalew et al., 2022). De acordo com Mandey e Sompie (2021), esses aditivos alimentares também promovem melhorias na ingestão de alimento, absorção e assimilação de nutrientes, e sobre o crescimento dos animais, por influenciar processos fisiológicos, como função imunológica e resistência ao estresse. Os aditivos alimentares mais comumente estudados em aves de produção são grupos de aditivos fitogênicos, os quais contêm componentes bioativos naturais à base de plantas, incluindo os óleos essenciais (Mehdi et al., 2018), ácidos orgânicos (Broom, 2015), curcumina (Saraswati e Tana, 2016), taninos (Ramah et al., 2020), entre outros.

1.1.1. Óleos essenciais

Entre os produtos encontrados nas plantas estão seus metabólitos secundários, conhecidos como óleos essenciais, que podem ser biossintetizados em diferentes partes da planta, como nas flores, nos botões florais, nas folhas e nos frutos (Bakry et al., 2016; Nascimento et al., 2019). Os óleos essenciais são misturas complexas de hidrocarbonetos terpenos e seus derivados oxigenados (álcoois, aldeídos e cetonas) bem como fenilpropanóides (Nascimento et al., 2019). Em alguns casos, os óleos essenciais podem englobar outras famílias químicas como ácidos graxos, óxidos e derivados de enxofre (Saad et al., 2013). A sua extração ocorre por diferentes métodos, sendo a extração por arraste a vapor uma das mais utilizadas (Vieites et al., 2020). A densidade dos óleos é geralmente menor do que a água, sendo os óleos essenciais voláteis, líquidos, límpidos, lipossolúveis, raramente coloridos e solúveis em solventes orgânicos (Chouhan et al., 2017). Sua composição, no entanto, pode mudar durante as estações do ano e ainda depende do solo e de fatores climáticos (Yelsibag et al., 2013).

Os compostos ativos dos óleos essenciais atuam especialmente na defesa da planta contra agentes externos (Fascina et al., 2012) e são o ponto de interesse em sua utilização, especialmente devido aos seus efeitos antibacterianos e antioxidantes (Yelsibag et al., 2013). Outro ponto é a complexa composição dos diferentes óleos e a possibilidade de sinergia entre eles, sendo de interesse o uso de óleos essenciais extraídos de diferentes plantas (Saad et al., 2013). Um óleo essencial pode conter aproximadamente 20 a 60 componentes em concentrações bem diferenciadas, sendo caracterizados por um, dois ou três componentes em altas concentrações (20-70%). A quantidade de um composto varia de acordo com a espécie e diferentes partes da planta da qual o óleo foi extraído, sendo o componente mais abundante considerado o seu princípio ativo (Huyghebaert et al., 2011; Chouhan et al., 2017; Tanveer et al., 2020).

Os modos de ação dos óleos essenciais segundo Mehdi et al. (2018) está principalmente na interferência dos mesmos sobre o sistema enzimático das bactérias e na modulação das respostas imunes e inflamatórias. A utilização dos óleos essenciais vem sendo estudada na alimentação animal como uma fonte segura e sustentável para a substituição dos promotores de crescimento pois, quando usados em níveis adequados, seus resultados são próximos a suplementação tradicional em relação a parâmetros de digestibilidade, saúde, morfologia intestinal e desempenho das aves (Vieites et al., 2020). Os efeitos dos óleos essenciais são evidenciados no sistema digestivo, onde eles auxiliam no estabelecimento e ou restauração de sua microbiota intestinal (Tanveer et al., 2020).

Uma importante característica dos óleos essenciais e seus componentes é a sua hidrofobicidade, responsável por sua ação antimicrobiana. Os compostos fenólicos são hidrofóbicos, o que leva ao seu acúmulo na camada lipídica presente na membrana celular bacteriana, tornando-a mais permeável (Chouhan et al., 2017). Ao penetrarem na célula bacteriana, eles exercem uma atividade inibitória no citoplasma, causando a sua morte devido à ruptura na membrana celular bacteriana, que resulta no extravasamento de íons e moléculas para o exterior da célula (Cristiani et al., 2007; Silva et al., 2009; Chouhan et al., 2017). Os óleos essenciais ainda agem como antioxidantes, sendo que estes mecanismos são baseados tanto em sua capacidade de doar um hidrogênio ou um elétron para os radicais livres quanto em sua capacidade de deslocar o elétron

desemparelhado dentro da estrutura aromática das substâncias fenólicas, exercendo um efeito protetor contra a oxidação (Migliorini et al., 2019).

Há ainda outras formas de atuação dos óleos essenciais no ambiente intestinal, por exemplo, a sua utilização resulta no crescimento de enterócitos, com consequente mudança na morfologia intestinal e melhora na absorção dos nutrientes da ração (Fascina et al., 2012). O epitélio intestinal atua como um filtro natural contra bactérias nocivas, e ainda vilosidades mais curtas foram descritas como uma causa para a má absorção de nutrientes, portanto, a manutenção e até mesmo a melhoria da morfologia intestinal por meio do uso de óleos essenciais podem ser extremamente benéficas (Tanveer et al., 2020). Outros efeitos dos óleos essenciais sobre o organismo do animal incluem o estímulo de enzimas pancreáticas e digestivas (Jang et al., 2004) e ações imunomoduladoras (Huyghebaert et al., 2011). Porém, seus mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados. Considerando o grande número de diferentes grupos de compostos químicos presentes nos óleos essenciais, provavelmente existam diferentes mecanismos de ação (Brenes e Moura, 2010).

Conforme dito, há uma gama de compostos ativos de acordo com a espécie de planta da qual foi extraído o óleo essencial. Entre os compostos estudados estão o timol, e seu isomérico carvacrol, extraídos dos óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris*) e orégano (*Origanum vulgare*), respectivamente (Lima et al., 2017), conhecidos especialmente pela sua capacidade antimicrobiana causada pela ruptura celular bacteriana (Pham et al., 2020). O eugenol, extraído do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*), possui sua atividade antimicrobiana (Oyedemi et al., 2009), e tem demonstrado propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Barboza et al., 2018). O cinemaldeído principal, composto ativo do óleo de canela (*Cinnamomum zeylanicus*), também tem sido avaliado na nutrição animal por ser conhecido como um importante agente antibacteriano (Doyle e Stephens, 2019) e anti-inflamatório (Chao et al., 2008).

A utilização de combinações de óleos essenciais vem sendo preconizada a cada dia mais nas dietas de animais de produção (Haffez et al., 2016). Timol, eugenol e carvacrol são estruturalmente semelhantes e são conhecidos por seus efeitos antimicrobianos sinérgicos ou aditivos, quando suplementados em conjunto, mesmo em concentrações mais baixas (Pham et al., 2020). Shen et al. (2020) demonstraram que a

mistura de timol e cinamaldeído aumentou de maneira significativa a microbiota intestinal em aves e suínos e, em conjunto com o carvacrol, promoveram aumento na altura das vilosidades e profundidade das criptas no intestino, o que sugere maior capacidade de absorção de nutrientes pelo intestino (Reis et al., 2018). Todos os benefícios relatados, por fim, voltam a atenção para os óleos essenciais como alternativas potenciais aos promotores de crescimento (antibióticos) na produção animal (Pham et al., 2020).

Outro ponto que tem feito os estudos cada vez mais voltarem a atenção aos óleos essenciais se baseia na ação antioxidante destes. Torki et al. (2015) avaliaram o efeito da suplementação de zinco e óleo essencial de canela, combinados ou não, sobre o desempenho produtivo de poedeiras criadas sob condição de estresse por frio (conhecido por sua capacidade de levar ao desequilíbrio oxidativo). Os autores concluíram que a combinação de ambos pode ter efeitos benéficos no desempenho e nos parâmetros sanguíneos de galinhas criadas sob condição de estresse por frio. No estudo de Migliorini et al. (2019) esses autores verificaram que o óleo essencial de orégano melhorou a qualidade dos ovos de poedeiras submetidas ao estresse pelo frio. Yu et al. (2018) investigaram os efeitos do óleo essencial de anis estrelado (*Illicium verum*) sobre o desempenho e atividade antioxidante de aves de postura. Como resultado, os autores observaram que as aves suplementadas apresentaram maior peso corporal e maior peso relativo do timo, além da maior atividade de enzimas antioxidantes no fígado e na gema de seus ovos.

Sendo assim, mais investigações sobre o mecanismo de ação podem ser interessantes para entender como explorar adequadamente cada produto para uma finalidade específica ou em diferentes áreas da produção animal (Scicutella et al., 2021). Os resultados do uso de óleos essenciais em frangos de corte e em aves de postura são promissores, mas há muito ainda a ser estudado, visto a ampla variedade de plantas e compostos bioativos existentes, o que resulta em infinitas combinações possíveis. Além disso, existe a real necessidade de mais estudos explorando como os óleos essenciais podem auxiliar os animais a manter sua produção quando expostos a diferentes tipos de estressores enfrentados rotineiramente por eles durante sua criação.

1.1.2. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são componentes naturais de plantas e tecidos animais, podendo ser formados por bactérias do trato gastrointestinal (Dibner e Buttin, 2002). Frequentemente referidos como ácidos graxos voláteis, ácidos graxos, ácidos carboxílicos ou ácidos fracos, são compostos de ocorrência natural, caracterizados por possuírem ao menos um grupo carboxila (-COOH) (Broom, 2015). Nem todos os ácidos possuem efeitos sobre a microflora intestinal, sendo os ácidos orgânicos de cadeia curta (C1-C7) associados à atividade antimicrobiana específica. Dentre esses, estão os ácidos monocarboxílicos simples, ácido fórmico, acético, propiônico e butírico (Khan e Iqbal, 2016; Pham et al., 2020). Os ácidos carboxílicos com um grupo hidroxila, como o lático, málico, tartárico e cítrico também estão inclusos na relação de ácidos orgânicos com atividade antimicrobiana (Dibner e Buttin, 2002; Ricke, 2003). A nível intestinal, a regulação da flora ocorre graças à redução do pH, que por sua vez reduz a colonização intestinal por microrganismos patogênicos, além de reduzir seus metabólitos, como a amônia (Khan et al., 2016). Posteriormente, eles mantêm o nível de bactérias benéficas do trato gastrointestinal (Bansod et al., 2020).

Os mecanismos de regulação da microflora intestinal ocorrem graças às características específicas destes ácidos, que são fracos e estão parcialmente dissociados. Sua característica essencial é o valor de seu pKa, que é a sua constante de dissociação, na qual ocorre a liberação de íons hidrogênio positivamente carregados, resultando na acidificação do meio (Broom, 2015). O valor de pKa, portanto, define o pH em que metade do ácido é dissociado, um aspecto importante para o seu efeito antimicrobiano (Broom, 2015). Em um pH mais baixo, haverá mais ácidos orgânicos em sua forma não dissociada, sendo estes lipofílicos e capazes de se difundir livremente através da membrana celular microbiana, principalmente por difusão (Partanen, 2001; Van Immerseel et al., 2007). Devido ao pH neutro do citoplasma, estes ácidos dissociam-se em seu interior, liberando ânions e prótons e acidificando o pH citoplasmático (Khan e Iqbal, 2016). As células microbianas necessitam de um pH quase neutro para manter-se funcionais, e para exportar os prótons e regular o seu pH, consomem suas reservas de ATP resultando na depleção da energia celular (Davidson, 2001; Ricke, 2003; Fouladi et al., 2018).

Ademais, os ácidos orgânicos, especialmente o fórmico, cítrico e propiônico, são descritos por suas propriedades de aumentar a digestibilidade e proteólise gástrica (Maty e Hassan, 2020). Essa atuação pode ocorrer devido as alterações de pH causadas pelos compostos. À medida que o pH abaixa, a atividade das enzimas digestivas aumenta e a reprodução dos patógenos intestinais reduz, resultando no equilíbrio da microbiota e utilização eficiente dos nutrientes pelos animais (Walk et al., 2012; Wang et al., 2019).

Os ácidos orgânicos são decorrentes da fermentação da microbiota intestinal benéfica, sendo um componente natural do ambiente gastrointestinal, e como a composição e densidade da microbiota intestinal muda de acordo com a idade, localização no trato gastrointestinal e componentes da dieta, a concentração desses compostos variam em conformidade (Rehman et al., 2007; Andreolopou et al., 2014; Broom, 2015). São possíveis, portanto, os efeitos aditivos dos diferentes ácidos orgânicos. Há também indícios de que ácidos de cadeia média (com comprimento de 8 a 12 átomos de carbono, possuindo menor taxa de absorção devido ao maior peso molecular) podem melhorar a eficácia dos ácidos de cadeia curta, tornando seu espectro mais amplo (Huyghebaert et al., 2011). Portanto, a combinação de diferentes ácidos é vista como a melhor maneira para utilização como aditivos (Huyghebaert et al., 2011). Outro ponto de interesse é a utilização de blends com ácidos de diferentes pKa, atuando em diferentes partes do trato digestivo do animal (Ricke, 2003), sendo relatado que a mistura de vários ácidos orgânicos, resulta em atividade microbiana semelhante a estimulada pelos antibióticos (Wang et al., 2009). Sua utilização também apresenta melhorias na atividade de enzimas digestivas, secreções pancreáticas e alterações benéficas na altura das vilosidades intestinais (Yang et al., 2019).

Além dessas funções supracitadas, sabe-se que quando os aditivos fitogênicos e os ácidos orgânicos são fornecidos juntos na ração, eles são capazes de melhorar a digestão de nutrientes, resultando no aumento do desempenho dos frangos de corte (Iqbal et al., 2021). Acredita-se que o benefício do sinergismo desses dois compostos possa ser devido à modulação positiva da microflora gastrointestinal (Iqbal et al., 2021). Os óleos essenciais por serem hidrofóbicos tornam a membrana celular bacteriana mais permeável, resultando em um aumento do influxo de ácidos orgânicos no citoplasma celular, prejudicando o metabolismo celular das bactérias (Stefanello et al., 2020).

Além de melhorias no quesito digestibilidade, esses compostos atuam como conservantes em rações, evitando a proliferação de bactérias e fungos durante a sua estocagem (Theron e Lues, 2011).

A utilização dos ácidos orgânicos se apresenta como mais uma alternativa para utilização como aditivo alimentar na produção animal (Bansod et al., 2020), tendo apresentado bons resultados na suplementação de codornas, ocasionando melhora no ganho de peso, eficiência alimentar, desempenho de postura, regulação da flora intestinal, melhora na qualidade de ovos (Khan et al., 2016) e nos parâmetros intestinais (Peyman et al., 2014). De acordo com Wang et al. (2009), a melhor qualidade dos ovos das aves suplementadas com ácidos orgânicos pode ocorrer devido à atividade antimicrobiana destes, o que resulta na melhora da digestibilidade total dos nutrientes, e consequentemente levando ao maior aporte nutricional disponível para os ovos. A maioria dos trabalhos, contudo, está focada na atuação dos ácidos orgânicos em frangos de corte, havendo uma carência na investigação do uso de ácidos orgânicos em poedeiras (Scicutella et al., 2021), sendo necessário mais estudos sobre a sua ação em aves de postura, especialmente codornas.

1.1.3. Curcumina

O composto fenólico curcumina é o princípio ativo da *Curcuma longa*, planta originária da Índia (Reda et al., 2020). A curcumina é considerada uma molécula funcional que pode ser adicionada na alimentação animal (Galli et al., 2018) especialmente por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (Fascina, 2011; Galli et al., 2018). Sua ação antioxidante está relacionada a sua capacidade de doação de elétrons ou átomos de hidrogênio, para as espécies reativas de oxigênio (ROS) estabilizando-as, evitando assim que as ROS reajam com biomoléculas (DNA, proteínas e lipídeos) e causem oxidações nesses componentes celulares (Itokawa et al., 2008; Rosa et al., 2020).

A atividade anti-inflamatória da curcumina ocorre graças à sua capacidade de regular negativamente a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas e quimiocinas, através do fator de transcrição nuclear alfa kappa beta (NF- $\kappa\beta$) (Basnet e Skalko-Basnet, 2011; He et al., 2015). A curcumina também possui a capacidade de modular a ativação de células T,

células B, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células natural killer (NK), promovendo modulação da resposta imune (Basnet e Skalko-Basnet, 2011). Ademais, a sua capacidade antimicrobiana é desejável na produção animal, pois promove a melhora do equilíbrio da microbiota intestinal (Rosa et al., 2020).

Suas propriedades funcionais e fitogênicas refletem na qualidade, integridade, aparência externa, tamanho, composição interna e potencial nutricional de ovos de codornas (Silva et al., 2018). No estudo de Saraswati e Tana (2016), a suplementação de cúrcuma em pó aumentou os níveis de vitelogenina, lipoproteína de alta densidade (HDL), vitamina B12, vitamina A, ácido linoleico e ácido araquidônico nos ovos. De acordo com Rosa et al. (2020) a inclusão de curcumina na dieta de poedeiras pode aumentar a estabilidade oxidativa dos ovos.

Apesar de seus efeitos benéficos, a curcumina é instável ao pH intestinal, tem rápido metabolismo, baixa solubilidade e absorção intestinal, sendo conjugada no fígado e excretada nas fezes. Por isso, possui limitada biodisponibilidade sistêmica (Jager et al., 2014). Ao ser administrada em camundongos por via oral, cerca de 75% do composto foi excretado nas fezes, com uma pequena quantidade encontrada na urina e no plasma sanguíneo (Moniruzzaman e Min, 2020). Moniruzzaman e Min (2020) relataram que o microencapsulamento desse composto poderia aumentar a sua biodisponibilidade, sendo que a maior concentração de curcumina na circulação sanguínea poderia aumentar a deposição tecidual e a atividade biológica em animais.

1.1.4. Taninos

Os taninos são compostos polifenólicos encontrados em diversas espécies de plantas. Estes são metabólitos secundários, atuando como parte da defesa química da planta contra a invasão de patógenos e insetos (Huang et al., 2018). Os taninos podem ser caracterizados como hidrolisáveis ou condensados, de acordo com o seu esqueleto de carbono (Ramah et al., 2020). Os hidrolisáveis são baseados no ácido gálico, geralmente como ésteres múltiplos com D-glicose, enquanto os taninos condensados são mais numerosos e derivados de monômeros de flavonóides (Redondo et al., 2014).

Os taninos impactam a saúde animal de maneira dose-dependente (Batszcz et al., 2018). Seu consumo excessivo é prejudicial, podendo causar redução do crescimento animal e consumo de ração, além da indução de estresse em aves, o que pode estar

envolvido no comprometimento do sistema imunológico (Huang et al., 2018; Ramah et al., 2020). Em doses baixas, porém, esse composto está associado a melhora da resposta imunológica (Ramah et al., 2020). Portanto, o tanino na dieta pode afetar tanto positivamente quanto negativamente o desempenho dos animais (Ramah et al., 2020).

Os taninos possuem atividade antimicrobiana, e seus mecanismos propostos são a privação de substratos necessários para o crescimento microbiano, com ação direta no metabolismo dos microorganismos pela inibição da fosforilação oxidativa de enzimas microbianas extracelulares, privação de íons metálicos ou formação de complexos com a membrana celular bacteriana, ocasionando aumento da permeabilidade da membrana (Liu et al., 2013; Huang et al., 2018). Bactérias patogênicas como a *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Helicobacter pylori*, entre outras, apresentaram-se sensíveis aos taninos (Liu et al., 2013; Huang et al., 2018). Estudos *in vitro* e *in vivo* também demonstraram propriedades anti-helmínticas, porém, seus efeitos variam conforme a composição química e estrutura dos taninos, espécies parasitas, estágios de seu crescimento e espécies hospedeiras (Huang et al., 2018). Ademais, esses compostos fenólicos são também reconhecidos por sua capacidade antioxidante e atividades anti-inflamatórias associadas, através da eliminação de radicais livres (Huang et al., 2018).

Por muito tempo, esse composto foi caracterizado como um fator anti-nutricional para animais monogástricos. Porém, seus efeitos anti-nutricionais foram baseados especialmente em experimentos realizados com altas doses na ração, utilizando taninos condensados purificados ou plantas com excesso de tanino, como o sorgo, o que levou a redução da produtividade (Hassan et al., 2003). Porém, agora sabe-se que suas propriedades benéficas ou prejudiciais dependem de sua estrutura química (geralmente associada à origem vegetal) e dosagem, além de outros fatores como espécie animal, estado fisiológico e composição da dieta (Redondo et al., 2014). Um nível moderado de tanino é capaz de melhorar a nutrição e o estado de saúde em animais monogástricos (Redondo et al., 2014). No entanto, os efeitos dos taninos no desempenho de crescimento e ecossistema intestinal das galinhas ainda são inconsistentes e seu modo de ação ainda não está esclarecido (Choi e Kim, 2020).

1.1.5. Vitamina E e zinco

Além dos aditivos fitogênicos usados na alimentação animal, o zinco e a vitamina E também tem sido amplamente utilizados na dieta animal, por serem considerados como nutracêuticos por proporcionarem benefícios à saúde do animal (Thacker, 2013; Dalólio et al., 2015). A vitamina E (tocoferol) e o micromineral zinco são conhecidos por serem importantes antioxidantes (Ali et al., 2018), sendo muito utilizados como suplementos para aves (Sahin et al., 2005).

O zinco é apontado como cofator para mais de 200 enzimas, incluindo a enzima anidrase carbônica que está envolvida na deposição de carbonato de cálcio na casca do ovo (Zhang et al., 2017), e as enzimas que participam do sistema de defesa antioxidante (Sahin et al., 2005; Santos et al., 2021), sendo a sua deficiência responsável por danos causados pelos efeitos da ação dos radicais livres (Salgueiro et al., 2000; Torki et al., 2015). O zinco faz parte da estrutura da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), sendo a atividade desta enzima reduzida na deficiência deste mineral (Powell, 2000; Mafra e Cozzolino, 2004). A sua concentração também leva à síntese de metalotioneína, proteína que combate o estresse oxidativo através do controle dos níveis de metais pesados no organismo (Raynério Costa e Marreiro, 2006). Além disso, o zinco também desempenha função magno durante a deposição do albúmen no ovo (Tabatabaie e al., 2007). Portanto, o zinco é um importante suplemento na dieta de aves para obtenção de respostas produtivas positivas (Lopes et al., 2015).

O zinco é o segundo oligoelemento mais abundante no corpo do animal, e não pode ser armazenado, portanto, é necessária uma ingestão regular (Swain et al., 2016). Embora a sua exigência seja baixa em aves, sua deficiência pode afetar o desempenho e crescimento, causando perdas na produção (Santos et al., 2021). O zinco é um componente essencial das enzimas DNA e RNA polimerase, e é vital para a atividade de uma variedade de hormônios, incluindo glucagon, insulina, hormônio do crescimento e hormônios sexuais (Sahin et al., 2006). Fatores anti-nutricionais como o fitato presentes na dieta podem complexar com o zinco e afetar a sua disponibilidade ao formar quelatos indigeríveis. Na dieta a base de milho e farelo de soja, uma parte do zinco presente encontra-se indisponível devido à presença de fatores anti-nutricionais (Fernandes, 2012). A baixa absorção de zinco da dieta pelo organismo do animal abre uma janela

para novas abordagens, buscando melhores fontes de zinco biodisponíveis (Swain et al., 2016).

A vitamina E (tocoferol) é incluída na ração animal com objetivos semelhantes a inclusão do zinco, como a ação antioxidante, e por melhorar o desempenho e estado imunológico do animal (Sahin et al., 2006; Jena et al., 2013). Dentre as vitaminas, os tocoferóis são os únicos que agem primariamente como antioxidantes, não estando envolvidos diretamente na regulação celular. Essa vitamina é um dos antioxidantes mais amplamente utilizados na nutrição de aves e um dos principais antioxidantes presentes nas membranas plasmáticas de todas as células e órgãos subcelulares, funcionando como um agente que quebra reações em cadeias das ROS e eliminador de radicais livres (Basmacioğlu Malayoğlu et al., 2009). Assim, algumas das funções desta vitamina são: a proteção dos ácidos graxos da camada fosfolipídica da membrana celular, e a fração quinona dos tocoferóis é responsável pela desativação de radicais livres como os radicais de hidrogênio (H), radicais superóxido (O_2^-), radicais hidroxila ($OH\cdot$), peróxido de H (H_2O_2), entre outros (González e Silva, 2019).

2.0. Benefícios da microencapsulação de aditivos

Apenas a adição de óleos essenciais, ácidos orgânicos, vitaminas, microminerais entre outros compostos nas rações dos animais com o intuito de melhorar seu valor nutricional, pode não apresentar resultados totalmente satisfatórios. Estes compostos podem degradar lentamente, perder sua atividade, comprometer o sabor, textura e aroma dos alimentos (Dubey, 2009; Heydarian et al., 2020) e até mesmo serem metabolizados rapidamente no início do processo digestivo, apresentando pouca ação no terço final do trato gastrointestinal (Khan e Iqbal, 2016). Neste ponto, a microencapsulação vem como uma alternativa para superar esses desafios impostos (Bilia et al., 2014).

A microencapsulação pode ser definida como o processo de construção de uma barreira funcional entre o núcleo e o material da parede, evitando reações químicas e físicas, mantendo assim as propriedades biológicas, funcionais e físico-químicas dos ingredientes microencapsulados (Gheisar et al., 2015; Bakry et al., 2016). Proteger os compostos das reações oxidativas, de degradação e volatilização é o principal benefício da microencapsulação de compostos bioativos naturais (Jia et al., 2016; Mohaheri et al., 2021).

No caso dos suplementos à base de ácidos orgânicos e óleos essenciais, uma matriz lipídica como a gordura vegetal permite que os compostos apresentem efeitos durante todo o trato gastrointestinal, sendo liberados lentamente durante toda a digestão e atuando de forma igual nas partes intestinais posteriores (Van Immersell et al., 2009), especialmente no íleo e nos cecos, locais que apresentam maior crescimento microbiano nas aves (Dunislawska et al., 2021). Isso significa que a substância ativa microencapsulada atuará de fato somente no local onde deveria. Portanto, a microencapsulação atrasa a absorção dos compostos microencapsulados, porém sem afetar a sua biodisponibilidade (Piva et al., 1997), aumentando significativamente a ação destes.

3.0. Metabolismo Oxidativo

Os processos metabólicos do organismo resultam na formação de diversos tipos de espécies oxidativas, dentre estas estão as espécies reativas de oxigênio (ROS) (Campos e Leme, 2018). Durante o metabolismo celular, as células utilizam o oxigênio para formação de ATP (adenosina trifosfato) (Pham-Huy et al., 2008). No entanto, aproximadamente 4% do oxigênio que entra no metabolismo celular é convertido em ROS (Fernandez-Mujía, 2013) sendo estas consideradas um subproduto da respiração aeróbica (Halliwell et al., 2007).

Em condições fisiológicas normais, a célula mantém em equilíbrio a produção desses oxidantes e a sua eliminação pelo sistema de defesa antioxidante (Bacou et al., 2021). Essas espécies reativas, quando em baixa quantidade, atuam como moléculas sinalizadoras, auxiliando especialmente na função imunológica, proliferação e renovação celular. Porém, quando em altas concentrações, as ROS e outras substâncias oxidativas geram estresse oxidativo, que é um processo deletério que pode danificar todas as estruturas celulares (Pham-Huy et al., 2008).

Algumas espécies reativas são denominadas radicais livres, por possuírem um elétron desemparelhado na sua órbita externa, o que as tornam instáveis e predispostas a reações químicas com outras moléculas do organismo, causando a sua oxidação (Fang et al., 2002; Surai et al., 2016). O número ímpar de elétrons de um radical livre o faz abstrair elétrons de outros compostos para obter estabilidade. Assim, a molécula atacada perde seu elétron e se torna um radical livre, iniciando uma cascata de reação em cadeia

que finalmente danifica a célula viva (Phaniendra et al., 2014). Entre as ROS denominadas radicais livres estão o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e o superóxido (O_2), sendo estes muito mais danosos em relação as ROS não radicais, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que não apresentam um elétron desemparelhado (Bacou et al., 2021).

A seleção genética para rápido crescimento, melhor conversão alimentar e altas taxas de produção de ovos tornaram as aves de produção (frangos de corte e poedeiras), mais suscetíveis ao estresse oxidativo, devido à sua alta taxa metabólica (Surai et al., 2019). O estresse oxidativo também pode ocorrer no início da vida do animal durante o desenvolvimento embrionário, pois nesse período, o aumento da captação de oxigênio e da respiração mitocondrial são necessários para o fornecimento de energia para o crescimento tecidual, transporte de nutrientes da gema, manutenção dos batimentos cardíacos entre outras funções essenciais (Surai et al., 1999). Esse alto metabolismo embrionário vem acompanhado da maior produção destes compostos oxidativos (Surai et al., 1999).

As aves possuem ainda uma grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), especialmente nos tecidos embrionários, e estes por sua vez são altamente suscetíveis aos radicais livres, que degradam os PUFAs em um processo denominado peroxidação lipídica, o que ocasiona perdas expressivas na produção e reprodução de aves (Surai et al., 2016). A peroxidação lipídica, portanto, é o processo no qual as espécies de caráter oxidativo atacam predominantemente os PUFAs presentes na membrana celular, resultando em ruptura da membrana e morte celular. Alguns subprodutos da peroxidação lipídica, como malondialdeído (MDA), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), isoprostanos (ISP), dienos conjugados e 4-hidroxicenais (4-HNE) são usados como biomarcadores da peroxidação lipídica (Celli, 2011; Bacou et al., 2021).

As espécies oxidativas também estão relacionadas a uma infinidade de distúrbios fisiológicos, devido à oxidação e consequente modificação e inativação de proteínas (Stadman e Levine, 2006). Esse processo ocorre através da oxidação direta de cadeias laterais de lisinas, argininas, prolínas e treoninas, ou por ligação covalente de produtos da peroxidação lipídica (por exemplo, aldeídos insaturados) (Bigarella et al., 2014),

resultando na formação de carbonilas de proteínas, que são utilizadas como marcador de dano oxidativo proteico (Chevion et al., 2000).

4.0. Sistema de defesa antioxidante

Durante a evolução, os organismos vivos desenvolveram mecanismos para lidar com as espécies reativas, o que permitiu a sobrevivência dos mesmos em um ambiente rico em oxigênio. Esses mecanismos de defesa são denominados como sistema de defesa antioxidante, sendo sugerido a existência de três grandes níveis de defesa antioxidante na célula (Surai et al., 2019), os quais são responsáveis pela proteção celular contra a ação dos radicais livres (Surai, 2016). A rede de defesa antioxidante é responsável pela manutenção de baixos níveis de espécies reativas, eliminando-os e convertendo-os em produtos não tóxicos ao organismo (Surai et al., 2019).

O primeiro nível de defesa antioxidante é governado por um sistema enzimático representado, principalmente, pelas enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH-Px) (Fang et al., 2002; Filomeni et al., 2002). Essa via de defesa enzimática é responsável pela desintoxicação celular já no início do processo da formação das substâncias oxidativas, por serem capazes de removerem espécies moleculares reativas ou seus derivados intermediários, ou ainda por catalisarem a transformação dessas moléculas deletérias em compostos menos ativos (Surai, 2000; Possenti et al., 2017).

Conforme demonstrado na Figura 1, essa defesa antioxidante enzimática tem início com a ação de dismutação do ânion superóxido mediado pela SOD, produzindo o peróxido de hidrogênio e água. Em seguida as enzimas GSH-Px e a CAT terminam o processo de desintoxicação celular iniciado pela SOD, ao converter o peróxido de hidrogênio em moléculas de água e oxigênio (Fang et al., 2002; Surai, 2016; Surai et al., 2019).

Um segundo nível de defesa é necessário ao organismo do animal, já que as enzimas não conseguem combater eficazmente a grande variedade e quantidade da formação de radicais nos sistemas biológicos (Surai et al., 2019). Os antioxidantes principalmente os sequestradores de radicais livres, ditos não enzimáticos (Surai et al., 2019), que podem ser sintetizados no organismo ou serem adquiridos por meio da dieta, atuam em sua grande maioria como cofatores de enzimas antioxidantes removendo íons

metálicos ou sofrendo oxidação para extinguir os radicais livres e outras espécies reativas (Possenti et al., 2017). Dentre os antioxidantes sequestrantes de radicais livres inclusos nesse segundo nível de defesa estão a vitamina E, o ácido ascórbico, o ácido úrico, a metionina, o tripeptídeo glutatona (GSH), dentre outros (Surai et al., 2019). De acordo com Surai et al. (2019) a vitamina E é o principal antioxidante biológico presente nas membranas celulares, e segundo Lu (2013) a glutatona é o tiol não proteico mais abundante que defende as células do estresse oxidativo. A GSH é determinante chave da sinalização celular redox, sendo de vital importância por atuar de inúmeras formas a saber, como substrato para a enzima glutatona peroxidase (Bacou et al., 2021), estando também envolvida na redução da forma oxidada da vitamina C a ácido ascórbico, o qual é necessário para defesa antioxidante e restauração da função da vitamina E (Bacou et al., 2021; Tram et al., 2021). Além disso, a GSH confere proteção às proteínas contra processos oxidativos irreversíveis, por estar envolvida no processo de glutatonação (Musaogullari e Chai., 2020), que é um mecanismo importante para manter o ambiente redox e prevenir a perda de GSH sob condições de estresse oxidativo (Lu, 2013).

Por fim, como o segundo nível de defesa antioxidante também não é potente o suficiente para prevenir danos às moléculas biológicas, o terceiro nível de defesa antioxidante age para reparar ou remover moléculas danificadas (Surai et al., 2019). Dentre os antioxidantes inclusos neste terceiro nível de defesa estão a enzima metionina sulfóxido redutase (Msr); as proteínas de choque térmico (HSPs); enzimas reparadoras de DNA, as fosfolipases e os proteossomos, entre outros (Surai et al., 2019).

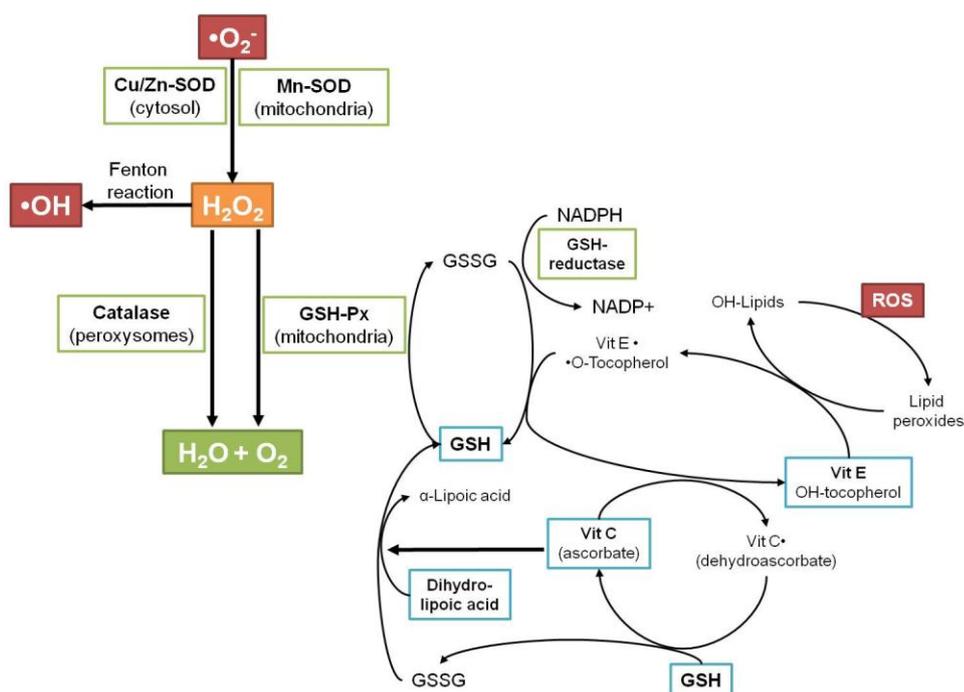


Figura 1. Defesas antioxidantes do organismo (Fonte: Fernandez-Mejía, 2013).

O embrião das aves também possui a sua defesa antioxidante para garantir o desenvolvimento embrionário normal e a viabilidade do pintainho pós-eclosão. Este equilíbrio é mantido por antioxidantes endógenos e exógenos, sendo os últimos adquiridos através da dieta materna (Yigit et al., 2014; Surai e Koshich, 2019). A transferência de antioxidantes para o pintainho recém-eclodido e sua proteção contra vários agentes estressores no início da vida pós-natal é fundamental para o desenvolvimento de funções vitais nas aves, incluindo o sistema imunológico e digestivo (Surai e Koshich, 2019). Nesse sentido, a suplementação de antioxidantes na dieta da matriz potencializa a atividade antioxidante no embrião por reações enzimáticas e não enzimáticas, reduzindo a susceptibilidade de seus tecidos as ROS por exemplo, produzidas em altas quantidades durante o intenso metabolismo na fase de incubação e próximo da eclosão, podendo aumentar a eclodibilidade e a viabilidade dos pintainhos durante os primeiros dias de vida (Paiva et al., 2018).

Antioxidantes derivados da dieta, como os carotenóides e vitaminas E e A são os mais conhecidos por sua deposição na gema do ovo e capacidade de redução do estresse oxidativo em embriões em desenvolvimento (Deeming e Pike, 2013), e seu mecanismo de ação antioxidante ocorre através da remoção ou inativação dos radicais livres

formados durante a iniciação ou propagação de uma reação oxidativa. Isso se dá por meio da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, e nesse ponto ocorre a interrupção da reação oxidativa em cadeia (Simic, 1994).

A aquisição de capacidade antioxidante pelo embrião, portanto, não serve apenas para proteger os tecidos embrionários, mas pode também representar uma preparação para os riscos oxidativos potenciais associados à eclodibilidade (Surai, 1999). A mudança da respiração corioalantóica para a respiração pulmonar (e consequente exposição ao oxigênio atmosférico) aumenta consideravelmente o metabolismo oxidativo. Além disso, a aquisição de capacidade antioxidante do embrião mediada pela dieta materna pode refletir no posterior desenvolvimento do animal (Panda e Cherian, 2014), visto que a maior quantidade armazenada de antioxidantes endógenos e exógenos em tecidos como o fígado de pintainhos nas primeiras semanas de vida, está associada a redução do estresse oxidativo durante o crescimento inicial (Surai et al., 1999; Surai et al., 2016).

5.0. Sistema reprodutivo de matrizes

O sistema reprodutivo feminino das aves é composto por apenas um lado funcional. O ovário e oviduto direito não se desenvolvem devido à ação do hormônio anti-mulleriano (Morais et al., 2012). Por outro lado, o ovário esquerdo se desenvolve normalmente, devido ao seu maior número de receptores de estrogênio, o que não permite a ação do hormônio inibidor (Sreesujatha et al., 2016).

O ovário das aves contém uma hierarquia de folículos em crescimento que progride gradualmente até a maturidade. Os folículos ovarianos são classificados em pré-hierárquicos e pré-ovulatórios (Morais et al., 2012). Os folículos pré-ovulatórios são numerados de acordo com o seu tamanho, sendo o folículo F1 o maior e próximo a ser ovulado, seguido pelos folículos F2, F3, F4 e assim por diante, como demonstrado na Figura 2 (Morais et al., 2012)

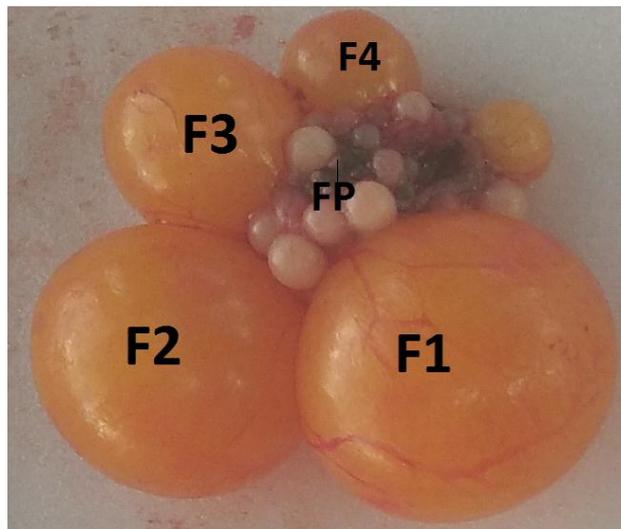


Figura 2. Folículos pré-hierárquicos (FP) e folículos pré-ovulatórios organizados em ordem hierárquica (F1, F2, F3 e F4). Fonte: Arquivo Pessoal

A organização hierárquica dos folículos permite a ovulação diária (Rutz et al., 2007; Rufino et al., 2018). No ovário de poedeiras, o recrutamento cíclico de um folículo representa um processo no qual um único folículo é selecionado para entrar na fase de crescimento rápido e sofrer maturação final antes da ovulação (Johson e Lee, 2016). Quando o folículo ultrapassa o tamanho de 8 mm, ele entra em hierarquia, continuando o seu desenvolvimento através da deposição de camadas de lipoproteínas (gema) até a ovulação (Rufino et al., 2018). O folículo pré-ovulatório, portanto, é formado por um oócito, que é o gameta feminino, e a gema, sendo esta responsável especialmente pelas fontes de lipídeos utilizados pelo embrião durante o seu desenvolvimento (Barbosa, 2011). A gema precursora (vitelogenina) é formada no fígado, e transportada para o folículo ovariano através da circulação sanguínea (Saraswati e Tana, 2015).

Após a ovulação, o folículo ovariano passa por todo o oviduto até a sua postura, onde ocorre a formação do ovo simultaneamente. O oviduto é formado pelo infundíbulo, magno, istmo, útero e vagina, conforme demonstrado na Figura 3.

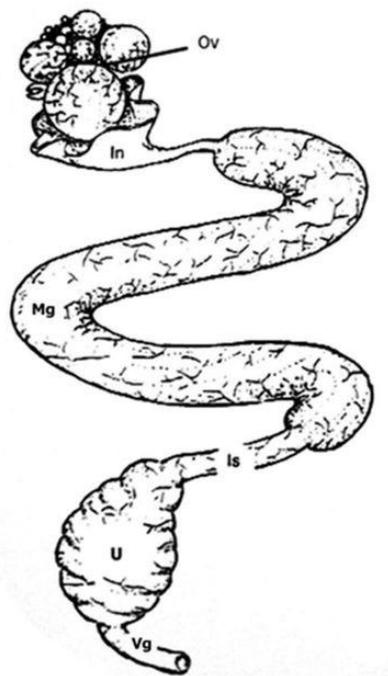


Figura 3. O oviduto estende-se desde o ovário (Ov) até a região cloacal, sendo dividido em cinco regiões morfológicamente distintas: infundíbulo (In), magno (Mg), istmo (Is), útero (U) e vagina (Vg). (Fonte: Morais et al., 2012).

O infundíbulo é o primeiro compartimento do oviduto, sendo o local onde ocorre a fertilização quando há a presença de espermatozóides retidos em uma glândula hospedeira localizada nessa região (Saraswati e Tana, 2015). O próximo compartimento é o magno, responsável pela secreção de albúmen, que é composto principalmente por proteína e água. No istmo, ocorre a deposição das fibras de queratina que farão parte das membranas da casca. Por fim, ocorre a deposição da casca, formada por carbonato de cálcio (98%) e matriz glicoproteica (2%) no útero, também denominado de glândula da casca. No lado externo da casca ocorre a deposição de uma camada proteinácea denominada cutícula, que protege o ovo da entrada de micro-organismos (Rufino et al., 2018).

6.0. Desenvolvimento embrionário e temperatura de incubação

A fecundação ocorre logo após a ovulação, e o desenvolvimento embrionário se inicia após aproximadamente três horas (Cesário, 2013). O ovo fertilizado continua o seu desenvolvimento embrionário durante a passagem pelo oviduto, devido à alta temperatura da ave, em torno de 41°C, coincidindo com a formação do ovo durante esse

período. No momento da oviposição, o embrião encontra-se no início da fase de gastrulação e com aproximadamente 60.000 células (Fiuza et al., 2006). Após a postura, o desenvolvimento é paralisado ao colocarmos o ovo em uma temperatura abaixo do “zero fisiológico”, que se encontra em torno de 22°C, sendo o desenvolvimento embrionário reiniciado com o aumento da temperatura (Rufino, 2018).

Em codornas, o período de incubação é de aproximadamente 17 dias (Ainsworth, 2010). Durante a incubação, a casca atua como fonte de cálcio e auxílio do equilíbrio eletrolítico, apresentando poros por onde ocorre as trocas gasosas do embrião. O albúmen fornece proteínas, além de ir se liquefazendo e disponibilizando água e eletrólitos para o embrião. A água, por sua vez, também é produzida em decorrência da oxidação dos lipídeos da gema (Tazawa e Whittow, 2000; Rufino et al., 2018).

A gema atua como uma fonte de nutrientes necessários para o desenvolvimento adequado do embrião, pois contém altos níveis de lipídeos, vitaminas e ácidos graxos essenciais (Saraswati e Tana, 2015). A utilização dos substratos da gema pelo embrião para a produção de energia é dependente de duas variáveis: física, representada pela temperatura, e bioquímica, representada pelas enzimas. As reações enzimáticas atuam modulando a velocidade e eficiência das reações, já a temperatura influencia na velocidade destas, retardando o processo em baixas temperaturas e acelerando em temperaturas mais altas (Rufino et al., 2018).

Em aves, o período entre a concepção do embrião e a postura e logo após entre a incubação e a eclosão é conhecido como “early life”. As condições durante essas fases contribuirão na determinação da resposta da progênie (Santana et al., 2018). Dessa forma, além do efeito materno decorrente da nutrição da mãe (Videla et al., 2020), aspectos físicos, como a temperatura de incubação, também influenciam todo o processo de desenvolvimento embrionário e desempenho após a eclosão (Reed e Clark, 2011; Archer et al., 2017; Burggren e Elmonoufy, 2017; Hanafy e Hegab, 2019; El-Sahter et al., 2021; Porto et al., 2021), podendo resultar em efeitos tanto positivos quanto negativos na prole (Dixon et al., 2016; Carvalho et al., 2020; El-Shater et al., 2021).

Em frangos, a temperatura ótima de incubação para o embrião é dita como sendo 37,8°C não devendo variar mais do que 0,3°C pois, com os embriões sendo poiquilotérmicos, a menor alteração na temperatura de incubação pode afetar o tamanho

do embrião, crescimento de órgãos, taxa metabólica e sucesso da incubação (Yalcin e Siegel, 2003; Alkan et al., 2013). Em codornas, a melhor temperatura de incubação estimada foi de 37,5°C (\pm 0,3°C) com 60% de umidade relativa (Pedroso et al., 2006; Abd El-Gawad et al., 2008; Randall e Bolla, 2008).

No início da incubação, quando o calor metabólico produzido pelo embrião ainda é baixo, uma temperatura constante mais alta pode acelerar o crescimento embrionário e a utilização de nutrientes e energia da gema e do albúmen, porém, há a tendência de um desequilíbrio entre a taxa metabólica embrionária e a disponibilidade de oxigênio na última parte da incubação (Lourens et al., 2007). Sendo assim, filhotes oriundos de ovos incubados a uma alta temperatura durante a incubação tardia tendem a apresentar uma qualidade inferior, comprimento menor, pior fechamento do umbigo e pesos mais baixos de vários órgãos, além de redução do tamanho quando adulto (Wijnen et al., 2020). De acordo com Molenaar et al. (2010), o menor desenvolvimento dos filhotes em alta temperatura pode ser devido à redução do período de duração da incubação, resultando em um menor tempo para usar os nutrientes da gema e se desenvolver. Sabe-se que a alta temperatura durante a incubação aumenta o metabolismo do embrião, aumentando o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono (Sgavioli et al., 2016), fatores esses que podem ser responsáveis pela eclosão precoce. Outro ponto em destaque é o custo do metabólico do crescimento acelerado decorrente da alta temperatura, que pode levar ao menor desempenho pós-eclosão devido ao estresse oxidativo (Nord e Nilson, 2016).

Há poucos estudos sobre a influência da temperatura de incubação em codorna japonesa, entretanto, as condições de incubação podem ser modificadas para estudo do impacto dos desafios ambientais e estressores durante a embriogênese (Carvalho et al., 2020) e conseqüente impactos durante o desempenho pós nascimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Gawad, A. H.; Hemid, A. E. A.; El-Wardany, I.; El-Daly, E. F.; Abd El-Azeem, N. A. 2008. Alleviating the effect of some environmental stress factors on productive performance in japanese quail 1. Growth performance. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5):605-611.
- Abd El-Hack, M. E.; El-Saadony, M. T.; Salem, H. M.; El-Tahan, A. M.; Soliman, M. M.; Youssef, G. B; Swelum, A. A. 2022. Alternatives to antibiotics for organic poultry production: types, modes of action and impacts on bird's health and production. *Poultry Science*, 101(4):101696.
- Abdelli, N.; Pérez, J. F.; Vilarrasa, E.; Melo-Duran, D.; Luna, I. C.; Karimirad, R.; Solà-Oriol, D. 2021. Microencapsulation improved fumaric acid and thymol effects on broiler chickens challenged with a short-term fasting period. *Frontiers in Veterinary Science*, 8:1-14.
- Adkins-Regan, E.; Banerjee, S. B.; Correa, S. M.; Schweitzer, C. 2013. Maternal effects in quail and zebra finches: behavior and hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 190:34-41.
- Ainsworth, S. J.; Stanley, R. L.; Evans, D. J. 2010. Developmental stages of the Japanese quail. *Journal of Anatomy*, 216:3-15.
- Ajuwon, K.M 2015. Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species. *Journal of Applied Poultry Research*, 25:277-283.
- Alkan, S.; Karsli, T.; Karabag, K.; Galic, A.; and Balcioglu, M. S. The effects of thermal manipulation during early and late embryogenesis on hatchability, hatching weight and body weight in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*), *Archives Animal Breeding*, 56:789–796.
- Alvis, A.; Arrazola, G.; Martinez, W. 2012. Evaluación de la actividad y el potencial antioxidante de extractos hidro-alcohólicos de cúrcuma (*Cúrcuma longa*). *Información Tecnológica*, 23:11-18.
- Andreopoulou, M.; Tsiouris, V.; Georgopoulou, I. 2014. Effects of organic acids on the gut ecosystem and on the performance of broiler chickens. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 65:289-302.
- Archer, G. S.; Jeffrey, D.; Tucker, Z. 2017. Effect of the combination of white and red LED lighting during incubation on layer, broiler, and Pekin duck hatchability. *Poultry Science*, 96:2670-2675.
- Ayalew, H.; Zhang, H.; Wang, J.; Wu, S.; Qiu, K.; Qi, G.; Tekeste, A.; Wassie, T.; Chanie, D. 2022. Potential feed additives as antibiotic alternatives in broiler production. *Frontiers in Veterinary Science*, 9:16473.

- Bacou, E.; Walk, C.; Rider, S.; Litta, G.; Perez-Calvo, E. 2021. Dietary oxidative distress: a review of nutritional challenges as models for poultry, swine and fish. *Antioxidants*, 10:525.
- Bakry, A. M.; Abbas, S.; Ali, B.; Majeed, H.; Abouelwafa, M. Y.; Mousa, A.; Liang, L. 2016. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15:143–182.
- Bansod, A. P.; Wankhede, S. M.; Ali, S.; Kuralkar, P. S.; Jadhao, G. M.; Jadhao, A. D. 2020. Effect of Supplementation of Organic Acids on Biochemical Status and Gut Health of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9:837-843.
- Barboza, J. N.; Silva M. B. F. C.; Silva, R. O.; Medeiros, J. V. R.; Sousa, D. P. 2018. An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018:3957262 .
- Barbosa, V. M. 2011. Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário. Belo Horizonte: FEPMVZ, 124.
- Barbosa, M. E. S.; Bandeira, D. J. A.; Borges, V. E.; Meira, A. S.; Sobrinho, T. G.; Neto, J. P. L. 2021. Ganho de peso de codornas europeias mantidas em ambiente controlado. *Research, Society and Development*, 10(11):e540101119753-e540101119753.
- Barszcz, M.; Taciak, M.; Tuśnio, A.; Skomiał, J. 2018. Effects of dietary level of tannic acid and protein on internal organ weights and biochemical blood parameters of rats. *PLoS One*, 13(1):e0190769.
- Basnet, P.; Skalko-Basnet, N. 2011. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules*, 16:4567-4598.
- Bigarella, C. L., Liang R.; Ghaffari S. 2014. Stem cells and the impact of ros signaling. *Development*, 141:4206-4218.
- Bilia A. R.; Guccione C.; Isacchi B.; Righeschi C.; Firenzuoli F.; Bergonzi M. C. 2014. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014:593-651.
- Bonfim, D. S.; Araújo Melo, S. 2015. Influência do ambiente na criação de codornas de corte: Revisão. *PubVet*, 9:158-194.
- Bosetti, G. E.; Griebler, L.; Aniecevski, E.; Facchi, C. S.; Baggio, C.; Rossatto, G.; Leite, F.; Valentini, F. D. A.; Santo, A. D.; Pagnussatt, H. 2020. Microencapsulated carvacrol and cinnamaldehyde replace growth-promoting antibiotics: effect on performance and meat quality in broiler chickens. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92:1-14.
- Brenes, A.; Roura, E. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158:1-14.

- Burggren, W. W.; Elmonoufy, N. A. 2017. Critical developmental windows for morphology and hematology revealed by intermittent and continuous hypoxic incubation in embryos of quail (*Coturnix coturnix*). *PloS One*, 12:e0183649.
- Bouvarel, I.; Nys, Y.; Lescoat, P. 2011. Hen nutrition for sustained egg quality. In *Improving the safety and quality of eggs and egg products*. In book: *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products*, pp.261-299.
- Broom, L. J. 2015. Organic acids for improving intestinal health of poultry. *World's Poultry Science Journal*, 71:630-642.
- Bryden, W. L.; Li, X.; Ruhnke, I.; Zhang, D.; Shini, S. 2021. Nutrition, feeding and laying hen welfare. *Animal Production Science*, 61(10):893-914.
- Campos, M. T. G.; Leme, F. D. O. P. 2018. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. *PubVet*, 12(01):1-8.
- Carvalho, A. V.; Hennequet-Antier, C.; Crochet, S.; Bordeau, T.; Couroussé, N.; Cailleau-Audouin, E.; Chartrin, P.; Darras, V. M.; Zerjal, T.; Collin, A. 2020. Embryonic thermal manipulation has short and long-term effects on the development and the physiology of the Japanese quail. *Plos One*, 15:1-20.
- Celi, P. Biomarcadores de estresse oxidativo na medicina de ruminantes. 2011 *Imunofarmacol. Immunotoxicology*, 33:233-240.
- Cesario, M. D. 2013. Desenvolvimento embrionário pré e pós-postura-períodos críticos. In book: *Manejo da Incubação*, pp.48-62.
- Chao, L. K.; Hua, K. F.; Hsu, H. Y.; Cheng, S. S.; Lin, I. F.; Chen, C. J.; Chang, S. T. 2008. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling. *Food and Chemical Toxicology*, 46(1):220-231.
- Chevion, M.; Berenshtein, E.; Stadtman, E. R. 2000. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radical Research*, 33:99-108.
- Choi, J.; Kim, W. K. 2020. Dietary application of tannins as a potential mitigation strategy for current challenges in poultry production: A review. *Animals*, 10(12):2389.
- Chouhan, S.; Sharma, K.; Guleria, S. 2017. Antimicrobial activity of some essential oils - present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3):58.
- Cristani, M.; D'Arrigo, M.; Mandalari, G.; Castelli, F.; Sarpietro, M. G.; Micieli, D.; Trombetta, D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15):6300-6308.
- Raynério Costa, M., & Marreiro, D. D. N. 2006. Aspectos metabólicos e funcionais do zinco na síndrome de Down. *Revista de Nutrição*, 19:501-510.
- Dalólio, F. S.; Albino, L. F. T.; D'ávila Lima, H. J.; Silva, J. N.; Moreira, J. 2015. Heat stress and vitamin E in diets for broilers as a mitigating measure. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37(4):419-427.

- Deeming, D. C.; Pike, T. W. 2013. Embryonic growth and antioxidant provision in avian eggs. *Biology Letters*, 9(6):20130757.
- Dibner, J. J.; Buttin, P. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal of Applied Poultry Research*, 11(4):453-463.
- Dixon, L. M.; Sparks, N. H. C.; Rutherford, K. M. D. 2016. Early experiences matter: a review of the effects of prenatal environment on offspring characteristics in poultry. *Poultry Science*, 95(3):489-499.
- Dubey, R. 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*, 59(1):82.
- Dunislawska, A.; Slawinska, A.; Siwek, M.; Bednarczyk, M. 2021. Epigenetic changes in poultry due to reprogramming of the gut microbiota. *Animal Frontiers*, 11(6):74-82.
- El-Shater, S. N.; Rizk, H.; Abdelrahman, H. A.; Awad, M. A.; Khalifa, E. F.; Khalil, K. M. 2021. Embryonic thermal manipulation of Japanese quail: effects on embryonic development, hatchability, and post-hatch performance. *Tropical Animal Health and Production*, 53(2):53-263.
- Fernandes, M. N. S. 2012. Metabolismo do zinco na nutrição de frangos de corte e suas respostas no desempenho e no sistema imune. *Nutritime*, 9:1104-1115.
- Fang, Y. Z.; Yang, S.; Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10):872-879.
- Fascina, V. B. Aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte. 2011. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2011.
- Fascina, V. B.; Sartori, J. R.; Gonzales, E.; Carvalho, F. B. D.; Souza, I. M. G. P. D.; Polycarpo, G. D. V.; Pelícia, V. C. 2012. Phytogetic additives and organic acids in broiler chicken diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(10):2189-2197.
- Fernández-Mejía, C. 2013. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role of Vitamins with Antioxidant Actions. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-a Role for Antioxidants*, 4:201-209.
- Filomeni, G.; Rotilio, G.; Ciriolo, M. R. 2002. Cell signalling and the glutathione redox system. *Biochemical Pharmacology*, 64(5-6):1057-1064.
- Fiúza, M. A.; Lara, L. J. C.; Aguilar, C. A. L.; Ribeiro, B. R. C.; Baião, N. C. 2006. Efeitos das condições ambientais no período entre a postura e o armazenamento de ovos de matrizes pesadas sobre o rendimento de incubação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(3):408-413.
- Fouladi, P.; Ecrhimzhad, Y.; Shahryar, H. A.; Mahreri, N.; Ahmadzadeh A. 2018. Effects of Organic Acids Supplement on Performance, Egg Traits, Blood Serum Biochemical Parameters and Gut Microflora in Female Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 20:133-144.

- Frésard, L.; Morisson, M.; Brun, J. M. 2013. Epigenetics and phenotypic variability: some interesting insights from birds. *Genetics Selection Evolution*, 45:1-12.
- Galli, G. M.; Da Silva, A. S.; Biazus, A. H.; Reis, J. H.; Boiago, M. M.; Topazio, J. P.; Stefani, L. M. 2018. Feed addition of curcumin to laying hens showed anticoccidial effect, and improved egg quality and animal health. *Research in Veterinary Science*, 118:101-106.
- Gheisar, M. M.; Hosseindoust, A.; Kim, I. H. 2015. Evaluating the effect of microencapsulated blends of organic acids and essential oils in broiler chickens diet. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(4):511-519.
- Grindstaff, J. L.; Brodie Iii, E. D.; Ketterson, E. D. 2003. Immune function across generations: integrating mechanism and evolutionary process in maternal antibody transmission. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1531):2309-2319.
- González, F.; Silva, S. 2019. Vitamina E. In book: *Minerais e vitaminas no metabolismo animal*, pp. 88-93.
- Hafeez, A.; Männer, K.; Schieder, C.; Zentek, J. 2016. Effect of supplementation of phytogenic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 95(3):622-629.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. 2006. *Free Radicals in Biology and Medicine*. In book: Oxford: Oxford University Press, pp. 888.
- Hanafy, A. M.; Hegab, I. M. 2019. Effects of egg weight and light sources during incubation period on embryonic development and post-hatch growth of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *European Poultry Science*, 83:268.
- Hassan, I. A. G.; Elzubeir, E. A.; El Tinay, A. H. 2003. Growth and apparent absorption of minerals in broiler chicks fed diets with low or high tannin contents. *Tropical Animal Health and Production*, 35(2):189-196.
- He, Y.; Yue, Y.; Zheng, X.; Zhang, K.; Chen, S.; Du, Z. 2015. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked?. *Molecules*, 20(5):9183-9213.
- Heydarian, M.; Ebrahimnezhad, Y.; Meimandipour, A.; Hosseini, S. A.; Banabazi, M. H. 2020. Effects of dietary inclusion of the encapsulated thyme and oregano essential oils mixture and probiotic on growth performance, immune response and intestinal morphology of broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 8(1):17-25.
- Huang, Q.; Liu, X.; Zhao, G.; Hu, T.; Wang, Y. 2018. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition*, 4(2):137-150.
- Hussein, M. M.; Abd El-Hack, M. E.; Mahgoub, S. A.; Saadeldin, I. M.; Swelum, A. A. 2019. Effects of clove (*Syzygium aromaticum*) oil on quail growth, carcass traits, blood components, meat quality, and intestinal microbiota. *Poultry science*, 98(1):319-329.
- Huyghebaert, G.; Ducatelle, R.; Immerseel, F. V. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, 187(2):182-188.

- Iqbal, H.; Rahman, A.; Khanum, S.; Arshad, M.; Badar, I. H.; Asif, A. R.; Hayat, Z.; Iqbal, M. A. 2021. Effect of essential oil and organic acid on performance, gut health, bacterial count and serological parameters in broiler. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 23(3):1-10.
- Iqbal, Z.; Roberts, J.; Perez-Maldonado, R. A.; Goodarzi Borojani, F.; Swick, R. A.; Ruhnke, I. 2018. Pasture, multi-enzymes, benzoic acid and essential oils positively influence performance, intestinal organ weight and egg quality in free-range laying hens. *British Poultry Science*, 59(2):180-189.
- Itokawa, H.; Shi, Q.; Akiyama, T.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K. H. 2008. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine*, 3(1):1-13.
- Jäger, R.; Lowery, R. P.; Calvanese, A. V.; Joy, J. M.; Purpura, M.; Wilson, J. M. 2014. Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutrition Journal*, 13(1):1-8.
- Jang, I. S.; Ko, Y. H.; Yang, H. Y.; Ha, J. S.; Kim, J. Y.; Kim, J. Y.; Lee, C. Y. 2004. Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(3):394-400.
- Jena, B. P.; Panda, N.; Patra, R. C.; Mishra, P. K.; Behura, N. C.; Panigrahi, B. 2013. Supplementation of vitamin e and c reduces oxidative stress in broiler breeder hens during summer. *Food and Nutrition Sciences*, 4:33-37.
- Johnson, A. L.; Lee, J. 2016. Granulosa cell responsiveness to follicle stimulating hormone during early growth of hen ovarian follicles. *Poultry Science*, 95(1):108-114.
- Jia, Z.; Dumont, M. J.; Orsat, V. 2016. Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15:87-104.
- Khan, R.U.; Chand, N.; Ali, A. 2016. Effect of Organic Acids on the Performance of Japanese Quails. *Zoological Society of Pakistan*, 48:1799-1803.
- Khan, S. H.; Iqbal, J. 2016. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1):359-369.
- Lima, R. C. Determinação da relação energia metabolizável: proteína bruta na alimentação de codornas japonesas e europeias. Tese (doutorado), Universidade Federal da Paraíba, 2012.
- Lima, D. S. D.; Lima, J. C.; Calvacanti, R. M. C. B.; Santos, B. H. C. D.; Lima, I. O. 2017. Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpênos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 8(1):17-21.
- Liu, X. L.; Hao, Y. Q.; Jin, L.; Xu, Z. J.; McAllister, T. A.; Wang, Y. 2013. Anti-*Escherichia coli* O157: H7 properties of purple prairie clover and sainfoin condensed tannins. *Molecules*, 18(2):2183-2199.
- Liu, R.; Tan, X.; Zhao, G.; Chen, Y.; Zhao, D.; Li, W.; Zheng, M.; Wen, J. 2020. Maternal dietary methionine supplementation influences egg production and the growth performance and meat quality of the offspring. *Poultry Science*, 99(7):3550-3556.

- Lopes, J. C. O.; Figueiredo, A. V. D.; Lopes, J. B.; Lima, D. C. P.; Ribeiro, M. N.; Lima, V. B. D. S. 2015. Zinco e vitamina E em dietas para frangos de corte criados em estresse calórico. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 16:350-364.
- Lourens, A.; Van den Brand, H.; Heetkamp, M. J. W.; Meijerhof, R.; Kemp, B. 2007. Effects of eggshell temperature and oxygen concentration on embryo growth and metabolism during incubation. *Poultry Science*, 86(10):2194-2199.
- Lu, S. C. 2013. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(5):3143-3153.
- Macelline, S. P.; Toghyani, M.; Chrystal, P. V.; Selle, P. H.; Liu, S. Y. 2021. Amino acid requirements for laying hens: A comprehensive review. *Poultry Science*, 100(5):101036.
- Mafra, D.; Cozzolino, S. M. F. 2004. Importância do zinco na nutrição humana. *Revista de Nutrição*, 17:79-87.
- Malayoğlu, H. B.; Özkan, S.; Koçtürk, S.; Oktay, G.; Ergül, M. 2009. Dietary vitamin E (α -tocopheryl acetate) and organic selenium supplementation: performance and antioxidant status of broilers fed n-3 PUFA-enriched feeds. *South African Journal of Animal Science*, 39(4):274-285.
- Mandey, J. S.; Sompie, F. N. 2021. Phytogetic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in poultry nutrition. *Advanced Studies in the 21st Century Animal Nutrition*, 8:1-18.
- Marchiori, M. S.; Oliveira, R. C.; Souza, C. F.; Baldissera, M. D.; Ribeiro, Q. M.; Wagner, R.; Silva, A. S. 2019. Curcumin in the diet of quail in cold stress improves performance and egg quality. *Animal Feed Science and Technology*, 254:114192.
- Matty, H. N.; Hassan, A. A. 2020. Effect of supplementation of encapsulated organic acid and essential oil Gallant+® on some physiological parameters of Japanese quails. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(1):181-188.
- Mehdi, Y.; Létourneau-Montminy, M. P.; Gaucher, M. L.; Chorfi, Y.; Suresh, G.; Rouissi, T.; Brar, S. K.; Côté, C.; Ramirez, A. A.; Godbout, S. 2018. Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*, 4(2):170-178.
- Mehta, N.; Kumar, P.; Verma, A. K.; Umaraw, P.; Kumar, Y.; Malav, O. P.; Sazili, A. Q.; Domínguez, R.; Lorenzo, J. M. 2022. Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: a comprehensive review. *Applied Sciences*, 12(3):1-34.
- Migliorini, M. J.; Boiago, M. M.; Stefani, L. M.; Zampar, A.; Roza, L. F.; Barreta, M.; Tavernari, F. D. C. 2019. Oregano essential oil in the diet of laying hens in winter reduces lipid peroxidation in yolks and increases shelf life in eggs. *Journal of Thermal Biology*, 85:102409.
- Moharreri, M.; Vakili, R.; Oskoueian, E.; Rajabzadeh, Q. 2021. Effects of microencapsulated essential oils on growth performance and biomarkers of inflammation in broiler chickens challenged with salmonella enteritidis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21:349-357.

- Molenaar, R.; Reijrink, I. A. M.; Meijerhof, R.; Van den Brand, H. 2010. Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12(3):137-148.
- Moniruzzaman, M.; Min, T. 2020. Curcumin, curcumin nanoparticles and curcumin nanospheres: A review on their pharmacodynamics based on monogastric farm animal, poultry and fish nutrition. *Pharmaceutics*, 12(5):447.
- Moraes, T. G.; Pishnamazi, A.; Mba, E. T.; Wenger, I. I.; Renema, R. A.; Zuidhof, M. J. 2014. Effect of maternal dietary energy and protein on live performance and yield dynamics of broiler progeny from young breeders. *Poultry Science*, 93(11):2818-2826.
- Morais, M. R.; Teixeira, L.; Luiza, A.; Cazaux, M. 2012. Morfofisiologia da Reprodução das Aves: Desenvolvimento Embrionário, Anatomia e Histologia do Sistema Reprodutor. *Acta Veterinária Brasília*, 6:165-176.
- Musaogullari, A., Chai, Y. C. 2020. Redox regulation by protein s-glutathionylation: from molecular mechanisms to implications in health and disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21):8113.
- Nascimento, L. D.; Cascaes, M. M.; Costa, K. S.; Andrade, E. H. A.; Andrade, E. L.; Costa, C. M. L.; Faria, L. J. G. 2019. Microencapsulamento de óleos essenciais: conceitos e aplicações. In book: *A produção do conhecimento na Engenharia Química*, pp. 22-35.
- Nord, A.; Nilsson, J. A. 2016. Long-term consequences of high incubation temperature in a wild bird population. *Biology Letters - Science and Technology*, 254:114192.
- Okuliarova, M.; Kankova, Z.; Bertin, A.; Leterrier, C.; Mostl, E.; Zeman, M. 2014. Maternally derived egg hormones, antibodies and antimicrobial proteins: common and different pathways of maternal effects in Japanese quail. *PLoS One*, 9(11):e112817.
- Oututumi, L. K.; Furlan, A. C.; Natali, M. R. M.; Martins, E. N.; Loddi, M. M.; Oliveira, A. F. G. 2008. Utilização de probiótico em rações com diferentes níveis de proteína sobre o comprimento e a morfometria do intestino delgado de codornas de corte. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 30(3):283-289.
- Oyedemi, S. O.; Okoh, A. I.; Mabinya, L. V.; Pirochenva, G.; Afolayan, A. J. 2009. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. *African Journal of Biotechnology*, 8(7):1280-1286.
- Paiva, J. T.; Resende M. D. V.; Resende, R. T.; Oliveira, H. R.; Silva, H. T.; Caetano, G. C.; Lopes, P.; Silva, F. F. 2018. Transgenerational epigenetic variance for body weight in meat quails. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 135(3):178-185.
- Panda, A. K.; Cherian, G. 2014. Role of vitamin E in counteracting oxidative stress in poultry. *The Journal of Poultry Science*, 51:109-117.
- Pastore, S. M.; Oliveira, W. D.; Muniz, J. C. L. 2012. Panorama da coturnicultura no Brasil. *Revista Eletrônica Nutritime*, 9(6):2041-2049.

- Partanen, K. 2001. Organic acids-their efficacy and modes of action in pigs. In book: Gut environment in pigs, pp. 201-217.
- Pedroso, A. A.; Café, M. B.; Leandro, N. S. M.; Stringhini, J. H.; Chaves, L. S. 2006. Desenvolvimento embrionário e eclodibilidade de ovos de codornas armazenados por diferentes períodos e incubados em umidades e temperaturas distintas. Revista Brasileira de Zootecnia, 35:2344-2349.
- Peyman F.; Yahya E.; Habib A.S.; Naser M.S.; Alireza A. 2014. Effects of organic acids supplement on performance and gut parameters in male Japanese quail (*Coturnix Coturnix*). Biological Forum – An International Journal, 6(2):127-134.
- Pham, V. H.; Kan, L.; Huang, J.; Geng, Y.; Zhen, W.; Guo, Y.; Wang, Z. 2020. Dietary encapsulated essential oils and organic acids mixture improves gut health in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. Journal of Animal Science and Biotechnology, 11(1):1-18.
- Pham-Huy, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Science: IJBS, 4(2):89.
- Phaniendra, A.; Jestadi, D. B.; Periyasamy, L. 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian Journal of clinical Biochemistry, 30(1):11-26.
- Piva, A.; Anfossi, P.; Meola, E.; Pietri, A.; Panciroli, A.; Bertuzzi, T.; Formigoni, A. 1997. Effect of microcapsulation on absorption processes in the pig. Livestock Production Science, 51(1-3):53-61.
- Possenti, C. D.; Karadas, F.; Colombo, G.; Caprioli, M.; Rubolini, D.; Milzani, A.; Parolini, M. 2017. Antioxidants and embryo phenotype: is there experimental evidence for strong integration of the antioxidant system?. Journal of Experimental Biology, 220(4):615-624.
- Possenti, C. D.; Secomandi, S.; Schiavon, A.; Caprioli, M.; Rubolini, D.; Romano, A.; Parolini, M. 2018. Independent and combined effects of egg pro- and anti-oxidants on gull chick phenotype. Journal of Experimental Biology, 221(9):174300.
- Porto, M. L.; Teófilo, T. S.; Cavalcanti, D. M. L. P.; Freitas, C. I. A.; Oliveira, M. F.; Fontenele-Neto, J. D. 2021. Variáveis de incubação, desempenho e morfometria da mucosa duodenal de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) submetidas a diferentes temperaturas de incubação e desafiadas termicamente após eclosão. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 73:495-507.
- Powell, S. R. 2000. The antioxidant properties of zinc. The Journal of Nutrition, 130(5):1447S-1454S.
- Ramah, A.; Yasuda, M.; Ohashi, Y.; Urakawa, M.; Kida, T.; Yanagita, T.; El-Shewy, E. A. 2020. Different doses of tannin reflect a double-edged impact on broiler chicken immunity. Veterinary Immunology and Immunopathology, 220:109991.
- Randall, M.; Bolla, G. 2008. Raising Japanese quail. Primefacts, 602:1-5.

- Redondo, L. M.; Chacana, P. A.; Dominguez, J. E.; Fernandez Miyakawa, M. E. D. 2014. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in Microbiology*, 5(301):118.
- Reed, W. L.; Clark, M. E. 2011. Beyond maternal effects in birds: responses of the embryo to the environment. *Integrative and Comparative Biology*, 51(1):73-80.
- Rehman, H. U.; Vahjen, W.; Awad, W. A.; Zentek, J. 2007. Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 61(5):319-335.
- Reis, J. H.; Gebert, R. R.; Barreta, M.; Baldissera, M. D.; Dos Santos, I. D.; Wagner, R.; Da Silva, A. S. 2018. Effects of phytogetic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. *Microbial Pathogenesis*, 125:168-176.
- Reis, T. L.; Vieites, F. M. 2019. Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras. *Ciência Animal*, 29(3):133-147.
- Ricke, S. C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, 82(4):632-639.
- Rocha, J. S. R., Lara, L. J. C., Baiao, N. C., Vasconcelos, R. J. C., Barbosa, V. M., Pompeu, M. A., & Fernandes, M. N. S. 2010. Antioxidant properties of vitamins in nutrition of broiler breeders and laying hens. *World's Poultry Science Journal*, 66(2): 261-270.
- Rosa, G.; Dazuk, V.; Alba, D. F.; Galli, G. M.; Molosse, V.; Boiago, M. M.; Da Silva, A. S. 2020. Curcumin addition in diet of laying hens under cold stress has antioxidant and antimicrobial effects and improves bird health and egg quality. *Journal of Thermal Biology*, 91:102618.
- Rufino, J. P. F.; Cruz, F. G. G.; de Oliveira Filho, P. A.; Farias, T. M.; Melo, L. D. 2018. Matrizes. In book: *Biotechnologias Aplicadas à Reprodução de Aves*, pp. 4-21.
- Rutz, F.; Anciuti, M. A.; Xavier, E. G.; Roll, V. F. B.; Rossi, P. 2007. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 31(3):307-317.
- Saad, N. Y.; Muller, C. D.; Lobstein, A. 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5):269-279.
- Sahin, N.; Sahin, K.; Onderci, M.; Karatepe, M.; Smith, M. O.; Kucuk, O. 2006. Effects of dietary lycopene and vitamin E on egg production, antioxidant status and cholesterol levels in Japanese quail. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(2):224-230.
- Salgueiro, M. J., M.; Zubillaga, A.; Lysionek, M. I.; Sarabia, R.; Caro, T. P. A. 2000. Zinc as essential micronutrient: A review. *Nutrition Research Journal*, 20:737-755
- Santana, T. P.; Gasparino, E.; Khatlab, A. S.; Brito, C. O.; Barbosa, L. T.; Lamont, S. J.; Del Vesco, A. P. 2021. Effect of prenatal ambient temperature on the performance physiological parameters, and oxidative metabolism of Japanese quail (*Coturnix*

- coturnix japonica*) layers exposed to heat stress during growth. Scientific Reports, 11(1):1-11.
- Santos, T. D.; Augusto, K. V. Z.; Han, Y.; Sartori, M. M. P.; Denadai, J. C.; Santos, C. T.; Sartori, J. R. 2021. High levels of copper and zinc supplementation in broiler diets on growth performance, carcass traits and apparent ileal mineral absorption. British Poultry Science, 62(4):579-588.
- Saraswati, T. R.; Tana, S. 2015. Development of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) embryo. International Journal of Science and Engineering, 8(1):38-41.
- Saraswati, T. R.; Tana, S. (2016). Physiological condition of first female and male offspring of Japanese quail (*Coturnix japonica*) whose parents were supplemented by turmeric powder. Journal World's Poultry Research, 6(2):59-65.
- Scicutella, F.; Mannelli, F.; Daghighi, M.; Viti, C.; Buccioni, A. 2021. Polyphenols and organic acids as alternatives to antimicrobials in poultry rearing: A review. Antibiotics, 10(8):1010.
- Sgavioli, S.; Santos, E. T.; Domingues, C. H. F.; Quadros, T. C. O.; Castiblanco, D. M. C.; Andrade-Garcia, G. M.; Baraldi-Artoni, S. M. 2016. Effect of high incubation temperature on the blood parameters of layer chicks. Brazilian Journal of Poultry Science, 18:41-47.
- Shang, Y.; Kumar, S.; Oakley, B.; Kim, W. K. 2018. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. Frontiers in Veterinary Science, 5:254.
- Shen, C.; Christensen, L. G.; Bak, S. Y.; Christensen, N.; Kragh, K. 2020. Immunomodulatory effects of thymol and cinnamaldehyde in chicken cell lines. Journal of Applied Animal Nutrition, 8(1):21-30.
- Silva, M. A. D.; Pessotti, B. M. D. S.; Zanini, S. F.; Colnago, G. L.; Rodrigues, M. R. A.; Nunes, L. D. C.; Martins, I. V. F. 2009. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. Ciência Rural, 39(5):1471-1477.
- Silva, W. J. D.; Gouveia, A. B. V. S.; Sousa, F. E. D.; Santos, F. R. D.; Minafra-Rezende, C. S.; Silva, J. M. S.; Minafra, C. S. 2018. Turmeric and sorghum for egg-laying quails. Italian Journal of Animal Science, 17(2):368-376.
- Simic, M. G.; Javanovic, S. V. 1994. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In book: Food Phytochemicals for Cancer Prevention, pp. 20-32.
- Sinha, S.; Singh, S. N.; Kain T. C.; Tyagi A. K.; Ray U. S. 2009. Antioxidant and oxidative stress responses of sojourners at high altitude in different climatic temperatures. International Journal of Biometeorology, 54:85-92.
- Sreesujatha, R. M.; Jeyakumar, S.; Kundu, A.; Balasundaram, C. 2016. Use of transcutaneous ultrasonography to characterize ovarian status, size distribution, and hierarchical status of follicles in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Theriogenology, 86(5):1231-1239.

- Stadtman, E. R.; Levine, R. L. 2006. Chemical modification of proteins by reactive oxygen species. *Redox proteomics: from protein modifications to cellular dysfunction and diseases*, 9(3):1-23.
- Stefanello, C.; Rosa, D. P.; Dalmoro, Y. K.; Segatto, A. L.; Vieira, M. S.; Moraes, M. L.; Santin, E. 2020. Protected blend of organic acids and essential oils improves growth performance, nutrient digestibility, and intestinal health of broiler chickens undergoing an intestinal challenge. *Frontiers in Veterinary Science*, 6(491):1-10.
- Surai, P. F. 1999. Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. *British Poultry Science*, 40(3):397-405.
- Surai, P. F. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. *British Poultry Science*, 41(2):235-243.
- Surai, P. F. 2002. Developing optimal egg status for a viable chick. In book: *Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*, pp. 305-344.
- Surai, P. F. 2012. The antioxidant properties of canthaxanthin and its potential effects in the poultry eggs and on embryonic development of the chick. Part 1. *World's Poultry Science Journal*, 68(3):465-476.
- Surai, P. F. 2016. Antioxidant systems in poultry biology: superoxide dismutase. *Journal Animal Research Nutrition*, 1:1-8.
- Surai, P. F.; Kochish, I. I. 2019. Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: the case of selenium. *Poultry Science*, 98(10):4231-4239.
- Surai, P. F.; Kochish, I. I.; Romanov, M. N.; Griffin, D. K. 2019. Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: the case of vitamin E. *Poultry Science*, 98(9):4030-4041.
- Swain, P. S.; Rao, S. B.; Rajendran, D.; Dominic, G.; Selvaraju, S. 2016. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review. *Animal Nutrition*, 2(3):134-141.
- Tabatabaie, M. M.; Aliarabi, H.; Saki, A. A.; Ahmadi, A.; Hosseini Siyar, S. A. 2007. Effect of different sources and levels of zinc on egg quality and laying hen performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 3476-3478.
- Tanveer, M.; Wagner, C.; Ribeiro, N. C.; Rathinasabapathy, T.; Butt, M. S.; Shehzad, A.; Komarnytsky, S. 2020. Spicing up gastrointestinal health with dietary essential oils. *Phytochemistry Reviews*, 19(2):243-263.
- Tazawa, H. I. R. O. S. H. I.; Whittow, G. C. 2000. Incubation physiology. *Sturkie's Avian Physiology*, 24:617-634.
- Thacker, P. A. 2013. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4:1-12.
- Thanabalan, A.; Kiarie, E. G. 2021. Influence of feeding omega3 polyunsaturated fatty acids to broiler breeders on indices of immunocompetence, gastrointestinal, and skeletal development in broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 8:1-10.

- Theron, M. M.; Lues, J. R. 2010. Application of Organic acids and food preservation. In book: Organic acids and food preservation, pp.117-150.
- Torki, M.; Akbari, M.; Kaviani, K. 2015. Single and combined effects of zinc and cinnamon essential oil in diet on productive performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens reared under cold stress condition. *International Journal of Biometeorology*, 59(9):1169-1177.
- Tram, N. K.; McLean, R. M.; Swindle-Reilly, K. E. 2021. Glutathione improves the antioxidant activity of vitamin c in human lens and retinal epithelial cells: implications for vitreous substitutes. *Current Eye Research*, 46(4):470-481.
- Van Immerseel, F.; De Zutter, L.; Houf, K.; Pasmans, F.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2009. Strategies to control Salmonella in the broiler production chain. *World's Poultry Science Journal*, 65:367–392.
- Videla, E. A.; Giayetto, O.; Fernández, M. E.; Chacana, P. A.; Marín, R. H.; Nazar, F. N. 2020. Immediate and transgenerational effects of thymol supplementation, inactivated Salmonella and chronic heat stress on representative immune variables of Japanese quail. *Scientific Reports*, 10:1-11.
- Vieites, F. M.; Souza, C. S.; Varella, G. O. M.; Ferreira, S. E.; Melo Júnior, A. M.; Ferreira, M. H.; Santos Nascimento, H. L. 2020. Morfologia e microbiota de frangos de corte alimentados com rações contendo óleos essenciais: revisão. *Research, Society and Development*, 9(8):e185985511.
- Walk, C. L.; Bedford, M. R.; McElroy, A. P. 2012. Influence of limestone and phytase on broiler performance, gastrointestinal pH, and apparent ileal nutrient digestibility. *Poultry Science*, 91(6):1371-1378.
- Wang, J. P.; Yoo, J. S.; Lee, J. H.; Zhou, T. X.; Jang, H. D.; Kim, H. J.; Kim, I. H. 2009. Effects of phenyllactic acid on production performance, egg quality parameters, and blood characteristics in laying hens. *Journal Applied Poultry Research*, 18:203–209.
- Wang, J.; Yue, H.; Wu, S.; Zhang, H.; Qi, G. 2017. Nutritional modulation of health, egg quality and environmental pollution of the layers. *Animal Nutrition*, 3(2):91-96.
- Wang, H.; Liang, S.; Li, X.; Yang, X.; Long, F.; Yang, X. 2019. Effects of encapsulated essential oils and organic acids on laying performance, egg quality, intestinal morphology, barrier function, and microflora count of hens during the early laying period. *Poultry Science*, 98(12):6751-6760.
- Wijnen, H. J.; Molenaar, R.; Van Roover-Reijrink, I. A. M.; Van der Pol, C. W.; Kemp, B.; Van den Brand, H. 2020. Effects of incubation temperature pattern on broiler performance. *Poultry Science*, 99(8):3897-3907.
- Yalcin, S.; Siegel, P. B. 2003. Exposure to cold or heat during incubation on developmental stability of broiler embryos. *Poultry Science*, 82:1388-1392.
- Yang, X.; Liu, Y.; Yan, F.; Yang, C.; Yang, X. 2019. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(7):2858-2865.

Yesilbag, D.; Gezen, S. S.; Biricik, H. A. K. A. N.; Meral, Y. 2013. Effects of dietary rosemary and oregano volatile oil mixture on quail performance, egg traits and egg oxidative stability. *British Poultry Science*, 54(2):231-237.

Yigit, A. A.; Panda, A. K.; Cherian, G. 2014. The avian embryo and its antioxidant defence system. *World's Poultry Science Journal*, 70(3):563-574.

Yu, C.; Wei, J.; Yang, C.; Yang, Z.; Yang, W.; Jiang, S. 2018. Effects of star anise (*Illicium verum* Hook. f.) essential oil on laying performance and antioxidant status of laying hens. *Poultry Science*, 97(11):3957-3966.

Zhang, Y. N.; Zhang, H. J.; Wang, J.; Yue, H. Y.; Qi, X. L.; Wu, S. G.; Qi, G. H. 2017. Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens. *Poultry Science*, 96(7):2176-2183.

III. OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

Neste estudo, os objetivos gerais foram avaliar o efeito da suplementação do blend composto por ácidos orgânicos, curcumina, tanino, vitamina E, zinco e óleos essenciais de canela, tomilho, cravo e orégano microencapsulados (Sannimix®) na dieta das matrizes de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), sobre o desempenho produtivo e reprodutivo, e desempenho de suas progênes submetidas a duas temperaturas de incubação.

Objetivos Específicos:

Capítulo IV: Experimento 1 – avaliar os efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre parâmetros produtivos e reprodutivos das matrizes suplementadas com blend Sannimix® durante 28 dias (98-126 dias de idade) por meio dos seguintes parâmetros: peso inicial aos 98 dias de idade e final aos 126 dias de idade, consumo de ração, conversão alimentar por kg de ovos, peso relativo de órgãos (fígado, trato intestinal e baço), número de ovos e peso médio dos ovos no período de 28 dias. Contagem de folículos pré-hierárquicos e circunferência de folículos pré-ovulatórios das matrizes, e taxa de eclosão total. Além disso, os efeitos da dieta da matriz sobre a estabilidade oxidativa dos seus ovos (ambiente de desenvolvimento do embrião), foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase, conteúdo de glutatona reduzida e tíóis não proteicos, capacidade antioxidante, oxidação lipídica primária (dienos conjugados) e secundária (malondialdeído – MDA) e oxidação proteica (proteínas carboniladas).

Experimento 2 - avaliar os efeitos da dieta materna e da temperatura de incubação sobre o desempenho produtivo da progênie a curto e longo prazo, por meio das seguintes análises: taxa de eclosão total, peso ao nascimento, porcentagem de saco vitelino residual (idades embrionárias E17 e E19), peso vivo aos 15 dias de idade, ganho de peso (período de 1 a 15 dias de idade), e peso relativo de órgãos (fígado, coração, baço, bursa de Fabricius, trato intestinal (delgado e grosso), pâncreas e da moela + proventrículo) aos 15 dias de idade. Além disso, o efeito da dieta materna e da temperatura de incubação sobre o metabolismo oxidante-antioxidante do fígado da progênie com 15 dias de idade, foi determinado por meio da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase, conteúdo de glutatona reduzida e tióis não proteicos, capacidade antioxidante, oxidação lipídica primária (dienos conjugados) e secundária (malondialdeído – MDA) e oxidação proteica (proteínas carboniladas).

Efeito da dieta materna suplementada com blend Sannimix® e da temperatura de incubação sobre o desempenho produtivo da matriz, da progênie e estado antioxidante do ovo e da progênie

(Journal of Animal Science)

Resumo

Nosso objetivo foi avaliar os efeitos da adição do blend de ácidos orgânicos, óleos essenciais, curcumina, taninos, vitamina E e zinco microencapsulados, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de matrizes de codornas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) e os parâmetros oxidantes-antioxidantes de seus ovos (*Experimento 1*). Além disso, o efeito materno (dieta materna suplementada com blend SANNIMIX ou não suplementada com blend) e da temperatura de incubação (37,5°C ou 38,5°C) sobre a progênie foi avaliada a curto (idades embrionárias E17 e E19 e 1 dia de idade) e longo prazo (15 dias de idade) (*Experimento 2*). Para isso, no primeiro experimento, 64 matrizes foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 (produção de ovos - baixa, média, intermediária e alta produção vs. dieta – suplementada com SANNIMIX ou não - CONTROLE). No *Experimento 2*, para avaliação da progênie os ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX e CONTROLE foram incubados em duas incubadoras com temperatura de 37,5°C e 38,5°C. Após a eclosão, 240 pintainhos foram pesados e distribuídos em esquema fatorial 2 x 2 (dieta materna - SANNIMIX e CONTROLE vs. temperatura de incubação - 37,5°C (controle) e 38,5°C (alta temperatura)). *Experimento 1*: as matrizes suplementadas com SANNIMIX apresentaram melhor desempenho produtivo, maior número de folículos pré-hierárquicos, embriões de melhor qualidade e progênie com maior peso ao nascimento e aos 15 dias de idade. *Experimento 2*: Os ovos e a progênie de matrizes suplementadas com SANNIMIX apresentaram melhor estabilidade oxidativa. A temperatura de incubação de 38,5°C não interferiu no desenvolvimento embrionário e eclosão, mas reduziu o peso da progênie aos 15 dias de vida. Os resultados indicam que a suplementação das matrizes com

SANNIMIX melhora o seu desempenho produtivo, reprodutivo, a qualidade de seus ovos e dos embriões, bem como da sua progênie mesmo quando esta é submetida a uma alta temperatura de incubação.

Palavras chave: ácidos orgânicos, aditivos fitogênicos, antioxidantes, efeito materno, filhos, manipulação térmica da incubação, óleos essenciais

Abstract

Our objective was to assess the effects of a microencapsulated mixture of organic acids, essential oils, curcumin, tannins, vitamin E, and zinc (Sannimix) on the productive and reproductive performance of laying Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), as well as the oxidant/antioxidant parameters of eggs (Experiment 1). The effects of maternal supplementation (Sannimix or control) and incubation temperature (37.5 or 38.5 °C) on progeny were evaluated in the short (embryonic ages E17 and E19 and 1 day of age) and long (15 days of age) terms (Experiment 2). For this, in Experiment 1, 64 breeders were distributed in a completely randomized design with a 4 × 2 factorial arrangement, with the first factor being egg production (low, medium, intermediate, and high) and the second factor being Sannimix supplementation (control and supplemented). In Experiment 2, eggs from supplemented and unsupplemented hens were incubated at 37.5 or 38.5 °C. After hatching, 240 chicks were weighed and distributed in a 2 × 2 factorial arrangement, where the first factor was maternal diet (supplemented and control); and the second, incubation temperature (control = 37.5 °C and high = 38.5 °C). Experiment 1: layers supplemented with Sannimix showed better productive performance, higher prehierarchical follicle number, better embryo quality, and progeny with higher weight at birth and 15 days of age. Experiment 2: Eggs and progeny from hens supplemented with Sannimix showed better oxidative stability. High incubation temperature (38.5 °C) did not affect embryonic development or hatching but reduced the weight of progeny at 15 days of age. The results demonstrate that maternal supplementation with Sannimix improves the productive and reproductive performance of layers, as well as the quality of eggs, embryos, and progeny, even when eggs are subjected to high incubation temperatures.

Keywords: organic acids, phytogetic additives, antioxidants, maternal effect, offspring, thermal manipulation, essential oils

Introdução

Muitas são as estratégias utilizadas para melhorar a produção das matrizes e qualidade dos seus ovos, bem como melhorar o desempenho produtivo da progênie de forma mais eficiente e econômica. Nesse sentido, a manipulação da dieta materna tem se tornado tema de interesse primário na produção avícola (Saleh et al., 2021; Amevor et al., 2022), devido a diversos fatores, incluindo aqueles relacionados aos fenômenos intergeracionais e transgeracionais, ainda poucos explorados em aves (Zimmer et al., 2017; Verwoolde et al., 2021). Por meio desses mecanismos, a informação do ambiente parental, geralmente materno, pode ser traduzida em respostas de memória que prepararão a progênie para seu próprio ambiente de criação (Zimmer et al., 2017). Como consequência, indivíduos da próxima geração podem mostrar características fenotípicas diferentes, dependendo das condições ambientais e/ou nutricionais impostas às suas mães (Gong et al., 2020; Zimmer et al., 2021; Amevor et al., 2022; Andrieux et al., 2022a). Esse fator torna-se particularmente importante em função do desenvolvimento embrionário depender exclusivamente da dieta materna, que interfere diretamente na composição dos seus ovos, podendo influenciar de forma positiva e/ou negativa o desenvolvimento da progênie, durante as fases pré e pós-eclosão (Videla et al., 2020; Andrieux et al., 2022a).

Estudos prévios têm avaliado os efeitos da suplementação materna com diferentes tipos de nutrientes e aditivos alimentares naturais que reproduzam efeitos benéficos, tanto nas mães quanto nos seus descendentes (Gong et al., 2020; Videla et al., 2020; Amevor et al., 2022). Dentre os aditivos avaliados, estão os fitogênicos derivados de plantas (exemplo: óleos essenciais, curcumina e taninos) que contêm componentes bioativos que possuem efeitos positivos sobre a saúde dos animais (Abdelli et al., 2021). Os ácidos orgânicos também fazem parte dos aditivos utilizados na nutrição animal, e apresentam diversos efeitos, incluindo a redução de população de bactérias nocivas e o aumento da taxa de absorção de peptídeos e minerais (Khan e Iqbal, 2016). Os aditivos, ,sozinhos ou em formas compostas (blend), têm sido empregados na nutrição de aves

reproduzindo efeitos satisfatórios sobre o crescimento do animal, sistema gastrointestinal, reprodutor e imune (Abdelli et al., 2021; Saleh et al., 2021), sendo os principais candidatos a serem utilizados em substituição aos promotores de crescimento. Esses aditivos, assim como a vitamina E e o zinco também funcionam como importantes antioxidantes no organismo animal, por serem capazes de interromper reações oxidativas nas células (Tsiplakou et al., 2021). Em dieta de aves de postura esses compostos são valiosos, uma vez que, quando as mesmas estão no pico de postura, ovulação e postura contínua, devido ao metabolismo corporal intenso, as aves tornam-se mais susceptíveis ao estresse oxidativo, devido a maior produção de espécies oxidativas e menor capacidade em eliminá-las (Zou et al., 2007). As substâncias oxidativas em excesso atuam danificando biomoléculas (DNA, lipídeos e proteínas) afetando as condições de saúde geral das aves, e também a composição e qualidade de seus ovos, que por sua vez pode prejudicar a sobrevivência embrionária e a qualidade de seus descendentes (Alagawany et al., 2017; Peixoto et al., 2020).

Além dos efeitos maternos, os embriões podem sofrer alterações em seu desenvolvimento devido a efeitos ambientais experimentados por eles próprios antes da eclosão, como os relacionados a temperatura de incubação (El-Shater et al., 2021; Andrieux et al., 2022b). Isso porque, a temperatura inadequada de incubação pode reduzir a utilização do saco vitelino pelo embrião, resultando em animais de baixa qualidade (Dayan et al., 2020). Além disso, a flutuação dos parâmetros de incubação, pode culminar na maior produção de espécies oxidativas, ao mesmo tempo em que a capacidade antioxidante dos embriões é baixa, tornando-os vulneráveis ao estresse oxidativo (Surai et al., 2003). Assim, a aquisição de termotolerância e capacidade antioxidante pelo embrião, por meio da manipulação térmica durante a incubação pode não apenas servir para proteger os tecidos embrionários, mas também representa uma preparação para potenciais riscos oxidativos associados à eclosão e pós-eclosão (Surai, 2000; Saleh et al., 2020). De acordo com Surai (2000) a dieta materna pode modular a resposta ao estresse oxidativo dos embriões e pintainhos durante a embriogênese e pós-eclosão, respectivamente.

Nesse contexto, nós hipotetizamos que a temperatura de incubação dos ovos de codornas japonesas, pode influenciar o desenvolvimento embrionário e desempenho da progênie aos 15 dias de idade, devido entre outros fatores a ocorrência de estresse

oxidativo. Hipotetizamos também que a adição do blend de óleos essenciais de canela, eugenol, timol e orégano, ácidos orgânicos, curcumina, taninos, vitamina E e zinco microencapsulados em gordura vegetal na dieta de matrizes de codornas pode exercer efeitos benéficos sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das matrizes, permitindo a produção de ovos férteis, com qualidade nutricional e estabilidade oxidativa superiores, resultando em progênie de melhor qualidade, mesmo quando desafiada durante o período mais sensível do seu desenvolvimento.

Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá (Maringá-Paraná, Brasil), de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – nº 6098240322) da Universidade Estadual de Maringá, Brasil.

Experimento 1: matrizes

Um total de 200 codornas de postura (*coturnix coturnix japonica*) sendo 100 fêmeas e 100 machos, obtidas de um criatório comercial, foram criadas em círculos de eucatex (separados por sexo) em ambiente climatizado, com camas forradas com papel corrugado, comedouros do tipo bandeja e bebedouros infantis, do primeiro até os 42 dias de idade. Nesse momento, os animais foram transferidas para o galpão de postura, com paredes laterais de alvenaria com 0,50 m de altura, completadas com tela de arame até o telhado e cortinas laterais móveis, contendo gaiolas individuais de arame galvanizado, bebedouros do tipo nipple e comedouro tipo calha.

A partir dos 42 dias de idade, as aves receberam iluminação artificial (16 h de luz e 8 h de escuro) e ração basal à vontade, até os 98 dias de idade. Durante esse período, o desenvolvimento das aves e a taxa de postura foram monitorados diariamente, e os animais tiveram livre acesso a água e ração formulada de acordo com Rostagno et al. (2017) para atender suas exigências nutricionais (Tabela 1).

Aos 98 dias de idade, 64 fêmeas com peso corporal médio de 150 g e taxa de postura de aproximadamente 85%, foram selecionadas e separadas com base em sua produção de ovos durante o período de 56 dias: baixa produção (**BP**, $\pm 55\%$); média produção (**MP**, $\pm 65\%$); produção intermediária (**PI**, $\pm 75\%$) e alta produção (**AP**, $\pm 85\%$). Em seguida,

as matrizes foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4×2 . O primeiro fator avaliado foi a produção de ovos: (baixa produção - BP; média produção - MP; produção intermediária - PI e alta produção - AP), e o segundo fator foi a suplementação das dietas das matrizes com o blend Sannimix[®] de ácidos orgânicos, óleos essenciais de canela, eugenol, timol e orégano, curcumina, taninos, vitamina E e zinco microencapsulados em gordura vegetal (SANNIMIX); ou dieta sem suplementação do blend (CONTROLE) (Tabela 1). Cada tratamento foi composto por 8 aves e cada ave foi considerada como uma unidade experimental e repetição (Figura 1).

Logo após a separação das matrizes (98 dias de idade) nos tratamentos, as mesmas começaram a receber as rações experimentais suplementadas (SANNIMIX) ou não (CONTROLE) com o blend Sannimix[®].

Tabela 1. Composição das rações de codornas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) fêmeas (1-126 dias de idade)

INGREDIENTES	DIETA CONVENCIONAL ¹		DIETA EXPERIMENTAL (98-126 DIAS) ²	
	1-14 DIAS	15-97 DIAS	CONTROLE	SANNIMIX
Milho (7,8% proteína bruta)	61,876	56,203	56,203	56,203
Farelo de Soja (46% proteína bruta)	34,00	32,300	32,300	32,300
Sal comum	0,445	0,375	0,375	0,375
Óleo de soja	0,300	1,600	1,600	1,600
Calcário calcítico (38%Ca)	1,125	7,520	7,520	7,520
Fosfato bicálcico (20%)	1,530	0,990	0,990	0,990
L-Lisina HCl	0,123	0,130	0,130	0,130
DL-Metionina (99%)	0,185	0,335	0,335	0,335
L-Treonina (98%)	0,016	0,047	0,047	0,047
Premix-Vitaminico mineral ³	0,400	0,400	0,400	0,400
Sannimix®	-	-	-	0,100
Caulim	-	0,100	0,100	-
Total	100,000	100,000	100,000	100,000
CONTEÚDO DE ENERGIA E NUTRIENTES (COMPOSIÇÃO CALCULADA)				
EMA ⁴ (kcal/kg)	2898,958	2795,309	2795,309	2795,309
Proteína bruta (%)	20,694	19,597	19,597	19,597
Cálcio (%)	0,855	3,151	3,151	3,151
Fósforo disponível (%)	0,450	0,330	0,330	0,330
Sódio (%)	0,199	0,171	0,171	0,171
AMINOÁCIDOS DIGESTÍVEIS (%)				
Metionina + cisteína	0,750	0,863	0,863	0,863
Lisina	1,101	1,051	1,051	1,051
Treonina	0,727	0,715	0,715	0,715

¹DIETA CONVENCIONAL = dieta formulada de acordo com Rostagno et al. (2017) para atender as exigências dos animais, no período de 1-97 dias de idade. Nessas rações não houve adição de aditivo Sannimix®. ²DIETAS EXPERIMENTAIS = nessas dietas houve a adição do aditivo (blend - Sannimix®). As dietas foram formuladas de acordo com Rostagno et al. (2017), sendo fornecidas aos animais no período experimental de 98 a 126 dias de idade. CONTROLE = dieta sem suplementação do blend Sannimix®; SANNIMIX = dieta suplementada com blend de ácidos orgânicos, óleos essenciais de canela, eugenol, timol e orégano, curcumina, taninos, vitamina E e zinco microencapsulados em gordura vegetal (Sannimix®). Níveis de garantia do Sannimix®/kg: 50,00 g ácido cítrico; 135,00 g ácido fumárico; 35,00 g ácido sórbico; 35,00 g de ácido málico; 15,00 mg de zinco; 12,00 mg vitamina E. ³Fornecido por kg de produto (ração 1 a 14 dias) = 2.270,000 UI de vitamina A; 6.330 UI de vitamina E; 561 mg de vitamina B1; 1.490 mg de vitamina B2; 858 mg de vitamina B6; 3.500 mcg de vitamina B12; 450 mg de vitamina K3; 2.976 mg de pantotenato de cálcio; 8.820 mg de niacina; 200 mg de ácido fólico; 20 mg de biotina; 86 mg de colina; 19 mg de zinco; 14 mg de ferro; 20 mg de manganês; 3.040 mg de cobre; 290 mg de iodo; 50 mg de cobalto; 88 mg de selênio; 25 mg de etoxiquim e 20 mg de BHA. ³Fornecido por kg de produto (15 a 126 dias dias) = 2.250,000 UI vitamina A; 500.000 UI vitamina D3; 7.000

UI vitamina E; 450 mg vitamina B1; 1.000 mg vitamina B2; 450 mg vitamina B6; 3.500 mg vitamina B12; 420 mg vitamina K3; 2.500 mg pantotenato de cálcio; 7.000 mg niacina; 180 mg ácido fólico; 15 mg biotina; 55 g colina; 12 g zinco; 12 g ferro; 15 g manganês; 3.000 mg cobre; 250 mg iodo; 50 mg cobalto; 72 mg selênio; 40 mg etoxiquim; 40 mg BHT. ⁴EMA = energia metabolizável aparente.

Aos 42 dias de idade, os machos também foram transferidos para o galpão de postura, sendo os mesmos distribuídos em gaiolas individuais de arame galvanizado, com bebedouros do tipo nipple e comedouro tipo calha. Aos 98 dias de idade, os machos ($n = 64$) com pesos vivos médios de aproximadamente 135 g foram separados para serem utilizados no experimento. Os machos foram utilizados apenas para o acasalamento, e os mesmos receberam ração convencional formulada de acordo com Rostagno et al. (2017), para atender suas exigências nutricionais (fase inicial: 1-14 dias – 2898,958 kcal/kg de energia metabolizável aparente e 20,694% de proteína bruta; fase de crescimento/final: 15-126 dias – 2910,317 kcal/kg de energia metabolizável aparente e 19,395% de proteína bruta).

Após sete dias do início do fornecimento das rações (SANNIMIX e CONTROLE) para as matrizes, os machos foram colocados em contato com as mesmas por uma hora, uma vez ao dia, durante o período de 21 dias. Para minimizar o possível efeito parental dos machos foi realizado um sistema de rodízio entre os casais. Nos primeiros dez dias de acasalamento, os ovos foram apenas contabilizados. Do 11º ao 21º de acasalamento, os ovos foram coletados para incubação, pesados, identificados de acordo com a dieta da mãe (SANNIMIX e CONTROLE), e mantidos em ambiente com temperatura controlada de 22°C, até o dia da incubação, que ocorreu no 11º de coleta (21º de dia de acasalamento) (Figura 1).

Ao final do período experimental proposto, todos os animais foram abatidos por deslocamento cervical aos 126 dias de idade.

Desempenho produtivo, reprodutivo e peso relativo de órgãos das matrizes

O desempenho produtivo das matrizes durante o período experimental (98 a 126 dias de idade) foi avaliado por meio das seguintes variáveis: peso inicial_{98dias} (g), peso final_{126dias} (g), consumo de ração (g) = (ração oferecida_{98dias} – sobra de ração_{126dias}), conversão alimentar/kg de ovo produzido = (consumo de ração em kg/kg de ovos), número de

ovos_{28dias}, peso médio dos ovos (g), taxa de postura (%) = ((número de ovos postos/28) × 100) e eclosão total (%) = ((número de ovos eclodidos/número de ovos incubados) × 100). O peso relativo do fígado, trato intestinal e baço foram avaliados ((peso do órgão/peso da ave) × 100). Além disso, o número de pintainhos nascidos vivos e o peso do pintainho ao nascimento (g) também foram avaliados.

O desempenho reprodutivo das matrizes foi avaliado por meio da contagem de folículos pré-hierárquicos (pequenos folículos brancos) e folículos ovarianos pré-ovulatórios (fase 1 a 5), bem como pela medida da circunferência dos folículos pré-ovulatórios (fase 1). Para avaliar o desempenho reprodutivo e o peso relativo de órgão, ao término do período de coleta de ovos (final do período experimental), as 64 matrizes ($n = 8$ aves/tratamento) foram pesadas após um jejum sólido de 6 horas, e, em seguida/ as mesmas foram abatidas por deslocamento cervical aos 126 dias de idade, para a coleta do ovário, fígado, trato intestinal e baço. Após a coleta do ovário, os folículos ovarianos maduros pré-ovulatórios (fase 1 a 5) e pré-hierárquicos foram extraídos e fotografados com câmera fotográfica digital (Nikon, Coolpix L315) para contagem dos mesmos. Além disso, as medidas de circunferência (mm) dos folículos pré-ovulatórios (fase 1) também foram realizadas. As contagens e medidas dos folículos ovarianos foram realizadas por meio do sistema de análise de imagem computadorizada *Image Pro Plus* versão 4.0 (Média Cibertecnic).

Para avaliar o peso relativo dos órgãos, após a coleta do fígado, trato intestinal (delgado e grosso) e baço, os mesmos foram pesados e o peso relativo dos órgãos foi calculado como: (peso do órgão/peso da ave) × 100.

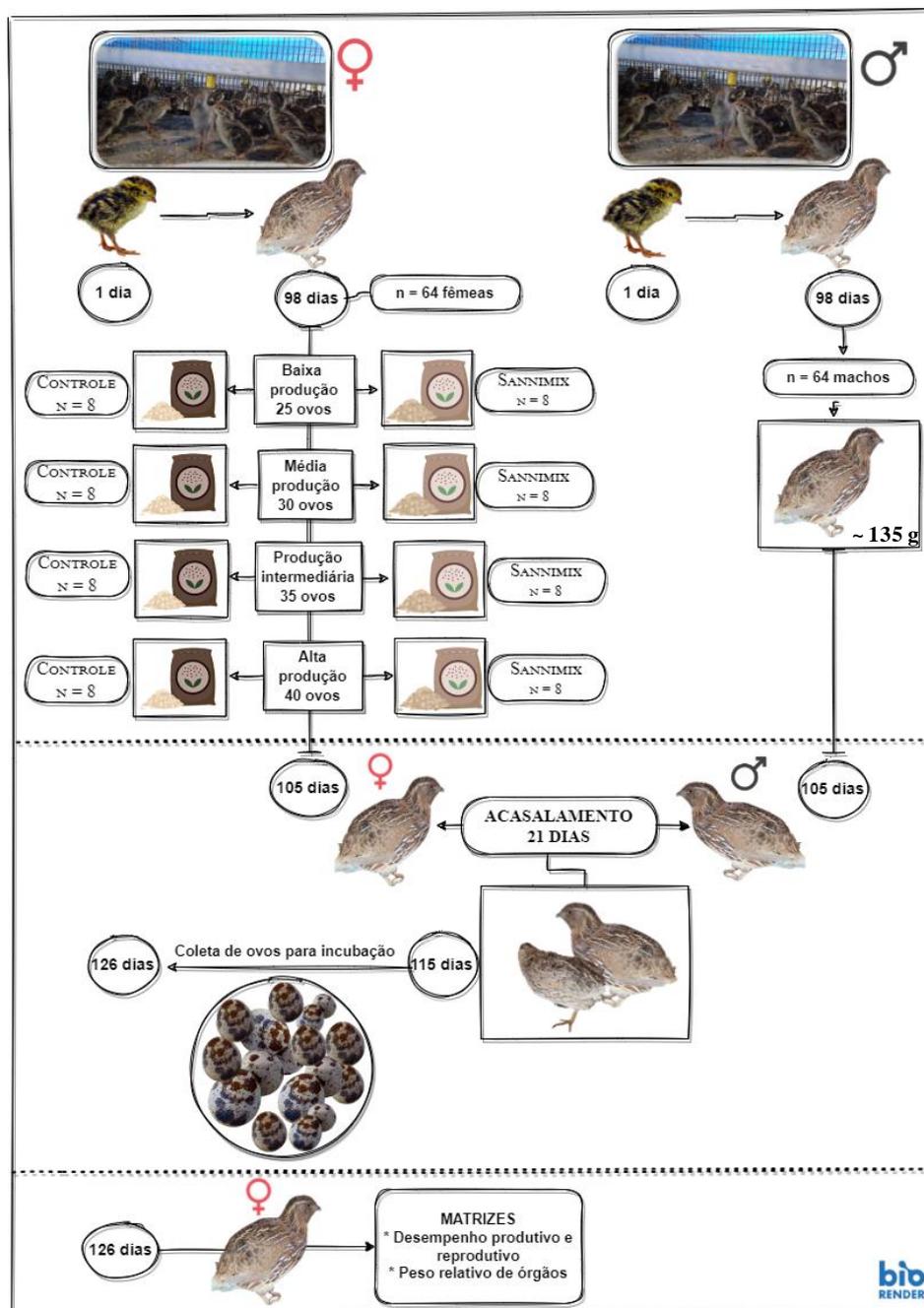


Figura 1. A figura representa o esquema experimental ilustrativo das matrizes.

Efeito materno (dieta materna) sobre o ambiente pré-eclosão da progênie, avaliado por meio da determinação da estabilidade oxidativa dos ovos

Para avaliar se a adição do blend Sannimix® na dieta das matrizes pode influenciar a estabilidade oxidativa dos ovos (ambiente de desenvolvimento da progênie), no último dia de coleta dos ovos para incubação (final do período experimental), 16 ovos

selecionados aleatoriamente de matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX ($n = 8$) e CONTROLE ($n = 8$) foram coletados. Logo após, os ovos foram parcialmente abertos com cuidado, e então, com pipeta Pauster descartável aproximadamente 1,5 ml de albúmen e 1,5 ml de gema foram coletados separadamente em tubos criogênicos, que foram em seguida congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80°C até o momento das análises (Figura 2).

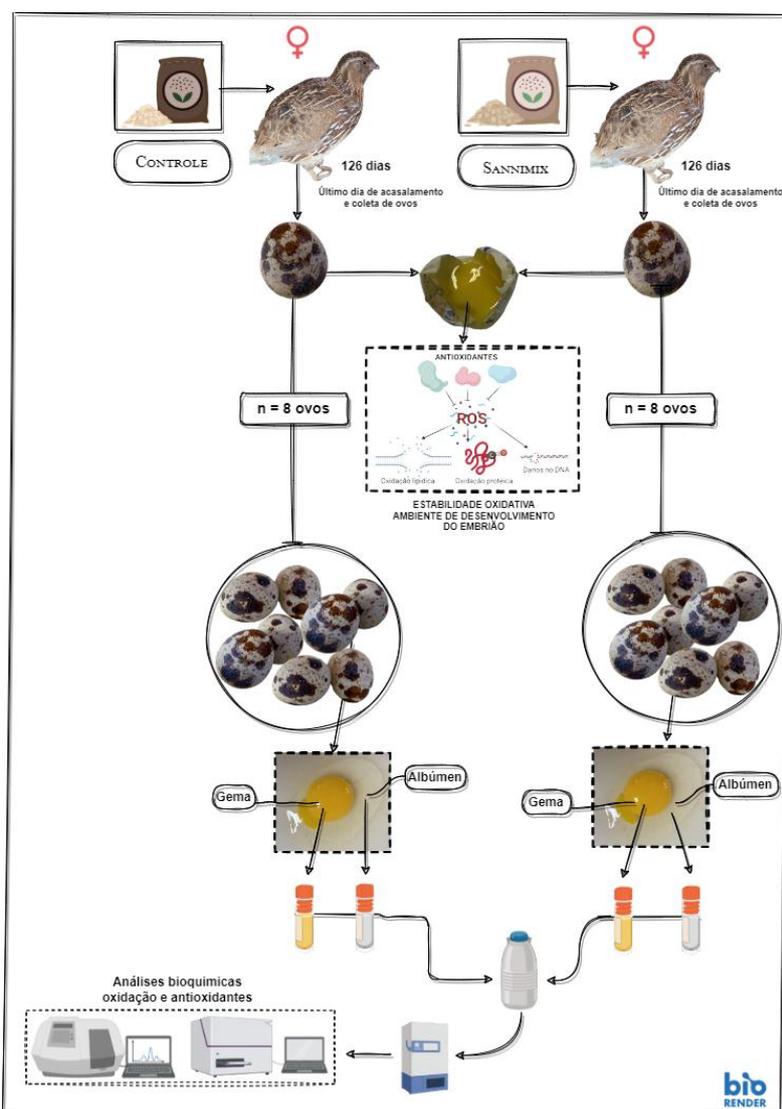


Figura 2. Representação ilustrativa do esquema experimental utilizado para avaliar o efeito da dieta materna sobre a estabilidade oxidativa dos ovos (ambiente pré-eclosão da progênie).

Experimento 2: incubação dos ovos e progênie

No último dia de coleta de ovos no experimento 1, os ovos previamente identificados de acordo com a dieta da matriz (SANNIMIX - $n = 200$ e CONTROLE - $n = 200$) foram adaptados à temperatura do ambiente (22°C) e armazenados individualmente em redes de fruta. Os ovos foram, então, incubados em duas incubadoras (Modelo Luna 240 - Chocmaster®) programadas para estarem com temperaturas diferentes: 37,5°C (incubadora controle – CTL, $n = 100$ ovos SANNIMIX e $n = 100$ ovos CONTROLE) e 38,5°C (incubadora de alta temperatura – AT, $n = 100$ ovos SANNIMIX e $n = 100$ ovos CONTROLE) (Figura 3). A umidade relativa das duas incubadoras foi mantida em 60% e o sistema de rolagem dos ovos ocorreu de forma automática a cada duas horas. Para minimizar o efeito dos dias de armazenamento, os ovos foram distribuídos nas incubadoras em blocos, de acordo com o dia da coleta. A partir do 17º dia de incubação até o 19º dia, o sistema de rolagem dos ovos foi desativado e os nascimentos foram acompanhados. Nesse período, os pintainhos recém eclodidos foram pesados para obtenção do peso ao nascimento. Além disso, no 17º e 19º dia de incubação seis embriões na idade embrionária E17 e 6 embriões E19, respectivamente) foram selecionados aleatoriamente, de acordo com a mãe (SANNIMIX e CONTROLE) e incubadora (CTL e AT) (Figura 3). Em seguida os mesmos foram abatidos por deslocamento cervical, e então o peso corporal total do embrião e do saco vitelino residual foram mensurados para estimar a utilização do saco vitelino pelo embrião conforme descrito por Dayan et al. (2020). O número de animais nascidos vivos e a taxa de eclosão total (%) também foram avaliados nesse momento considerando os efeitos da dieta materna e da temperatura de incubação.

Para avaliarmos se o efeito materno (dieta) sobre seus descendentes pode prepara-los para o seu próprio ambiente de criação, após os mesmos serem desafiados pela temperatura de incubação, logo após o nascimento, pintainhos saudáveis ($n = 240$) foram pesados e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2×2 (dietas maternas - CONTROLE (sem suplementação do blend) e SANNIMIX (dieta suplementada com blend Sannimix®)) vs. temperatura de incubação (CTL e AT). Cada grupo experimental foi composto por 60 aves (Figura 3).

Os pintainhos foram criados de maneira convencional em círculos de proteção (Eucatex) com piso forrado com papel corrugado, em ambiente climatizado mantendo a

temperatura de conforto térmico do animal, do primeiro ao 15º dia de idade. Os animais receberam ração convencional (sem suplementação do blend) formulada para atender as exigências nutricionais dessa fase inicial (1-15 dias) (2898,958 kcal/kg de energia metabolizável aparente e 20,694% de proteína bruta; Rostagno et al., 2017). Nesse período de 15 dias, os pintainhos tiveram livre acesso a água e a ração. No 15º dia de vida, seis animais de cada tratamento escolhidos com base no peso médio do grupo ($\pm 5\%$) foram pesados para obtenção do peso aos 15 dias, e em seguida foram sacrificados por deslocamento cervical, para a coleta e pesagem do fígado, coração, baço, da bursa de Fabricius, do trato intestinal (delgado e grosso), pâncreas e da moela + proventrículo. O peso relativo dos órgãos foi calculado como: $(\text{peso do órgão}/\text{peso da ave}) \times 100$. O comprimento do trato intestinal também foi mensurado nesse estudo.

Logo após a pesagem do fígado, fragmentos do lobo esquerdo desse tecido foram coletados em tubo criogênico, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80°C até o momento das análises de determinação do estado oxidante-antioxidante do fígado (Fígado 3).

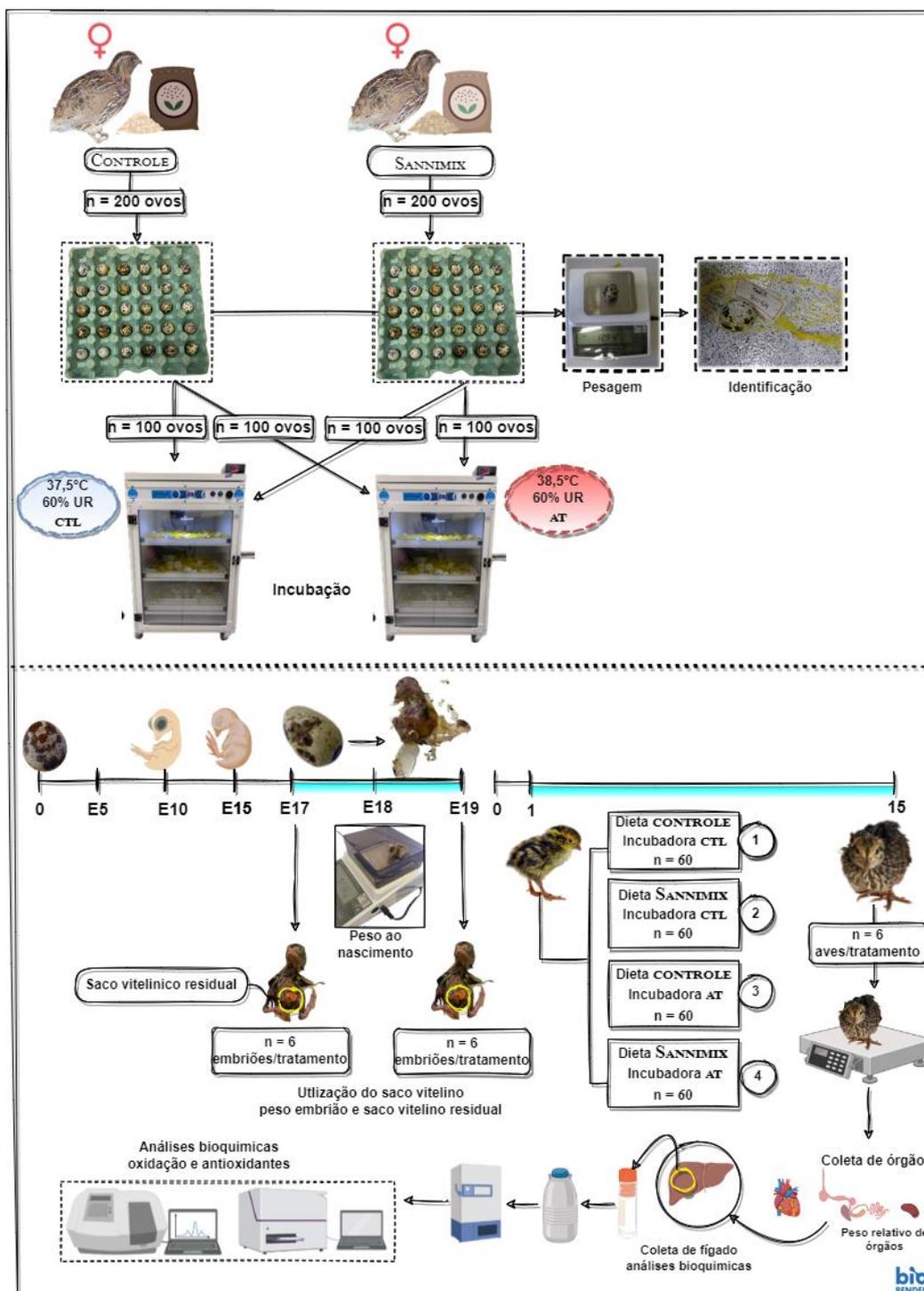


Figura 3. Representação ilustrativa do esquema experimental utilizado na incubação dos ovos e para avaliar a progênie.

Análises do estado oxidante-antioxidante dos ovos e do fígado da progênie

Determinação de espécies reativas de oxigênio total (ROS)

Para a obtenção dos sobrenadantes do albúmen e da gema, 100 mg de albúmen e 100 mg de gema, foram adicionados em microtubos separados contendo 1000 µl de tampão Tris-HCl a 10 mM, pH 7,4, em seguida os mesmos foram homogeneizados em agitador do tipo vortex analógico Fisher Scientific™ (Fisher Scientific), e então foram centrifugados a $12.000 \times g$ por 20 min e 4°C.

Os sobrenadantes do fígado foram obtidos de 100 mg de tecido. Essa quantidade de tecido foi adicionada em microtubo contendo 1000 µl de tampão Tris-HCl a 10 mM, pH 7,4, e em seguida foi homogeneizada com homogeneizador portátil Fisherbrand™ 150 (Fisher Scientific). Essa mistura foi então centrifugada a $12.000 \times g$ por 20 min a 4°C.

A determinação de ROS t

otal no albúmen, na gema e no fígado foi realizada conforme descrito por Jambunathan (2010). As leituras das fluorescências das amostras foram realizadas em espectrofluorímetro RF-5301PC (Shimadzu, Kyoto, Japan), nos comprimentos de onda de 504 nm e 526 nm para excitação e emissão, respectivamente. O conteúdo de ROS total foi expresso como unidade de fluorescência/mg de proteína.

O conteúdo de proteínas totais das amostras de albúmen, gema e fígado foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)

Para determinar a atividade da enzima SOD, 100 mg de albúmen, gema e fígado foram adicionados separadamente em microtubos contendo 1000 µl de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,4, e então amostras do fígado foram homogeneizadas com homogeneizador portátil Fisherbrand™ 150 (Fisher Scientific) até sua completa dissociação. As amostras de albúmen e gema foram homogeneizadas no tampão separadamente, em agitador do tipo vortex analógico Fisher Scientific™ (Fisher Scientific). Em seguida os homogenatos do fígado, albúmen e da gema foram centrifugados a $10.000 \times g$ por 10 min a 4°C. Os sobrenadantes obtidos foram recolhidos separadamente em novos microtubos para serem utilizados como amostras.

Para realizar a análise da atividade da enzima CAT no fígado e albúmen, a obtenção do sobrenadante foi realizada da mesma forma descrita para a enzima SOD, entretanto,

para a gema pequenas modificações foram feitas conforme descrito a seguir. Aproximadamente, 150 mg de gema foram adicionadas em microtubos contendo tampão fosfato de potássio 20 mM, pH 7,5, e homogeneizados em agitador do tipo vortex analógico Fisher Scientific™ (Fisher Scientific). Em seguida, os homogenatos foram centrifugados a $10.000 \times g$ por 10 min a 4°C, e então os sobrenadantes foram recolhidos em novos microtubos.

A atividade da enzima SOD foi mensurada de acordo com sua capacidade em inibir a autoxidação do pirogalol que gera o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$). O aumento da absorbância das amostras de fígado, albúmen e gema foi verificado no comprimento de onda de 420 nm, por 180 segundos em leitor de microplacas (VersaMax™, Molecular Devices). O procedimento analítico foi realizado conforme Khatlab et al. (2019). A atividade enzimática foi expressa como unidade (U) de SOD/mg de proteína (Marklund e Marklund, 1974).

A atividade enzimática da CAT foi realizada baseada na capacidade da enzima presente nas amostras de converter o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio molecular. Para isto, 20 μ l dos sobrenadantes obtidos do fígado, albúmen e da gema foram adicionados separadamente em 980 μ l de uma mistura reativa contendo tampão Tris 1 M + EDTA 5 mM, pH 8,0, e H_2O_2 (Anidrol). A atividade da enzima foi monitorada via espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-VIS (Thermo Fisher Scientific™), no comprimento de onda de 240 nm, por 60 segundos. A atividade da CAT foi expressa como a quantidade de H_2O_2 consumida/min/mg de proteína ($\epsilon = 33,33 M^{-1} \times cm^{-1}$) (Aebi, 1984).

O conteúdo de proteínas totais das amostras de albúmen, gema e fígado foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

Determinação de antioxidantes não enzimáticos: conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) e tióis não proteicos (NPSH)

Para determinar o conteúdo de GSH e NPSH, 150 mg de albúmen, gema e fígado foram adicionados separadamente em microtubos, contendo 1500 μ l de tampão Tris-HCl 50 mM e pH 7,5. Em seguida as amostras de fígado foram homogeneizadas com homogeneizador portátil Fisherbrand™ 150 (Fisher Scientific) até sua completa dissociação. As amostras de albúmen e gema foram homogeneizadas no tampão

separadamente em agitador do tipo vortex analógico Fisher Scientific™ (Fisher Scientific). Logo após, os homogenatos foram centrifugados a 3.000 rpm, por 10 min. Em seguida, 1000 µl de cada sobrenadante foram adicionados em novos micrutubos contendo ácido tricloroacético 10% (Synth). Essa mistura foi centrifugada a 3.000 rpm, por 10 min.

O conteúdo de GSH, foi determinado de acordo com o método descrito por Ellman (1959), com algumas modificações. Na cubeta, foram pipetados 750 µl de tampão fosfato de potássio 1 M pH 7,4; 200 µl de sobrenadante de cada amostra (fígado, albúmen e gema); e 50 µl de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB – Sigma-Aldrich) a 10 mM. As leituras das absorbâncias foram realizadas no espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-VIS (Thermo Fisher Scientific™), no comprimento de onda de 412 nm. A curva padrão da glutationa a 1 mM (L-GSH, Sigma-Aldrich) foi feita para verificar se as absorbâncias das amostras estavam dentro dos pontos da curva. Além disso, foi feita uma curva padrão da cisteína (L-cisteína, Sigma-Aldrich) a 0,5 mM para obtenção do fator da curva da cisteína. O conteúdo de GSH foi calculado da seguinte forma: $GSH = (\text{absorbância da amostra} \times \text{fator da curva da cisteína}) / \text{quantidade de proteína (mg)}$, e os resultados foram expressos como nmol de GSH/mg de proteína.

A determinação do conteúdo de NPSH, foi realizada de acordo com o método descrito por Boyne e Ellman (1972) com algumas modificações. Na cubeta, foram pipetados 1000 µl de tampão fosfato de potássio 0,5 M pH 6,8; 400 µl de água destilada, 600 µl de sobrenadante de cada amostra; e 50 µl de 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB – Sigma-Aldrich) a 10 mM. As leituras das absorbâncias foram realizadas no espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-VIS (Thermo Fisher Scientific™), no comprimento de onda de 412 nm. O conteúdo de NPSH nas amostras foi calculado, utilizando o fator da curva padrão da cisteína (L-cisteína - Sigma-Aldrich) a 0,5 mM. O conteúdo de NPSH foi calculado como: $NPSH = (\text{absorbância da amostra} \times \text{fator da curva da cisteína}) / \text{quantidade de proteína (mg)}$, e os resultados foram expressos como nmol de NPSH/mg de proteína.

O conteúdo de proteínas totais das amostras de albúmen, gema e fígado foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

Capacidade antioxidante (DPPH)

A capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH, Sigma-Aldrich), foi realizada segundo o método descrito por Brand-Williams et al. (1995), com algumas modificações. Na gema e no fígado o procedimento de determinação da capacidade antioxidante foi realizado conforme descrito por Khatlab et al. (2019). No albúmen a capacidade antioxidante foi determinada conforme descrito por Janaszewska e Bartosz (2002) com algumas modificações. Em microtubos foram adicionados 380 µl de tampão fosfato de potássio 10 mM pH 7,4, 20 µl de albúmen e 400 µl de solução de DPPH (preparada com metanol) a 0,06 mM. As reações foram incubadas no escuro à temperatura ambiente (25°C) por 30 min. Antes da leitura das absorbâncias das amostras, as reações foram centrifugadas a $10.000 \times g$ por 5 min a 4°C, e então 300 µl destes sobrenadantes foram adicionados nos poços de uma microplaca para a leitura das absorbâncias a 515 nm (leitor de microplacas VersaMaxTM, Molecular Devices). A absorbância das amostras foi comparada com a de uma solução referência de DPPH 0,06 mM e tampão de fosfato de potássio a 10 mM pH 7,4. A capacidade antioxidante do albúmen, da gema e do fígado foi expressa como porcentagem (%).

Oxidação lipídica (dienos conjugados e malondialdeído - MDA) e proteica (proteínas carboniladas - PC)

A peroxidação lipídica no albúmen, na gema e no fígado foi avaliada por meio da detecção de produtos primários (dienos conjugados) e secundários (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - MDA) da degradação lipídica.

Dienos conjugados (DC): o conteúdo de dienos conjugados nas amostras do albúmen, da gema e do fígado foi determinado conforme descrito a seguir. Aproximadamente 100 mg de de albúmen, gema e fígado foram adicionados separadamente em microtubos, contendo etanol absoluto 99,8% (Riedel-de HaënTM). Em seguida amostras de fígado foram homogeneizadas com homogeneizador portátil FisherbrandTM 150 (Fisher Scientific) até sua completa dissociação. As amostras de albúmen e gema foram adicionadas separadamente em microtubos contendo etanol absoluto 99,8% (Riedel-de HaënTM), e em seguida foram homogeneizadas em agitador do tipo vortex analógico Fisher ScientificTM (Fisher Scientific). Essas reações foram

centrifugadas a $10.000 \times g$ por 10 min, e em seguida alíquotas de 250 μ l do sobrenadante do fígado e da gema e, 400 μ l de sobrenadante do albúmen, foram adicionados em novos microtubos, contendo 1250 μ l e 1100 μ l para fígado/gema e albúmen, respectivamente, de etanol absoluto 99,8% (Riedel-de HaënTM). Essas reações foram centrifugadas a $16.800 \times g$ por 20 min. A absorbância destas amostras foram determinadas em espectrofotômetro EvolutionTM 300 UV-VIS (Thermo Fisher ScientificTM) nos comprimentos de onda de 234 nm e 500 nm. A diferença entre as absorbâncias específicas (234 nm) e inespecíficas (500 nm) foi utilizada nos cálculos de quantificação do conteúdo de dienos conjugados ($\epsilon = 2,65 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) (Boveris et al., 1980). Os resultados foram expresos como μmol de dienos conjugados/g de amostra.

MDA: O princípio desta análise é baseado na reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos incluindo o malondialdeído (Buege e Aust, 1978). O conteúdo de MDA no albúmen, na gema e no fígado foi avaliado a partir da adição de 100 mg de cada amostra em microtubos separados, contendo 1000 μ l de tampão fosfato de potássio 20 mM, pH 7,5. Em seguida as amostras de fígado foram homogeneizadas com homogeneizador portátil FisherbrandTM 150 (Fisher Scientific) até sua completa dissociação. As amostras de albúmen e gema foram homogeneizadas no tampão separadamente em agitador do tipo vortex analógico Fisher ScientificTM (Fisher Scientific). Os homogenatos obtidos foram centrifugados a $10.000 \times g$ por 10 min a 4°C. Após a centrifugação, 250 μ l do sobrenadante do fígado e da gema, e 400 μ l do sobrenadante do albúmen foram transferidos separadamente para novos microtubos contendo 250 μ l (fígado e gema) e 100 μ l (albúmen) de ácido tricloroacético 10% (Synth) e 500 μ l de ácido tiobarbitúrico 0,67% (Sigma-Aldrich). As reações foram homogeneizadas em agitador do tipo vortex analógico Fisher ScientificTM (Fisher Scientific), sendo, em seguida, incubadas em termobloco a 100°C por 15 min. Logo após, as reações foram centrifugadas a $10.000 \times g$ por 10 min a 4°C. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro EvolutionTM 300 UV-VIS (Thermo Fisher ScientificTM) no comprimento de onda de 535 nm. Para quantificar o conteúdo de MDA das amostras, no cálculo foi utilizado um fator de correção obtido a partir da curva padrão do malondialdeído (MDA), preparada com o reagente 1,1,3,3-tetraetoxipropano (Sigma-Aldrich) na concentração de 0,03 mM. O conteúdo de MDA foi calculado

como: $MDA = \text{absorbância da amostra} \times \text{fator de correção (MDA)}/\text{quantidade de proteína}/\text{volume de amostra}$. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/mg de proteína.

A oxidação proteica, foi avaliada a partir da determinação da formação de derivados carbonílicos nas amostras de albúmen, gema e fígado. Essa análise foi mensurada através do método que utiliza o reagente 2-4 dinitrofenilhidrazina (DNPH – Sigma Aldrich), conforme descrito por Levine et al. (1994). Os procedimentos analíticos desta análise foram realizados conforme descrito por Khatlab et al. (2019). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-VIS (Thermo Fisher Scientific™) no comprimento de onda de 370 nm. Os resultados foram expressos como nmol de grupos carbonílicos/mg de proteína.

O conteúdo de proteínas totais das amostras de albúmen, gema e fígado foi determinado pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

Análise estatística

O procedimento UNIVARIATE foi aplicado para verificar a normalidade dos dados. Todos os dados foram avaliados utilizando o procedimento PROC GLM (SAS, 2002 versão 9.00, SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Matrizes

Os dados obtidos das matrizes foram avaliados considerando a ave como uma unidade experimental e repetição ($n = 8$ aves/tratamento). O desempenho produtivo e reprodutivo das matrizes (peso inicial e final, peso relativo de órgãos, consumo de ração, número de ovos, taxa de postura, peso do ovo, número de folículos pré-ovulatórios (fase 1 a 5), circunferência de folículos ovarianos pré-ovulatórios (fase 1), taxa de eclosão total, número de pintainhos nascidos vivos e peso do pintainho ao nascimento) foi avaliado por meio da ANOVA two-way. No modelo estatístico, foram considerados os efeitos principais (produção de ovos e dieta) e a interação entre os fatores. O número de folículos pré-hierárquicos foi avaliado por meio da ANOVA one-way, sendo considerado no modelo apenas o efeito da dieta da matriz. As médias com efeitos significativos de interação e/ou do efeito principal produção de ovos, foram

comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), e quando houve efeito significativo somente da dieta materna, as médias foram comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

Efeito materno (dieta materna) sobre o ambiente pré-eclosão da progênie, avaliado por meio da determinação da estabilidade oxidativa dos ovos

Para avaliar possíveis efeitos maternos sobre o ambiente pré-eclosão da progênie, os dados de estabilidade oxidativa dos ovos ($n = 8/\text{tratamento}/\text{repetição}$), foram avaliados por meio da ANOVA one-way, e no modelo foi considerado somente o efeito da dieta materna. As médias com diferença significativa foram comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

Efeito materno e da temperatura de incubação sobre a progênie

Para avaliar como o efeito materno (dieta materna) e da temperatura de incubação pode influenciar a resposta da progênie ao seu próprio ambiente durante a incubação e após o nascimento na fase inicial, os dados de número de pintainhos nascidos vivos, taxa de eclosão total, peso ao nascimento ($n = 60 \text{ aves}/\text{tratamento}$), taxa de absorção do saco vitelino residual (E17 e E19, $n = 6 \text{ aves}/\text{tratamento}$), peso aos 15 dias de idade ($n = 6 \text{ aves}/\text{tratamento}$), peso relativo de órgãos aos 15 dias de idade ($n = 6 \text{ aves}/\text{tratamento}$) e estado oxidante-antioxidante do fígado da progênie com 15 dias de idade ($n = 6 \text{ aves}/\text{tratamento}$), foram avaliados por meio da ANOVA two-way. No modelo estatístico, foram considerados os efeitos principais (dieta materna e temperatura de incubação) bem como a interação entre os fatores. Quando houve efeito de interação, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), caso contrário, as médias da dieta materna e/ou da temperatura de incubação foram comparadas pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

Quando não verificado efeito significativo de interação entre dieta materna e temperatura de incubação sobre os dados do estado oxidante-antioxidante do fígado da progênie, optamos por realizar as análises do efeito da dieta materna em cada temperatura de incubação de forma independente.

Resultados

Experimento 1: matrizes

Desempenho produtivo, reprodutivo e peso relativo de órgãos

Os resultados de desempenho produtivo: peso inicial^{98dias}, peso final^{126dias}, consumo de ração, conversão alimentar/kg de ovo, número de ovos produzidos, peso dos ovos, taxa de postura e eclosão total, número de pintainhos nascidos vivos e peso dos pintainhos ao nascimento são apresentados na Tabela 2. Não foi verificado efeito significativo de interação entre os tratamentos (produção de ovos × dieta) sobre nenhuma das variáveis de desempenho produtivo avaliadas. Entretanto, houve efeito significativo da produção de ovos sobre o consumo de ração ($P = 0,0065$) e peso do pintainho ao nascimento ($P = 0,0274$). O maior consumo de ração foi observado nas matrizes do tratamento PI, não sendo observada diferença no consumo de ração de matrizes nos tratamentos BP e MP. Não houve efeito do tratamento produção de ovos sobre o peso inicial, peso final, conversão alimentar, número de ovos, peso dos ovos, taxa de postura e eclosão total, e número de pintainhos nascidos vivos ($P > 0,05$).

A dieta influenciou o peso dos ovos ($P = 0,0241$), a taxa de eclosão total ($P = 0,0059$) e o peso do pintainho ao nascimento ($P = 0,0307$). As matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX produziram ovos com maior peso, apresentaram maior taxa de eclosão total e progênie com maior peso ao nascimento, do que as matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Não foi observado efeito significativo da dieta sobre o peso inicial e final, consumo de ração, conversão alimentar, número de ovos, taxa de postura e número de pintainhos nascidos vivos ($P > 0,05$).

Tabela 2. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre o desempenho produtivo de matrizes de codornas de postura (*Coturnix coturnix japonica*) no período de 98 a 126 dias de idade

TRATAMENTOS		PI (g) ¹	PF (g) ²	CR (g) ³	CA/kg de ovo ⁴	Número de ovos produzidos ⁵	Peso de ovo (g)	Taxa de postura (%)	Taxa de eclosão total (%)	Número de pintainho nascido	Peso do pintainho ao nascimento (g)
		MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA
BP	SANNIMIX	143,80	160,33	30,77	3,15	23,64	11,73	84,52	74,58	3,08	8,14
	CONTROLE	145,83	160,00	30,17	3,01	24,88	11,07	88,57	54,58	2,70	7,57
MP	SANNIMIX	154,60	163,00	28,74	2,78	23,80	11,62	85,00	73,75	2,63	8,05
	CONTROLE	145,00	159,50	30,79	3,00	25,67	11,36	91,67	47,86	2,92	8,17
PI	SANNIMIX	157,25	163,14	30,66	2,88	24,83	11,56	88,69	60,24	2,83	8,57
	CONTROLE	159,75	166,00	34,10	3,27	25,80	11,65	92,14	66,11	3,05	8,39
AP	SANNIMIX	149,50	165,33	28,23	2,85	26,40	11,87	94,29	61,67	3,88	8,77
	CONTROLE	143,80	164,71	26,38	2,82	25,60	10,98	91,43	48,33	2,30	7,91
<i>Efeitos principais</i>											
Produção de OVOS	BP	144,91	160,17	30,45 ^{ab}	3,08	24,18	11,42	86,36	55,29	2,90	7,87 ^b
	MP	149,36	161,00	29,91 ^{ab}	2,91	24,82	11,44	88,64	63,95	2,87	8,15 ^{ab}
	PI	158,50	164,33	31,98 ^a	3,06	25,27	11,59	90,26	64,21	2,88	8,51 ^a
	AP	146,33	165,00	27,31 ^b	2,83	26,00	11,48	92,86	66,58	3,05	8,32 ^{ab}
Dieta	SANNIMIX	151,06	162,96	29,63	2,90	24,64	11,70 ^a	87,99	68,41 ^a	3,17	8,45 ^a
	CONTROLE	147,76	162,27	30,10	3,01	25,48	11,23 ^b	90,99	55,18 ^b	2,70	7,96 ^b
Erro Padrão Médio (SEM)		14,70	15,02	4,11	0,29	2,84	0,91	10,14	20,85	1,14	0,64
<i>Valor de P</i>											
Produção de ovos		0,2387	0,8108	0,0244	0,1023	0,5292	0,9044	0,5292	0,3021	0,9050	0,0274
Dieta		0,5764	0,9255	0,5063	0,1930	0,3688	0,0403	0,3688	0,0059	0,2288	0,0307
Produção de ovos × Dieta		0,7483	0,9627	0,3448	0,1504	0,7481	0,3659	0,7481	0,1339	0,0897	0,2094

^{a,b}Médias na mesma coluna com letras diferentes sobrescritas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey e t de Student ($P < 0,05$). Os

resultados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM). A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$ aves/tratamento). ¹PI = peso inicial, obtido aos 98 dias de idade; ²PF = peso final, obtido aos 126 dias de idade; ³CR = consumo de ração; ⁴CA/kg de ovo = conversão alimentar/kg de ovo produzido em 28 dias. ⁵Número de ovos produzidos em 28 dias.

Na Figura 4, são apresentados os resultados de desempenho reprodutivo: número de folículos pré-hierárquicos. Houve efeito significativo da dieta sobre o número de folículos pré-hierárquicos ($P = 0,0155$), sendo verificado que as matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX (10,40) apresentaram maior número desses folículos do que aquelas matrizes consumindo a dieta CONTROLE (7,25).

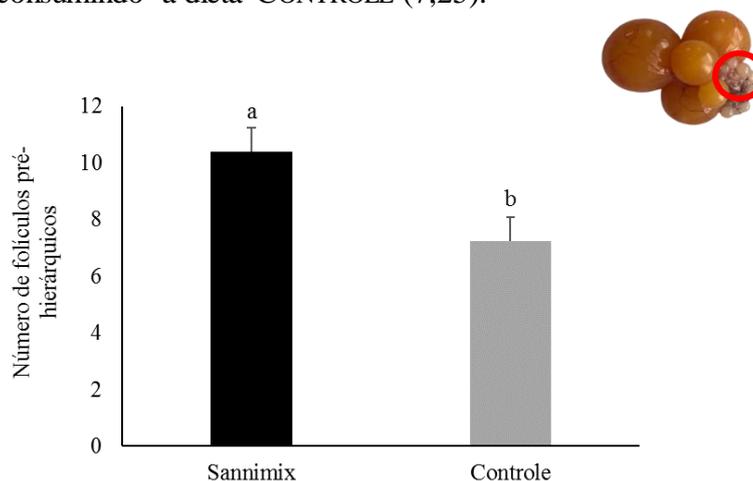


Figura 4. Efeito da dieta da matriz sobre o número de folículos pré-hierárquicos (pequenos folículos brancos). Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$ aves/tratamento). ^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). O círculo vermelho indica os folículos pré-hierárquicos.

Adicionalmente, os resultados de desempenho reprodutivo: número de folículos pré-ovulatórios (fase 1 a 5) e circunferência dos folículos pré-ovulatórios (fase 1) são apresentados na Figura 5. Não houve efeito de interação entre os tratamentos sobre o número e circunferência dos folículos pré-ovulatórios ($P > 0,05$). Também não foi verificado efeito significativo do tratamento produção de ovos e dieta sobre o número de folículos pré-ovulatórios ($P = 0,6280$ e $P = 0,0638$, respectivamente). Por outro lado,

foi observado efeito significativo do tratamento produção de ovos sobre a circunferência do folículo pré-ovulatório na fase 1 ($P = 0,0317$). Foi observado que as matrizes do tratamento PI apresentaram folículos pré-ovulatórios com maior circunferência. Não houve efeito da dieta sobre a circunferência dos folículos pré-hierárquicos ($P = 0,7248$).

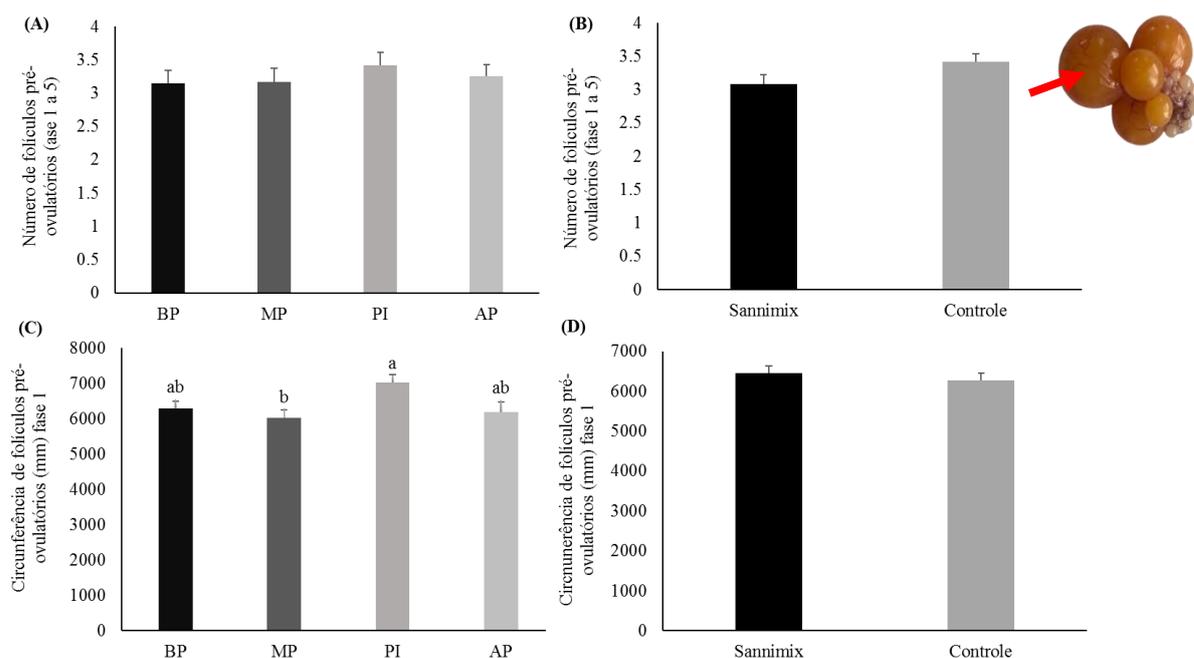


Figura 5. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre o número de folículos pré-ovulatórios fase 1 a 5 (A e B, respectivamente) e circunferência dos folículos pré-ovulatórios fase 1 (C e D, respectivamente). Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$ aves/tratamento). ^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). BP = baixa produção; MP = média produção; PI = produção intermediária e AP = alta produção. SANNIMIX = dieta suplementada com o blend Sannimix® e CONTROLE = dieta sem suplementação do blend. A seta vermelha indica o folículo pré-ovulatório (fase 1).

Na Figura 6 são apresentados os resultados de peso relativo de órgãos das matrizes de codornas de postura com 126 dias de idade. Não foi observado efeito significativo de interação (produção de ovos \times dieta) e dos efeitos principais sobre os pesos relativos do fígado, intestino delgado + grosso e baço ($P > 0,05$).

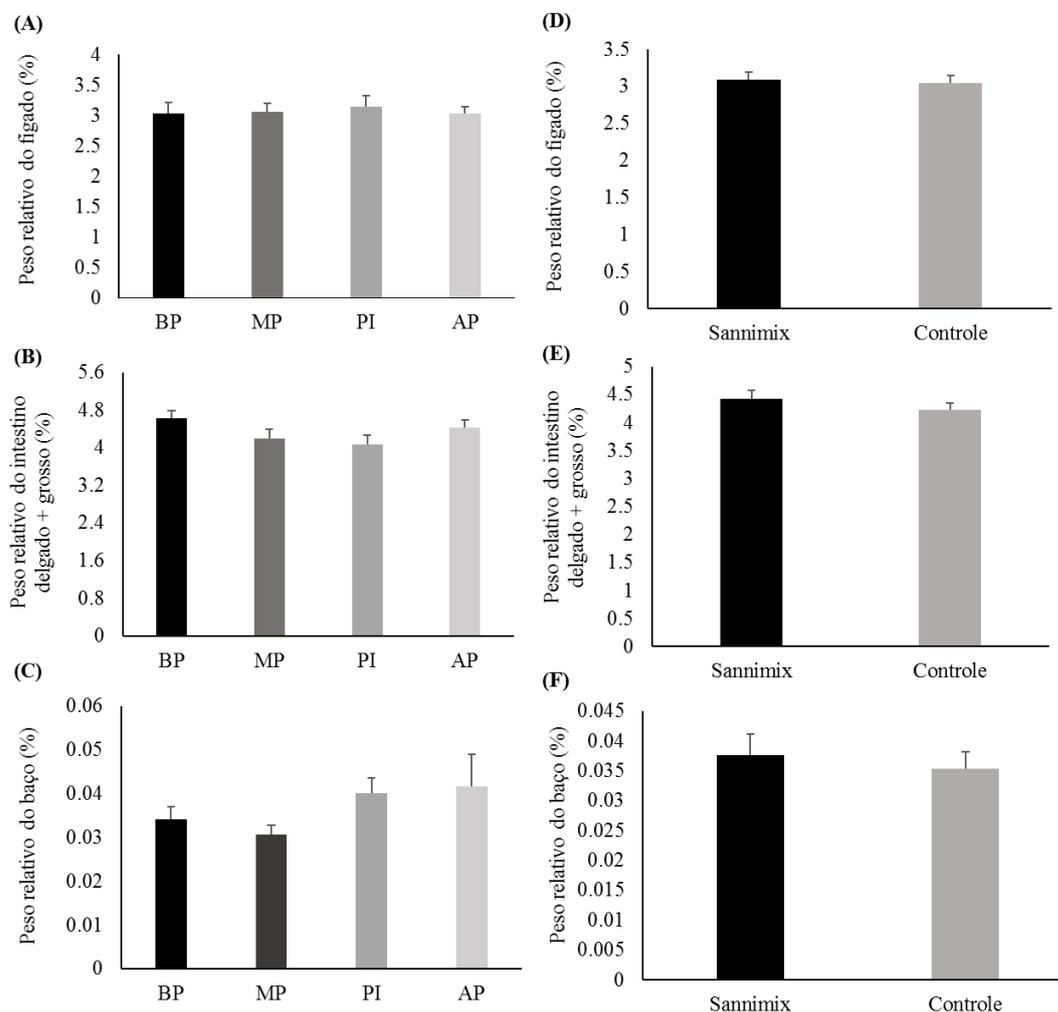


Figura 6. Efeitos dos tratamentos produção de ovos e dieta sobre os pesos relativos do fígado (A e D, respectivamente), intestino delgado + grosso (B e E, respectivamente) e do baço (C e F, respectivamente) de matrizes de codornas de postura com 126 dias de idade. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8$ aves/tratamento). BP = baixa produção; MP = média produção; PI = produção intermediária e AP = alta produção. SANNIMIX = dieta suplementada com o blend Sannimix[®] e CONTROLE = dieta sem suplementação do blend.

Efeito materno (dieta materna) sobre o ambiente pré-eclosão da progênie, avaliado por meio da determinação da estabilidade oxidativa dos ovos

Os efeitos da suplementação do blend SANNIMIX na dieta das matrizes sobre o ambiente pré-eclosão da progênie foram avaliados por meio do estado oxidante-antioxidante do ovo (albúmen e da gema) e são apresentados na Tabela 3. No albúmen dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, a atividade das enzimas SOD ($P = 0,0016$) e CAT ($P = 0,0357$) foram aproximadamente 20% e 31% menores, respectivamente, do que a atividade dessas enzimas no albúmen dos ovos das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Adicionalmente, foi observado maior conteúdo de GSH ($P = 0,0083$) e menor oxidação proteica ($P = 0,0183$) no albúmen dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX do que no albúmen dos ovos das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Não houve efeito significativo da dieta materna sobre o conteúdo de ROS total, NPSH, capacidade antioxidante, dienos conjugados e MDA ($P > 0,05$).

Na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, ao contrário do que foi observado no albúmen, houve maior atividade da enzima SOD ($P = 0,0001$), representando aumento de aproximadamente 57% em sua atividade quando comparada a atividade da SOD na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Enquanto que a atividade da enzima CAT na gema ($P < 0,0001$) demonstrou o mesmo comportamento de atividade no albúmen. Sendo observado que houve redução de aproximadamente 57% na atividade desta enzima na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, quando comparado a atividade da CAT na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Além disso, na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX houve maior capacidade antioxidante ($P = 0,0004$) e menor oxidação proteica ($P = 0,0059$) do que na gema dos ovos das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Não houve efeito significativo da dieta materna sobre o conteúdo de ROS total, GSH, NPSH, dienos conjugados e MDA ($P > 0,05$).

Tabela 3. Efeitos da dieta das matrizes (SANNIMIX ou CONTROLE) sobre o estado oxidante-antioxidante dos ovos (ambiente pré-eclosão da progênie)

	ALBÚMEN				GEMA				
	SANNIMIX	CONTROLE	Erro médio (SEM)	Padrão Valor de <i>P</i>	SANNIMIX	CONTROLE	Erro médio (SEM)	Padrão Valor de <i>P</i>	
ROS total ¹	1251,70	1356,51	147,68	0,2943	8348,27	8962,93	1268,94	0,4657	
SOD ²	122,60 ^b	152,44 ^a	15,33	0,0016	92,44 ^a	58,74 ^b	12,51	0,0001	
CAT ³	55,05 ^b	80,29 ^a	21,72	0,0357	102,73 ^b	230,49 ^a	33,48	<0,0001	
GSH ⁴	5,74 ^a	3,40 ^b	1,52	0,0083	12,53	12,20	2,00	0,7612	
NPSH ⁵	14,60	13,83	3,54	0,6714	28,80	28,78	5,16	0,9942	
Capacidade antioxidante ⁶	62,02	57,35	11,85	0,4745	23,07 ^a	15,67 ^b	3,20	0,0004	
Dienos conjugados ⁷	0,13	0,11	0,02	0,2300	7,63	7,76	0,97	0,8151	
MDA ⁸	0,90	1,04	0,14	0,0901	1,91	2,49	0,59	0,1488	
Proteína carbonilada ⁹	9,67 ^b	12,95 ^a	2,46	0,0183	2,26 ^b	4,67 ^a	1,11	0,0059	

^{a,b}Médias na mesma linha com letras diferentes sobrescritas são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Os resultados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM). O ovo (albúmen e gema) de cada matriz foi considerada como uma unidade experimental ($n = 8/\text{tratamento}$). SANNIMIX = dieta materna suplementada com blend Sannimix[®]; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend. ¹ROS total = espécies reativas de oxigênio total, expresso como unidade de fluorescência/mg de proteína. ²SOD = atividade da enzima superóxido dismutase, expressa como U de SOD/mg de proteína. ³CAT = atividade da enzima catalase, expressa como a quantidade de peróxido de hidrogênio consumida/min/mg de proteína. ⁴GSH = glutationa reduzida, expressa como nmol de GSH/mg de proteína. ⁵NPSH = tióis não proteicos, expresso como nmol de NPSH/mg de proteína. ⁶Capacidade antioxidante, expressa como %. ⁷Dienos conjugados, expresso como

μmol de dienos conjugados/g de amostra. ⁸MDA = conteúdo de malondialdeído, expresso como nmol de MDA/mg de proteína. ⁹Proteínas carboniladas, expressa como nmol de grupo carbonil/mg de proteína.

Experimento 2: progênie

Efeito materno (dieta materna) e da temperatura de incubação sobre o desempenho de incubação dos ovos e da progênie (1 a 15 dias de idade)

Na Tabela 4, são apresentados os resultados da taxa de eclosão total e número de pintainhos nascidos vivos. Não foi observado efeito de interação entre os tratamentos (dieta materna e temperatura de incubação) sobre a taxa de eclosão total e número de pintainhos nascidos vivos. Entretanto, a dieta materna influenciou a taxa de eclosão total ($P = 0,0093$). A maior taxa de eclosão total dos ovos foi verificada na dieta materna SANNIMIX, representando um aumento de 24% na taxa eclosão total em relação a dieta materna CONTROLE. A taxa de eclosão total não foi influenciada pela temperatura de incubação ($P = 0,2200$). Não houve efeito significativo da dieta materna e da temperatura de incubação sobre o número de pintainhos nascidos vivos ($P = 0,2288$ e $P = 0,2110$, respectivamente).

Tabela 4. Efeitos da dieta materna e da temperatura de incubação sobre a taxa de eclosão total (%) e número de pintainhos nascidos vivos

TRATAMENTOS		Taxa de eclosão total (%)	Número de pintainhos nascidos vivos
		MÉDIA	MÉDIA
SANNIMIX	AT	69,60	3,20
	CTL	67,27	2,99
CONTROLE	AT	60,20	3,01
	CTL	51,11	2,50
<i>Efeitos principais</i>			
Dieta materna	SANNIMIX	68,41 ^a	3,17
	CONTROLE	55,18 ^b	2,70
Temperatura de incubação	AT	65,40	3,11
	CTL	59,38	2,74
Erro padrão médio (SEM)		20,85	1,14
<i>Valor de P</i>			
Dieta materna		0,0093	0,2288
Temperatura de incubação		0,2200	0,2110
Dieta materna × Temperatura de incubação		0,3120	0,5881

^{a,b}Médias na mesma coluna com letras diferentes sobrescritas são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Os resultados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM). AT = incubadora alta temperatura 38,5°C; CTL = incubadora controle 37,5°C; SANNIMIX = dieta materna suplementada com o blend Sannimix®; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend.

Os efeitos da dieta materna e da temperatura de incubação sobre o desempenho da progênie são apresentados na Tabela 5. Não foi observado efeito de interação sobre nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados ($P > 0,05$). Entretanto, houve efeito significativo da dieta materna sobre a porcentagem do saco vitelino residual (E19, $P = 0,0059$), peso ao nascimento ($P = 0,0309$), peso aos 15 dias de idade ($P = 0,0173$) e ganho de peso ($P = 0,0130$). A progênie oriunda das mães que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram menor porcentagem de saco vitelino residual, maior peso ao nascimento e aos 15 dias de idade, bem como maior ganho de peso, do que a progênie de mães que consumiram a dieta CONTROLE. A porcentagem de saco vitelino residual em embriões E17 não foi influenciada pela dieta materna ($P = 0,3307$). Adicionalmente, verifica-se efeito significativo da temperatura de incubação sobre a porcentagem do saco vitelino residual em embriões E17 ($P = 0,0011$) e E19 ($P = 0,0001$), o peso aos 15

dias de idade ($P = 0,0076$), e ganho de peso ($P = 0,0009$). Os embriões E17 e E19 oriundos de ovos incubados em AT ($38,5^{\circ}\text{C}$) apresentaram menor porcentagem de saco vitelino residual, quando comparado aos embriões oriundos de ovos incubados em temperatura CTL ($37,5^{\circ}\text{C}$). Além disso, os pintainhos oriundos de ovos incubados em AT apresentaram menor peso aos 15 dias de idade e ganho de peso. Não houve efeito da temperatura de incubação sobre o peso ao nascimento ($P = 0,1402$).

Tabela 5. Efeitos da dieta materna e da temperatura de incubação sobre a porcentagem de saco vitelino residual nos embriões (idades embrionárias E17 e E19) e o desempenho da progênie no período de 1 a 15 dias de idade

TRATAMENTOS		Saco vitelino residual E17 (%)	Saco vitelino residual E19 (%)	Peso ao nascimento (g)	Peso aos 15 dias de idade (g)	Ganho de peso de 1 a 15 dias (g)
		MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA
SANNIMIX	AT	25,94	5,57	8,52	48,17	39,65
	CTL	27,05	8,37	8,10	46,33	38,23
CONTROLE	AT	32,45	11,27	8,25	51,33	43,08
	CTL	34,98	18,35	7,92	48,50	40,58
<i>Efeitos principais</i>						
Dieta materna	SANNIMIX	29,19	8,42 ^b	8,45 ^a	49,75 ^a	41,30 ^a
	CONTROLE	31,02	13,36 ^a	7,96 ^b	47,42 ^b	39,46 ^b
Temperatura de incubação	AT	26,50 ^b	6,97 ^b	8,31	47,25 ^b	38,94 ^b
	CTL	33,71 ^a	14,81 ^a	8,08	49,92 ^a	41,84 ^a
Erro padrão médio (SEM)		4,06	3,48	0,64	2,20	1,74
<i>Valor de P</i>						
Dieta materna		0,3307	0,0059	0,0307	0,0173	0,0130
Temperatura de incubação		0,0011	0,0001	0,1402	0,0076	0,0009
Dieta materna × Temperatura de incubação		0,7009	0,1883	0,7593	0,5843	0,0836

^{a,b}Médias na mesma coluna com letras diferentes sobrescritas são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Os resultados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM). O embrião e/ou a ave foram considerados como uma unidade experimental ($n = 6$). AT = incubadora alta temperatura 38,5°C; CTL = incubadora controle 37,5°C; SANNIMIX = dieta materna suplementada com o blend Sannimix®; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend.

Com relação aos pesos relativos dos órgãos da progênie com 15 dias de idade (Figura 7), não foi observado efeito de interação entre os tratamentos (dieta materna e temperatura de incubação) sobre nenhuma das variáveis avaliadas ($P > 0,05$). Porém, verifica-se que a progênie de mães que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram maior peso relativo do fígado ($P = 0,0168$) e do intestino delgado + grosso ($P = 0,0220$), e maior comprimento do intestino delgado + grosso ($P = 0,0261$), que a progênie de mães que consumiram a dieta CONTROLE. Não foi observado efeito significativo da dieta materna sobre o peso relativo do coração, baço, da bursa de Fabricius, do pâncreas e do proventrículo + moela ($P > 0,05$).

Também foi observado neste estudo, efeito significativo da temperatura de incubação sobre o peso relativo da bursa de Fabricius ($P = 0,0227$). A progênie oriunda de ovos incubados em AT apresentaram menor peso relativo deste órgão. Nenhum efeito significativo da temperatura de incubação foi observado sobre o peso relativo dos demais órgãos avaliados ($P > 0,05$).

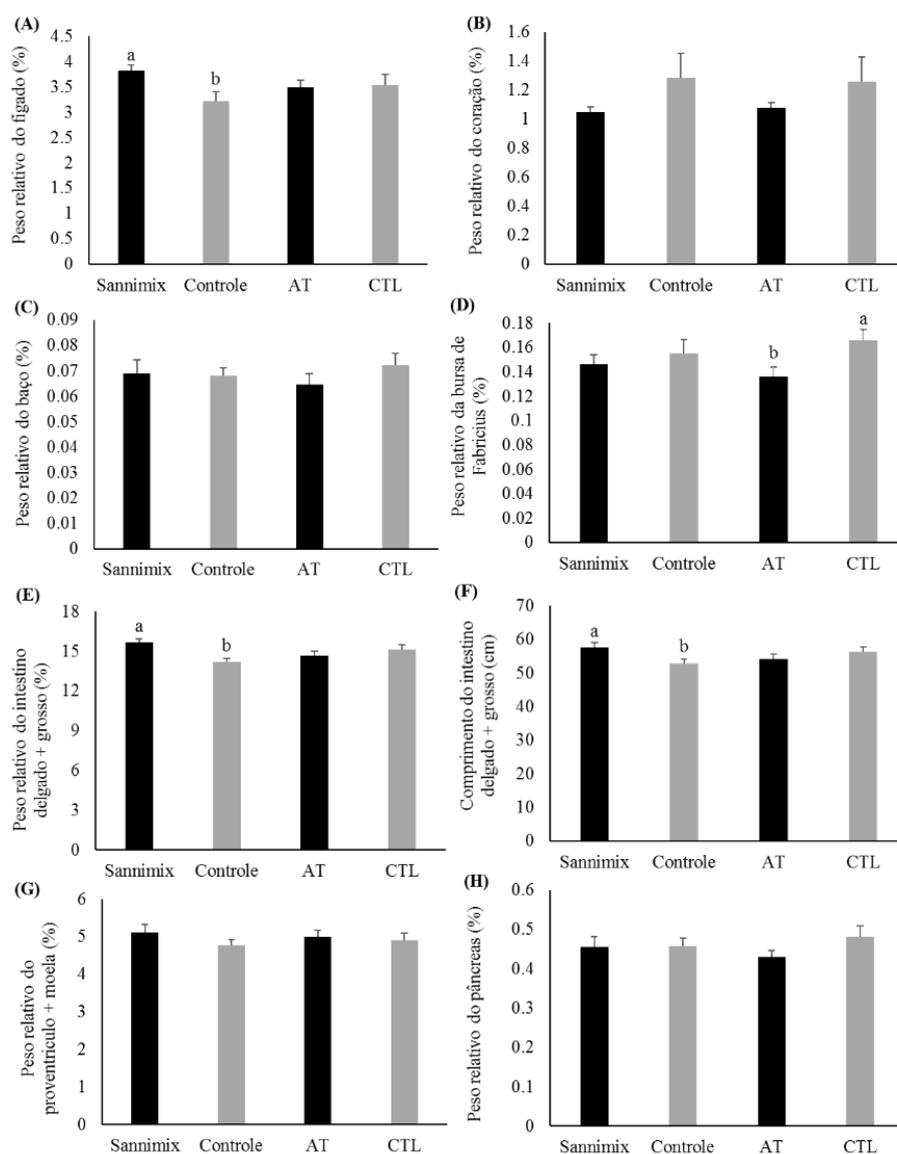


Figura 7. Efeito materno (dieta) e da temperatura de incubação sobre os pesos relativos de órgãos e comprimento do trato intestinal da progênie com 15 dias. Os resultados são apresentados como média e erro padrão. A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 6$ aves/tratamento). ^{a,b}Letras diferentes significam médias diferentes pelo teste de t de Student ($P < 0,05$). SANNIMIX = dieta materna suplementada com o blend Sannimix®; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend. AT = incubadora alta temperatura 38,5°C; CTL = incubadora controle 37,5°C.

Efeito materno (dieta materna) e da temperatura de incubação sobre o estado oxidante-antioxidante da progênie com 15 dias de idade

Não houve efeito significativo de interação entre a dieta materna e a temperatura de incubação sobre nenhum dos parâmetros do estado oxidante-antioxidante avaliados ($P > 0,05$). Na temperatura de incubação CTL (37,5°C) não foi observado diferença significativa entre as médias das variáveis analisadas e, portanto, os efeitos da dieta materna foram analisados somente dentro da temperatura de incubação AT(38,5°C) e são apresentados na Tabela 6.

A dieta materna influenciou o conteúdo de ROS total ($P = 0,0259$), a atividade das enzimas SOD ($P = 0,0429$) e CAT ($P = 0,0418$), a capacidade antioxidante ($P < 0,0001$), bem como o conteúdo de dienos conjugados ($P = 0,0026$), da progênie com 15 dias de idade. A progênie oriunda de ovos incubados em AT e de mães que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram maior conteúdo de ROS total (~16%), atividade das enzimas SOD (~16%) e CAT (~18%), capacidade antioxidante (~8%) e conteúdo de dienos conjugados (~24%), do que a progênie oriunda de mães que consumiram a dieta CONTROLE. Não foi observado efeito da dieta materna sobre o conteúdo de GSH e NPSH, MDA e oxidação proteica ($P > 0,05$).

Tabela 6. Efeitos da dieta materna sobre o estado oxidante-antioxidante da progênie com 15 dias de idade oriunda de ovos incubados em alta temperatura (38,5°C)

	SANNIMIX	CONTROLE	Erro Padrão médio (SEM)	Valor de <i>P</i>
	AT 38,5°C			
ROS total ¹	852,93 ^a	736,60 ^b	41,21	0,0259
SOD ²	2,34 ^a	2,01 ^b	0,24	0,0429
CAT ³	138,71 ^a	117,67 ^b	16,61	0,0418
GSH ⁴	35,64	34,19	2,03	0,2472
NPSH ⁵	1,25	1,23	0,24	0,8810
Capacidade antioxidante ⁶	61,72 ^a	57,39 ^b	1,11	<0,0001
Dienos conjugados ⁷	6,07 ^a	4,89 ^b	0,98	0,0026
MDA ⁸	0,28	0,32	0,10	0,5945
Proteínas carboniladas ⁹	0,99	1,13	0,47	0,6279

^{a,b}Médias na mesma linha com letras diferentes sobrescritas são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Os resultados são apresentados como média e erro padrão médio (SEM). A ave foi considerada como uma unidade experimental ($n = 6$ aves/tratamento). SANNIMIX = dieta materna suplementada com o blend Sannimix®; CONTROLE = dieta materna sem suplementação do blend. ¹ROS total = espécies reativas de oxigênio total, expresso como unidade de fluorescência/mg de proteína. ²SOD = atividade da enzima superóxido dismutase, expressa como U de SOD/mg de proteína. ³CAT = atividade da enzima catalase, expressa como a quantidade de peróxido de hidrogênio consumida/min/mg de proteína. ⁴GSH = glutatona reduzida, expressa como nmol de GSH/mg de proteína. ⁵NPSH = tióis não proteicos, expresso como nmol de NPSH/mg de proteína. ⁶Capacidade antioxidante, expressa como %. ⁷Dienos conjugados, expresso como μ mol de dienos conjugados/g de amostra. ⁸MDA, conteúdo de malondialdeído, expresso como nmol de MDA/mg de proteína. ⁹Proteínas carboniladas, expressa como nmol de grupo carbonil/mg de proteína.

Discussão

Neste estudo, as matrizes com taxa de postura intermediária (PI), apresentaram maior consumo de ração. Diversos fatores podem influenciar o consumo de ração das matrizes em postura, incluindo o ciclo de formação dos ovos (Choi et al., 2004). Assim, nosso resultado sugere que o maior consumo de ração pode estar relacionado ao fato de que as matrizes têm maior exigência nutricional, necessitando de maior aporte de nutrientes (cálcio, vitamina A,

lipídeos, proteínas e outros nutrientes) oriundos da dieta, para a formação completa do ovo e maturação do próximo folículo a ovular dentro da hierarquia folicular (Johnson, 2015; Ma et al., 2020). Esse resultado ainda pode ser explicado pela maior circunferência do folículo pré-ovulatório F1 observada nas matrizes PI. A maior circunferência do folículo pré-ovulatório F1 é devido a absorção de grandes quantidades de gema rica em lipídeos e xantofilas por meio de uma extensa rede vascular e alto fluxo sanguíneo (Johnson, 2015), além do seu rápido crescimento, diferenciação e proliferação celular (Johnson, 2015), que demandam maior exigência nutricional dessas matrizes. Yang et al. (2019) verificaram que gansas com alta taxa de produção de ovos apresentaram folículos pré-ovulatórios F1 maiores, associando esse resultado a maior espessura da camada das células da granulosa.

Nós também verificamos que as matrizes PI produziram progênie com maior peso ao nascimento. Esse resultado pode estar relacionado a maior circunferência do folículo pré-ovulatório F1 dessas matrizes, uma vez que o aumento do diâmetro dos folículos F1 aumenta o peso da gema e do ovo e, conseqüentemente, a composição nutricional da gema, que reflete diretamente na transferência de nutrientes dos ovos para o desenvolvimento adequado do embrião, refletindo em maior peso da progênie ao nascimento (Mohiti-Asli et al., 2012; Barbe et al., 2020). Mohiti-Asli et al. (2012) também verificaram maior diâmetro dos folículos F1 e peso corporal dos pintainhos ao nascimento.

Em poedeiras com alta taxa de produção, o desempenho reprodutivo depende em grande parte do fornecimento de quantidades adequadas de nutrientes pela ração e do desenvolvimento ovariano intrínseco (Ma et al., 2020). De acordo com Ma et al. (2020), menos de 5% dos folículos pré-hierárquicos podem se desenvolver em folículos pré-ovulatórios maduros, sugerindo que o desempenho de postura da ave tem grande probabilidade de ser melhorado por meio de manipulações nutricionais capazes de aperfeiçoar o desenvolvimento ovariano. As matrizes de postura apresentam metabolismo intenso durante todo o processo de formação dos ovos, tornando-as mais sensíveis ao estresse oxidativo e outras circunstâncias adversas, que podem não ser aparentes (Wang et al., 2017). No entanto, para garantir a saúde das aves e conseqüentemente a persistência de produção e qualidade dos ovos, atenção deve ser dada aos alimentos e nutrientes utilizados para manutenção e produção desses animais (Wang et al., 2017). Após a eminente proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento, as pesquisas têm buscado por suplementos alimentares alternativos capazes de garantir a saúde,

bem como potencializar os parâmetros de produção quantitativos e qualitativos dos animais de forma eficiente, segura e econômica (Gerzilov et al., 2015).

Estudos prévios verificaram efeitos da suplementação materna com diferentes tipos de aditivos alimentares naturais sobre as mães, a qualidade de seus ovos e de seus descendentes (Gong et al., 2020; Saleh et al., 2021; Amevor et al., 2022). Dentre os aditivos avaliados, estão os fitogênicos derivados de plantas (exemplo: óleos essenciais de canela, eugenol, timol e orégano, curcumina e tanino) que contém componentes bioativos incluindo os polifenóis, terpenóides, fenólicos, glicosídeos e alcalóides, que possuem efeitos positivos sobre a saúde dos animais (Barbieri et al., 2017; Abdelli et al., 2021). Esses componentes bioativos apresentam importantes funções incluindo a antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, além de melhorar as funções do fígado (Abou-Elkhair et al., 2014; Abdelli et al., 2021). Esses aditivos apresentam, ainda, efeitos estrogênico (ligam-se aos receptores de estrogênio e promovem respostas biológicas semelhantes às produzidas pelo estrogênio endógeno) (Wistedt et al., 2012; Saleh et al., 2021), e estimulante do sistema gastrointestinal (aumento da produção de enzimas digestivas, melhoria na eficiência da utilização de alimentos) (Abdelli et al., 2021).

Os ácidos orgânicos (exemplo: cítrico, fumárico, sórbico e málico) também fazem parte dos aditivos utilizados na nutrição animal, e apresentam diversos efeitos, incluindo a manutenção da morfologia intestinal e do equilíbrio da microbiota intestinal (saúde intestinal), e o aumento da taxa de absorção de peptídeos e minerais (Khan e Iqbal, 2016). Os efeitos da suplementação da dieta de matrizes de postura com microminerais e vitaminas como por exemplo, o zinco e a vitamina E, respectivamente, também têm sido amplamente investigados principalmente quanto aos seus efeitos antioxidantes (Huang et al., 2019; Yu et al., 2020; Amevor et al., 2022), e por apresentarem efeitos sobre a eclodibilidade, fertilidade e qualidade dos ovos (Li et al., 2019; Amevor et al., 2021; Amevor et al., 2022).

Os aditivos e nutrientes (zinco e vitamina E), sozinhos ou em formas combinadas (blend), têm sido empregados na nutrição de aves reproduzindo efeitos satisfatórios sobre o crescimento do animal, sistema gastrointestinal, reprodutor e imune, e sobre a qualidade dos produtos (carnes e ovos) dos animais (Abdelli et al., 2021; Saleh et al., 2021). Sendo, portanto, os principais candidatos a serem utilizados em substituição aos promotores de crescimento, prebióticos e probióticos tradicionais (Abou-Elkhair et al., 2018).

Neste estudo, nós avaliamos o efeito do blend de óleos essenciais, ácidos orgânicos, curcumina, taninos, vitamina E e zinco (Sannimix®) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das matrizes BP, MP, PI e AP. Nós não observamos influência da dieta sobre os pesos inicial e final, consumo de ração e número de ovos das matrizes BP, MP, PI e AP. Consistente com nossos resultados, outros estudos também não encontraram efeitos significativos da adição de aditivos fitogênicos, zinco e vitamina E na dieta de poedeira sobre esses mesmos parâmetros produtivos avaliados (Abou-Elkhair et al., 2018; Yu et al., 2020; Yang et al., 2021). Por outro lado, nós verificamos um efeito interessante da dieta sobre o número de folículos pré-hierárquicos. As matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram maior número de folículos pré-hierárquicos. Isto, sugerindo que provavelmente os componentes do blend Sannimix® têm capacidade de proteger e reduzir sinergicamente a proporção de atresia folicular que pode ser causada por diversos fatores incluindo o estresse oxidativo (Gupta et al., 2006; Amevor et al., 2021). Dessa forma, esse resultado sugere que este blend pode apresentar efeitos benéficos sobre parâmetros reprodutivos das matrizes em postura, uma vez que a eficiência reprodutiva ideal de aves de postura é atingida quando o desenvolvimento folicular prossegue através de uma hierarquia folicular bem distinta e organizada (Johnson 2012), onde grandes folículos pré-ovulatórios são selecionados a partir do conjunto de pequenos folículos em crescimento (Johnson, 2012).

As matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX produziram ovos com maior peso, apresentaram maior taxa de eclosão e progênie com maior peso ao nascimento. Em espécies ovíparas, o embrião se desenvolve independentemente no ovo e todos os nutrientes são depositados no ovo durante a sua formação (Willems et al., 2014). Uma vez que, todos os constituintes nutricionais do ovo necessários para o desenvolvimento do embrião derivam do organismo da ave, é necessário que ocorra adequada utilização e transformação metabólica dos nutrientes, para obtenção de um eficiente desenvolvimento do embrião e pintainhos viáveis na eclosão (Vieira, 2007). Assim, nossos resultados sugerem que o blend Sannimix® adicionado na dieta das matrizes em postura, pode ter contribuído de forma positiva em todas as etapas da formação dos ovos até à eclosão de uma progênie de melhor qualidade. Isso pode ter ocorrido provavelmente devido em partes aos efeitos sinérgicos dos componentes desse blend, incluindo principalmente os efeitos estrogênicos (Saleh et al., 2021), antioxidante (Lee et al., 2019; Nawab et al., 2019; Amevor et al., 2022), hepatoprotetor, oviprotetor (Amevor et

al., 2021), efeitos sobre o metabolismo lipídico no fígado (Bastos et al., 2017), sobre a saúde e função intestinal das matrizes (Wang et al., 2019; Iqbal et al., 2021) e o desenvolvimento do embrião (Huang et al., 2019).

De acordo com Dixon et al. (2016), as primeiras experiências vividas pelos animais nos períodos pré-postura e de incubação (ovo) podem ser importantes na determinação dos fenótipos da prole, e pode influenciar o desempenho pós-eclosão. Sendo que o ambiente materno (exemplo: dieta materna) e de incubação podem ter efeitos independentes e duradouros na progênie (Dixon et al., 2016). Nesse estudo, nós avaliamos os efeitos da dieta materna sobre a qualidade dos ovos por meio da estabilidade oxidativa do albúmen e da gema.

No albúmen dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, nós verificamos menor atividade das enzimas SOD e CAT, maior conteúdo de GSH e menor oxidação proteica, do que no albúmen do ovo das matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. A principal função do albúmen é agir como um tipo de defesa natural para a gema tanto em ovos de mesa, quanto em ovos férteis devido a sua disposição estrutural e composição (Obianwuna et al., 2022a). Além de ser utilizado como a principal fonte de proteínas para a síntese de tecidos dos embriões durante a incubação (Willems et al., 2014). Quando as matrizes estão no pico de postura, ovulação e postura contínua, as mesmas tornam-se mais susceptíveis ao estresse oxidativo, devido à maior produção de espécies oxidativas e menor capacidade em eliminá-las (Zou et al., 2007). Nessa condição, as aves podem sofrer danos no oviduto com consequente redução da síntese de proteínas, impactando de forma negativa a capacidade nutritiva e antioxidante do albúmen (Obianwuna et al., 2022a). Além disso, o desenvolvimento embrionário de espécies aviárias apresenta alta taxa metabólica, existindo a suposição, de que o crescimento pré-eclosão esteja relacionado a alta produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que podem por sua vez, causar peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e DNA, comprometendo o desenvolvimento do embrião (Surai et al., 2016). A fim de evitar danos às biomoléculas, um sistema de defesa composto por antioxidantes enzimáticos (exemplo: SOD, CAT e glutathione peroxidase) e não enzimáticos (exemplo: GSH, vitamina E, zinco e componentes bioativos de aditivo alimentar fitogênico) é então ativado para manter os níveis de ROS/RNS baixos, mas ainda acima de zero (Surai, 2019). Esses antioxidantes agem em associação uns com os outros para

desintoxicar/decompor e eliminar os radicais livres e produtos tóxicos não radicais, garantindo a máxima proteção as biomoléculas contra danos oxidativos (Surai, 2019).

Estudos têm demonstrado que a transferência materna de antioxidantes derivados da dieta para o ovo pode fornecer proteção aos componentes do ovo, ao embrião e ao filhote após a eclosão contra o estresse oxidativo (Surai et al., 2016; Yu et al., 2020; Obianwuna et al., 2022b). Assim, a menor atividade da SOD e CAT, e também a menor oxidação proteica sugerem estabilidade oxidativa do albúmen. Além disso, a maior concentração de GSH pode ser considerada como um indicador de uma maior proteção antioxidante do albúmen (Surai, 2000). A GSH é substrato para a enzima glutathiona peroxidase (Bacou et al., 2021), estando também envolvida na redução da forma oxidada da vitamina C a ácido ascórbico, o qual é necessário para defesa antioxidante e restauração da função da vitamina E (Bacou et al., 2021; Tram et al., 2021). Além disso, a GSH confere proteção às proteínas contra processos oxidativos irreversíveis, por estar envolvida no processo de glutationilação (Musaogullari e Chai., 2020), que é um mecanismo importante para manter o ambiente redox e prevenir a perda de GSH sob condições de estresse oxidativo (Lu, 2013). Esses resultados sugerem efeito positivo da dieta materna suplementada com Sannimix[®] sobre o balanço redox prevenindo que substâncias oxidativas presentes no albúmen possam atacar a gema bem como o disco germinativo.

Na gema (fonte primária de nutrientes) dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, nós verificamos maior atividade da enzima SOD, o que indica que provavelmente neste compartimento do ovo por ser onde se encontra o disco germinativo e onde ocorre os principais processos iniciais da embriogênese, exista uma maior necessidade de proteção, e consequentemente, maior sensibilidade aos níveis de ROS mesmo quando estão em níveis baixos considerados não prejudiciais. Por outro lado, a menor atividade da enzima CAT pode indicar acúmulo de peróxido de hidrogênio gerado durante a ação de dismutação do ânion superóxido iniciado pela enzima SOD. Entretanto, nós verificamos menor oxidação proteica e maior capacidade antioxidante, indicando que os compostos bioativos presentes no blend Sannimix[®] deram continuidade no processo de defesa antioxidante iniciado pela enzima SOD, conseguindo proteger efetivamente a gema de um possível processo de oxidação. A capacidade antioxidante mensura o consumo do radical DPPH por compostos antioxidantes não enzimáticos, geralmente os compostos bioativos fenólicos encontrados nos aditivos

alimentares fitogênicos (Kedare e Singh, 2011). Portanto, nós supomos que nos ovos de matrizes suplementadas com o blend, a ação antioxidante dos seus compostos bioativos se dá de forma sinérgica (ou aditiva) e cooperativa com o sistema antioxidante enzimático representado pela SOD e CAT, e com o componente não enzimático representado pela GSH neste estudo. Esses resultados que mostram melhor estabilidade oxidativa dos ovos das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, e, portanto, indicam melhor qualidade, também podem explicar o maior peso do ovo, a maior taxa de eclosão, bem como o maior peso do pintainho ao nascimento, observado nas matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX.

Nós também verificamos efeito da dieta materna sobre a utilização do saco vitelino residual em embriões no dia E19. Os embriões de matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram menor porcentagem do saco vitelino residual, do que os embriões de matrizes que consumiram a dieta CONTROLE. Segundo Dayan et al. (2020), a avaliação da porcentagem do saco vitelino residual fornece informações do desenvolvimento embrionário e do seu estado nutricional, sendo que a menor porcentagem do saco vitelino residual durante o período de perieclusão indica melhor absorção e utilização de nutrientes pelo embrião, resultando em embriões e pintainhos em crescimento de melhor qualidade, além de afetar positivamente o estado imunológico dos pintainhos recém-eclodidos, isso porque os anticorpos maternos são transferidos das matrizes para sua progênie através da gema e do albúmen (Ozaydin e Celik, 2014). Nós verificamos, ainda, que o efeito materno sobre o peso da progênie ao nascimento persistiu até os 15 dias de idade. Os descendentes das matrizes que consumiram a dieta SANNIMIX, apresentaram maior peso vivo e ganho de peso, maior peso do fígado e trato intestinal, bem como maior comprimento do intestino delgado + grosso. Gong et al. (2020) também verificaram que matrizes de postura suplementadas com β -caroteno, curcumina, alicina e butirato de sódio produziram descendentes com melhor desempenho de crescimento e desenvolvimento intestinal.

O comprimento e peso relativo do intestino geralmente reflete o desenvolvimento (proliferação, hiperplasia e hipertrofia celular) e funcionalidade desse órgão, bem como o estado fisiológico e a função dos animais (Zhong et al., 2019). O intestino é o principal órgão de fornecimento de nutrientes, sendo o local onde ocorre a digestão, absorção e também defesa imunológica do hospedeiro e, portanto, o estado de saúde e desempenho de crescimento das aves são influenciados pela saúde intestinal (Sugiharto, 2016). De acordo

com Alyileili et al. (2020), quanto maior o comprimento do intestino maior será a absorção de nutrientes. Rebel et al. (2006) constataram que a dieta materna influencia de forma persistente no tempo, o desenvolvimento e funcionalidade do intestino da prole, ao verificar 11 genes sendo expressos diferencialmente na progênie tanto aos 3 como aos 14 dias de idade, sendo que esses genes afetam a renovação intestinal, proliferação e desenvolvimento, metabolismo e absorção de nutrientes.

O fígado é um dos principais órgãos responsáveis pelo metabolismo do corpo, além de ser o principal órgão de desintoxicação e defesa imunológica (Zhang et al., 2019). Assim, sugere-se que o tamanho do fígado depende da quantidade de trabalho que ele realiza (Parsaie et al., 2007). Dessa forma, o maior peso do fígado observado na progênie aparentemente saudável, de mães que consumiram a dieta SANNIMIX, pode estar relacionado à maior atividade funcional do órgão, em auxiliar o processo digestivo e de assimilação dos nutrientes absorvidos pela mucosa intestinal. Todos esses resultados em conjunto, sugerem que a adição do blend Sannimix® na ração das mães teve efeito positivo a curto e longo prazo sobre o desenvolvimento do embrião e da progênie. Nós acreditamos que isso possa ser reflexo da transferência materna de componentes bioativos do blend (Obianwuna et al., 2022b) para o ovo, conferindo assim a melhor estabilidade oxidativa do ambiente pré-eclosão do embrião e proteção aos tecidos embrionários contra o ataque de radicais livres, especialmente durante o período final de incubação, no qual os animais são mais vulneráveis ao estresse oxidativo. Além de que, essa proteção do ovo poderia modular os níveis de outros nutrientes essenciais, afetando a aptidão dos pintainhos e seu fenótipo mais tarde na vida (Andrieux et al., 2022a).

Além dos efeitos maternos, nós também observamos que a temperatura de incubação exerceu efeitos independentes sobre a progênie a curto e longo prazo. Estudos têm demonstrado que desvios para baixo ou para cima na temperatura de incubação considerada como ideal (37,8°C), pode influenciar a utilização do saco vitelino residual pelos embriões (Willemsen et al., 2010; Ozaydin e Celik, 2014; Dayan et al., 2020). De acordo com Dayan et al. (2020), a temperatura de incubação tem efeito sobre a expressão de diferentes genes envolvidos em diferentes vias metabólicas no tecido do saco vitelino. Sugere que isso pode afetar a utilização da gema e dos recursos nutricionais do saco vitelino, impactando de forma positiva e/ou negativa a qualidade dos embriões e pintainhos na vida adulta. Nesse estudo, nós verificamos que nos dias embrionários E17 e E19, os embriões oriundos de ovos incubados a

38,5°C apresentaram menor porcentagem do saco vitelino residual do que embriões incubados na temperatura controle (37,5°C), indicando melhor utilização dos nutrientes do ovo pelo embrião e embriões de melhor qualidade. Esse resultado difere de outros estudos que incubaram os ovos em temperaturas de 39,3°C durante todo o período de incubação (Dayan et al., 2020), e/ou a 40,6°C na fase final de incubação (Willemsen et al., 2010). Esses estudos relataram maior porcentagem do saco vitelino residual nos embriões submetidos à alta temperatura de incubação. Dayan et al. (2020) sugeriram que isso possa estar relacionado à alteração na expressão de genes chave do tecido do saco vitelino. Possivelmente, essa diferença entre nossos resultados, possa estar relacionado ao grau de temperatura, a duração da exposição e fase de incubação.

Se por um lado nesse estudo nós verificamos efeito positivo da temperatura de incubação de 38,5°C sobre os embriões, por outro lado, nós podemos verificar o efeito negativo desta temperatura a longo prazo. Uma vez que nossos resultados mostraram que aos 15 dias de idade a progênie oriunda de ovos incubados a 38,5°C tiveram menor peso corporal e ganho de peso quando comparados à progênie oriunda de ovos incubados a 37,5°C. Hulet et al. (2007) também verificaram que frangos incubados a 39,7°C tiveram menor peso corporal aos 21, 35 e 44 dias de idade. Esses autores verificaram que essas aves ficavam sentadas sob as lâmpadas de calor ao invés de comer e beber, e como resultado, essas aves não consumiram ração durante as primeiras horas pós-eclosão, apresentando efeitos tardios sobre o seu desempenho. Bhanja et al. (2009) demonstraram que frangos recém-eclodidos com acesso à ração logo após a eclosão, tiveram maior ganho de peso com 35 dias de idade. Isto sugere que o atraso no acesso da ave recém eclodida à ração reduz a utilização do saco vitelino residual, demonstrando a importância da ingestão de ração pós-eclosão na utilização mais rápida dos nutrientes do saco vitelino residual, e no desenvolvimento ideal de órgãos. Murakami et al. (1992) demonstraram que o consumo do saco vitelino residual pelas aves pós-eclosão é necessário para complementação dos nutrientes absorvidos, garantindo o rápido crescimento das aves pós-eclosão.

Além do menor desempenho da progênie aos 15 dias de idade, nós também verificamos que a temperatura de incubação de 38,5°C reduziu o peso relativo da bursa de Fabricius (órgão linfóide primário responsável pela maturação e diferenciação dos linfócitos B). Oznurlu et al. (2010) também demonstraram retardo no desenvolvimento da bursa de

Fabricius em frango de corte que foram submetidos a temperatura de 38,8°C a partir do décimo dia de incubação. Os autores verificaram, ainda, menor nível de linfócitos ACP-ase positivos e menor desenvolvimento dos folículos linfóides na bursa de Fabricius, associando esses resultados a imunossupressão induzida pela alta temperatura durante a incubação.

Os efeitos da dieta materna (CONTROLE e SANNIMIX) dentro da temperatura de incubação AT (38,5°C) sobre o estado oxidante e antioxidante da progênie aos 15 dias de idade, também foram avaliados neste estudo. A progênie de mães que consumiram a dieta SANNIMIX apresentaram maior conteúdo de ROS total, dienos conjugados, atividade das enzimas SOD e CAT, e capacidade antioxidante, do que a progênie de mães que consumiram a dieta CONTROLE. De acordo com Sies (1985), o estresse oxidativo é o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, devido ao comprometimento das defesas antioxidantes ou a produção excessiva de ROS, resultando em danos reversíveis e/ou irreversíveis as biomoléculas, o que causa comprometimento da imunidade e redução da resistência dos animais a condições adversas culminando em redução no desempenho produtivo e reprodutivo das aves (Surai, 2019). Como em nosso estudo a progênie foi criada de 1 a 15 dias em condições consideradas como ideais (conforto térmico e dieta atendendo a exigência nutricional a vontade), em outras palavras, com ausência de estímulos estressores, e as matrizes suplementadas com o blend não deram indícios de estarem em condição de estresse, nós sugerimos que a condição de estresse oxidativo dessa progênie, tenha ocorrido como efeito da experiência dessas aves durante o período de incubação em alta temperatura (pré-eclosão). A alta temperatura de incubação acelera o metabolismo e a demanda metabólica de oxigênio do embrião, que por sua vez aumenta a geração de ROS (Deeming e Pike, 2013; Sgavioli et al., 2016). Zimmer et al. (2017) sugerem que em aves precoces como codornas o estresse pré-eclosão parece ter um forte efeito sobre o fenótipo adulto. Assim, nossos resultados podem ainda ser associados indiretamente ao menor desempenho e imunossupressão observados na progênie de ovos incubados a 38,5°C. Por outro lado, nossos resultados mostraram que a dieta materna SANNIMIX melhora o status antioxidante da progênie com 15 dias de idade. Já que parece existir um equilíbrio entre a quantidade de ROS total e de antioxidantes nessas aves.

Embora os animais tenham produzido maior quantidade de ROS total, causando o aumento de oxidação lipídica primária (dienes conjugados), nós não verificamos a ocorrência

oxidação lipídica secundária (MDA) e proteica, indicando que a maior capacidade de defesa antioxidante desses animais (efeito materno), foi capaz de conter as ROS interrompendo as reações oxidativas. Isso de certa forma, pode ser também relacionado indiretamente ao melhor desenvolvimento observado na progênie de mães que consumiram a dieta SANNIMIX, sugerindo que mães suplementadas preparam melhor sua progênie para lidar com seu ambiente no futuro.

Em conclusão, nós verificamos que a temperatura de incubação dos ovos de 38,5°C não afetou de forma negativa o desenvolvimento do embrião e sua eclosão, mas prejudicou o desempenho da progênie aos 15 dias de idade, possivelmente entre outros fatores, a imunossupressão e estresse oxidativo. Entretanto, a adição do blend Sannimix® na dieta de matrizes de codornas em postura demonstrou exercer efeitos positivos na matriz, nos ovos (ambiente de desenvolvimento da progênie) e, a curto e longo prazo na progênie produzida a partir de ovos incubados a 38,5°C.

Literatura Citada

- Abdelli, N., D. Solá-Oriol, e J. F. Pérez. 2021. Phytogetic feed additives in poultry: achievements, prospective and challenges. *Animals*. **11**:3471 doi: 10.3390/ani11123471
- Abo Ghanima, M. M., Elsadek, M. F., Taha, A. E., Abd El-Hack, M.E., Alagawany, M., Ahmed, B. M., e El-Sabrou, K. 2020. Efeito do sistema de alojamento e óleos essenciais de alecrim e canela no desempenho de poedeiras, qualidade dos ovos, características hematológicas, química do sangue, imunidade e antioxidante. *Animais* , **10**:2, 245.
- Abou-Elkhair, R., H. A. Ahmed, e S. Selim. 2014. Effects of black pepper (*piper nigrum*), turmeric powder (*curcuma longa*) and coriander seeds (*coriandrum sativum*) and their combinations as feed additives on growth performance, carcass traits, some blood parameters and humoral immune response of broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci*. **27**:847-54. doi: 10.5713/ajas.2013.13644
- Abou-Elkhair, R., S. Selim, e E. Hussein. 2018. Effect of supplementing layer hen diet with phytogetic feed additives on laying performance, egg quality, egg lipid peroxidation and blood biochemical constituents. *Anim Nutr*. **4**:394-400. doi: 10.1016/j.aninu.2018.05.009

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105**:121-126.
- Alagawany, M., M. R. Farag, M. E. Abd El-Hack, e A. Patra. 2017. Heat stress: effects on productive and reproductive performance of quail. *Worlds Poult Sci J.* **73**:747-756. doi: 10.1017/S0043933917000782
- Alyileili, S. R., K. A. El-Tarabily, I. E. H. Belal, W. H. Ibrahim, M. Sulaiman, e A. S. Hussein. 2020. Intestinal development and histomorphometry of broiler chickens fed trichoderma reesei degraded date seed diets. *Front. Vet. Sci.* **7**:349. doi: 10.3389/fvets.2020.00349
- Amevor, F. K. Z. Cui, X. Du, Z. Ning, G. Shu, N. Jin, X. Deng, Y. Tian, Z. Zhang, X. Kang, X. Dan, G. You, Y. Zhang, D. Li, Y. Wang, Q. Zhu, e X. Zhao. 2021. Combination of quercetin and vitamin E supplementation promotes yolk precursor synthesis and follicle development in aging breeder hens via liver–blood–ovary signal axis. *Animals.* **11**:1915. doi: 10.3390/ani11071915
- Amevor, F. K., Z. Cui, X. Du, Z. Ning, X. Deng, D. Xu, Y. Wu, X. Cao, S. Wei, G. Shu, X. Han, Y. Tian, D. Li, Y. Wang, Y. Zhang, X. Du, Q. Zhu, e X. Zhao. 2022. Synergy between dietary quercetin and vitamin e supplementation in aged hen's diet improves hatching traits, embryo quality, and antioxidant capacity of chicks hatched from eggs subjected to prolonged storage. *Front Physiol.* **13**:873551. doi: 10.3389/fphys.2022.873551
- Andrieux, C., A. Petit, A. Collin, M. Houssier, S. Métayer-Coustard, S. Panserat, F. Pitel, e V. Coustham. 2022a. Early phenotype programming in birds by temperature and nutrition: a mini-review. *Front. Anim. Sci.* **2**:755842. doi: 10.3389/fanim.2021.755842
- Andrieux, C., S. Biasutti, J. Barrieu, P. Morganx, M. Morisson, V. Coustham, S. Panserat, e M. Houssier. 2022b. Identification of different critical embryonic periods to modify egg incubation temperature in mule ducks. *Animal.* **16**:100416. doi: 10.1016/j.animal.2021.100416
- Bacou, E., C. Walk, S. Rider, G. Litta, e E. Perez-Calvo. 2021 Dietary oxidative distress: a review of nutritional challenges as models for poultry, swine and fish. *Antioxidants.* **10**:525. doi: 10.3390/antiox10040525
- Barbe, A., N. Mellouk, C. Ramé, J. Grandhaye, C. Staub, E. Venturi, M. Cirot, A. Petit, K. Anger, M. Chahnamian, P. Ganier, O. Callut, E. Cailleau-Audouin, S. Metayer-Coustard,

- A. Riva, P. Froment, J. Dupont. 2020. A grape seed extract maternal dietary supplementation in reproductive hens reduces oxidative stress associated to modulation of plasma and tissue adipokines expression and improves viability of offsprings. *PLoS One*. **15**:e0231131. doi: 10.1371/journal.pone.0231131
- Barbieri, R., E. Coppo, A. Marchese, M. Daglia, E. Sobarzo-Sánchez, S. F. Nabavi, e S. M. Nabavi. 2017. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiol Res*. **196**:44-68. doi: 10.1016/j.micres.2016
- Bastos, M. S., A. P. Del Vesco, T. P. Santana, T. S. Santos, G. M Oliveira Junior, R. P. M. Fernandes, L. T. Barbosa, e E. Gasparino. 2017. The role of cinnamon as a modulator of the expression of genes related to antioxidante activity and lipid metabolism of laying quails. *PLoS ONE*. **12**: e0189619. doi: 10.1371/journal.pone.0189619
- Bhanja, S. K., C. Anjali, Devi, A. K. Panda, e G. S. Sunder. 2009. Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci*. **22**:1174-1179. doi: 10.5713/ajas.2009.80528
- Blatchford, R. A., Archer, G. S., & Mench, J. A. 2012. Contrast in light intensity, rather than day length, influences the behavior and health of broiler chickens. *Poultry Science*, **91**:8, 1768-1774.
- Boveris, A., E. Cadenas, e B. Chance. 1980. Low level chemiluminescence of the lipoxygenase reaction. *Photobiochem Photobiophys*. **1**:175-182.
- Boyne, A. F., e G. L. Ellman. 1972. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. *Anal Biochem*. **46**:639-653. doi: 10.1016/0003-2697(72)90335-1
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. **72**:248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, e C Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*. **28**:25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Buege, J. A., e S. D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. **52**:302-310. doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6

- Choi, J. H., H. Namkung, e I. K. Paik. 2004. Feed Consumption pattern of laying hens in relation to time of oviposition. *Asian-Australas J Anim Sci.* **17**:371-373. doi: 10.5713/ajas.2004.371
- Cui, Z., F. K. Amevor, Q. Feng, X. Kang, W. Song, Q. Zhu, Y. Wang, D. Li, e X. Zhao. 2020. Sexual maturity promotes yolk precursor synthesis and follicle development in hens via liver-blood-ovary signal axis. *Animals (Basel).* **10**:2348. doi: 10.3390/ani10122348
- Dai, D., G-h. Qi, J. Wang, H-j. Zhang, K. Qiu, e S-g. Wu. 2022. Intestinal microbiota of layer hens and its association with egg quality and safety. *Poult Sci.* **101**:102008. doi: 10.1016/j.psj.2022.102008
- Dayan, J., N. Reicher, T. Melkman-Zehavi, e Z. Uni. 2020. Incubation temperature affects yolk utilization through changes in expression of yolk sac tissue functional genes. *Poult Sci.* **99**:6128-6138. doi: 10.1016/j.psj.2020.07.037
- Deeming, D. C., e T. W. Pike. 2013. Embryonic growth and antioxidant provision in avian eggs. *Biol Lett.* **9**:20130757. doi: 10.1098/rsbl.2013.0757
- Dixon, L. M., N. H. C. Sparks, e K. M. D. Rutherford. 2016. Early experiences matter: a review of the effects of prenatal environment on offspring characteristics in poultry. *Poult Sci.* **95**:489–499. doi: 10.3382/ps/pev343
- Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* **82**:70-77. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6
- El-Shater, S. N., H. Rizk, H. A. Abdelrahman, M. A. Awad, E. F. Khalifa, e K. M. Khalil. 2021. Embryonic thermal manipulation of Japanese quail: effects on embryonic development, hatchability, and post-hatch performance. *Trop Anim Health Prod.* **53**:263. doi: 10.1007/s11250-021-02726-y
- Engberg, R. M., Hedemann, M. S., & Jensen, B. B. 2002. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *British poultry science*, **43**:569-579.
- Gerzilov, V., A. Nikolov, P. Petrov, N. Bozakova, G. Penchev, e A. Bochukov. 2015. Effect of a dietary herbal mixture supplement on the growth performance, egg production and health status in chickens. *J Central Eur Agricul.* **16**:10-27. doi: 10.5513/JCEA01/16.2.1580

- Goel, A. 2021. Heat stress management in poultry. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **105**:6:1136-1145.
- Gong, H. Z., M. Wu, W. Y. Lang, M. Yang, J. H. Wang, Y. Q. Wang, Y. Zhang, e X. Zheng. 2020. Effects of laying breeder hens dietary β -carotene, curcumin, allicin, and sodium butyrate supplementation on the growth performance, immunity, and jejunum morphology of their offspring chicks. *Poult Sci.* **99**:151-162. doi: 10.3382/ps/pez584
- Gupta, R. K., P. Kimberly, J. K. Miller, e J. A. Babus. 2006. Flaws, methoxychlor inhibits growth and induces atresia of antral follicles through an oxidative stress pathway, *Toxicol Sci.* **93**:382–389. doi: 10.1093/toxsci/kfl052
- Huang, L., X. Li, W. Wang, L. Yang, e Y. Zhu. 2019. The role of zinc in poultry breeder and hen nutrition: an update. *Biol Trace Elem Res.* **192**:308-318. doi: 10.1007/s12011-019-1659-0
- Hulet, R., G. Gladys, D. Hill, R. Meijerhof, e T. El-Shiekh. 2007. Influence of egg shell embryonic incubation temperature and broiler breeder flock age on posthatch growth performance and carcass characteristics. *Poult Sci.* **86**:408–412.
- Iqbal, H., A. Rahman, S. Khanum, M. Arshad, I. H. Badar, A. R. Asif, Z. Hayat, e M. A. Iqbal. 2021. Effect of essential oil and organic acid on performance, gut health, bacterial count and serological parameters in broiler. *Braz. J. Poult. Sci.* **23**:1-10. doi: 10.1590/1806-9061-2021-1443
- Jambunathan, N. 2010. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. In: Sunkar, R. (eds) Plant Stress Tolerance. *Methods in Molecular Biology.* **639**:291-297. Humana Press. doi: 10.1007/978-1-60761-702-0_18
- Janaszewska, A., e G. Bartosz. 2002. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand J Clin Lab Invest.* **62**:231-236. doi: 10.1080/003655102317475498
- Johnson, A. L. 2015. Ovarian follicle selection and granulosa cell differentiation. *Poult Sci.* **94**:781-785. doi: 10.3382/ps/peu008
- Johnson, P. A. 2012. Follicle selection in the avian ovary. *Reprod Domest Anim.* **47**:283-287. doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02087.x

- Kedare, S. B., e R. O. Singh. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol.* **48**:412-22. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1
- Khan, S. H., e J. Iqbal. 2016. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *J APPLIED ANIM RES.* **44**:359-369. doi: 10.1080/09712119.2015.1079527
- Khatlab, A., A. P. Del Vesco, A. R. Oliveira Neto, R. P. M. Fernandes e E. Gasparino. 2019. Dietary supplementation with free methionine or methionine dipeptide mitigates intestinal oxidative stress induced by *Eimeria* spp. challenge in broiler chickens. *J Animal Sci Biotechnol.* **10**:58. doi: 10.1186/s40104-019-0353-6
- Lee, H. H., D. H. Kim, K. W. Lee, K. E. Kim, D. E. Shin, e B. K Na. 2019. Dietary effects of natural polyphenol antioxidant on laying performance and egg quality of laying hens fed diets with oxidized oil. *Braz. J. Poult. Sci.* **21**:1-8. doi: 10.1590/1806-9061-2018-0791
- Levine, R. L., J. A. Williams, E. R. Stadtman, e E. Shacter. 1994. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymol.* **233**:346-357. doi: 10.1016/s0076-6879(94)33040-9
- Li, L., K. F. M. Abouelezz, Z. Gou, X. Lin, Y. Wang, Q. Fan, Z. Cheng, F. Ding, S. Jiang, e Z. Jiang. 2019. Optimization of dietary zinc requirement for broiler breeder hens of chinese yellow-feathered chicken. *Animals (Basel).* **9**:472. doi: 10.3390/ani9070472
- Lu, S. C. 2013. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta.* **1830**:3143-3153. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.008
- Luan, X., D. Liu, Z. Cao, L. Luo, M. Liu, M. Gao, e X. Zhnag. 2014. Transcriptome profiling identifies differentially expressed genes in huoyan goose ovaries between the laying period and ceased period. *PLoS ONE.* **9**:e113211. doi:10.1371/journal.pone.0113211
- Ma, Y., S. Zhou, X. Lin, W. Zeng, Y. Mi, e C. Zhang. 2020. Effect of dietary N-carbamylglutamate on development of ovarian follicles via enhanced angiogenesis in the chicken. *Poult Sci.* **99**:578-589 doi: 10.3382/ps/pez545
- Marklund, S., e Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* **47**:469-474.
- Mohiti-Asli, M., M. Shivazad, M. Zaghari, M. Rezaian, S. Aminzadeh, e G. G. Mateos. 2012. Effects of feeding regimen, fiber inclusion, and crude protein content of the diet on

- performance and egg quality and hatchability of eggs of broiler breeder hens. *Poult Sci.* **91**:3097–3106 doi: 10.3382/ps.2012-02282
- Murakami, H., Y. Akiba, e M. Horiguchi. 1992. Growth and utilization of nutrients in the newly-hatched chick with or without removal of residual yolk. *Growth Dev. Aging.* **56**:75–84.
- Musaogullari, A., e Y. C. Chai. 2020. Redox regulation by protein s-glutathionylation: from molecular mechanisms to implications in health and disease. *Int J Mol Sci.* 2020. **21**:8113. doi: 10.3390/ijms21218113
- Nawab, A., G. Li, W. Liu, R. Lan, J. Wu, Y. Zhao, K. Kang, B. Kieser, C. Sun, S. Tang, M. Xiao, e L. Na. 2019. Effect of dietary curcumin on the antioxidant status of laying hens under high-temperature conditions. *Braz. J. Poult. Sci.* **21**:1-10. doi: 10.1590/1806-9061-2018-0868
- Obianwuna, U. E., V. U. Oleforuh-Okoleh, J. Wang, H. J. Zhang, G. H. Qi, K. Qiu, e S. G. Wu. 2022a. Natural products of plants and animal origin improve albumen quality of chicken eggs. *Front Nutr.* **9**:875270. doi: 10.3389/fnut.2022.875270
- Obianwuna, U. E., V. U. Oleforuh-Okoleh, J. Wang, H. J. Zhang, G. H. Qi, K. Qiu, e S. G. Wu. 2022b. Potential implications of natural antioxidants of plant origin on oxidative stability of chicken albumen during storage: a review. *Antioxidants (Basel).* **11**:630. doi: 10.3390/antiox11040630
- Ozaydn, T., e I. Celik. 2014. Effects of high incubation temperature on the body weight and yolk consumption of two commercial broiler strain. *Acta Sci Vet.* **42**:1253.
- Oznurlu, Y., I. Celik, T. Telatar, e E. Sur. 2010. Histochemical and histological evaluations of the effects of high incubation temperature on embryonic development of thymus and bursa of Fabricius in broiler chickens, *Brit Poult Sci.* **51**:43-51. doi: 10.1080/00071660903575558
- parameters of layer chicks. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* **18**:41-47. doi: 10.1590/1806-9061-2015-0095
- Parsaie, S., F. Shariatmadari, M. J. Zamiri, e K. Khajeh. 2007. Influence of wheat-based diets supplemented with xylanase, bile acid and antibiotics on performance, digestive tract measurements and gut morphology of broilers compared with a maize-based diet, *Brit Poult Sci.* **48**:594-600. doi: 10.1080/00071660701615788

- Peixoto, M. R. L. V., N. A. Karrow, e T. M. Widowski. 2020. Effects of prenatal stress and genetics on embryonic survival and offspring growth of laying hens. *Poult Sci.* **99**:1618-1627. doi: 10.1016/j.psj.2019.10.018
- Rebel, J. M., S. Van Hemert, A. J. Hoekman, F. R. Balk, N. Stockhofe-Zurwieden, D. Bakker, e M. A. Smits. 2006. Maternal diet influences gene expression in intestine of offspring in chicken (*Gallus gallus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **145**:502-508. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.08.035
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, M. I. Hannas, J. L. Donzele, N. K. Sakomura, F. G. Perazzo, A. Saraiva, M. L. T. Abreu, P. B. Rodrigues, R. F. Oliveira, S. L. T. Barreto, e C. L. Brito. 2017. *Brazilian tables for birds and pigs: composition of foods and nutritional requirements*. 4th rev. ed. UFV:Viçosa, Minas Gerais, BR.
- Saleh, A. A., S. Hamed, A. M. Hassan, K. Amber, W. Awad, M. H. Alzawqari, e M. Shukry. 2021. Productive performance, ovarian follicular development, lipid peroxidation, antioxidative status, and egg quality in laying hens fed diets supplemented with *Salvia officinalis* and *Origanum majorana* powder levels. *Animals (Basel)*. **11**:3513. doi: 10.3390/ani1123513
- Saleh, K. M. M., A. H. Tarkhan e M. B. Al-Zghoul. 2021. Embryonic thermal manipulation affects the antioxidant response to post-hatch thermal exposure in broiler chickens. *Animals (Basel)*. **10**:126. doi: 10.3390/ani10010126
- Sgavioli, S., E. T. Santos, C. H. F. Domingues CHF, T. C. O. Quadros, D. M. C. Castiblanco, G. M. Andrade-Garcia, L. I. Amoroso, I. A. Nääs, R. G. Garcia, e S. M. I.V. Baraldi-Artoni. 2016. Effect of high incubation temperature on the blood Parameters of Layer Chicks. *Br Poult Sci.* **18**:2. doi: 10.1590/1806-9061-2015-0095
- Sies, H. Oxidative stress: Introductory remarks. In *Oxidative Stress*; Sies, H., Ed.; Academic Press: London, UK, 1985; p. 1e8
- Sugiharto, S. 2016. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *J Saudi Soc Agricult Sci.* **15**:99-111. doi: 10.1016/j.jssas.2014.06.001
- Surai, P. F. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick, *Br Poult Sci.* **41**:235-243, doi: 10.1080/713654909

- Surai, P. F., F. Karadas, e N. H. Sparks. 2003. The importance of antioxidants in poultry. *Br Poult Sci.* **44**: 612–619. doi: 10.1080/00071660310001616200
- Surai, P. F., I. I. Kochish, V. I. Fisinin, e M. T. Kidd. 2019. Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: an update. *Antioxidants (Basel)*. **8**:235. doi: 10.3390/antiox8070235
- Surai, P. F., V. I. Fisinin, e F. Karadas. 2016. Antioxidant systems in chick embryo development. Part 1. Vitamin E, carotenoids and selenium. *Anim Nutr.* **2**:1-11. doi: 10.1016/j.aninu.2016.01.001
- Tram, N. K., R. M. McLean, e K. E. Swindle-Reilly. 2021. Glutathione improves the antioxidant activity of vitamin c in human lens and retinal epithelial cells: implications for vitreous substitutes. *Curr Eye Res.* **46**:470-481. doi: 10.1080/02713683.2020.1809002
- Tsiplakou, E., R. Pitino, C. L. Manuelian, M. Simoni, C. Mitsiopoulou, M. De Marchi, e F. Righi. 2021. Plant Feed Additives as natural alternatives to the use of synthetic antioxidant vitamins in livestock animal products yield, quality, and oxidative status: a review. *Antioxidants*. **10**:780. doi: 10.3390/antiox10050780
- Verwoolde, M. B., J. van Baal, C. A. Jansen, E. A. M. Graat, D. M. Lamot, A. Lammers, e L. van Eck. 2021. Transgenerational effects of innate immune activation in broiler breeders on growth performance and immune responsiveness. *Poult Sci.* **100**:101413. doi: 10.1016/j.psj.2021.101413
- Videla, E. A., O. Giayetto, M. E., Fernández, P. A. Chacana, R. H. Marín, e F. N. Nazar. 2020. Immediate and transgenerational effects of thymol supplementation, inactivated Salmonella and chronic heat stress on representative immune variables of Japanese quail. *Sci Rep.* **10**:18152. doi: 10.1038/s41598-020-74547-2
- Vieira, S. L. 2007. Chicken embryo utilization of egg micronutrients. *Braz. J. Poult. Sci.* **9**:1-8. doi: 10.1590/S1516-635X2007000100001
- Wang, H., S. Liang, X. Li, X. Yang, F. Long, e X. Yang. 2019. Effects of encapsulated essential oils and organic acids on laying performance, egg quality, intestinal morphology, barrier function, and microflora count of hens during the early laying period. *Poult Sci.* **98**:6751-6760. doi: 10.3382/ps/pez391

- Wang, J., H. Yue, S. Wu, H. Zhang, e G. Qi. 2017. Nutritional modulation of health, egg quality and environmental pollution of the layers. *Anim Nutr.* **3**:91-96. doi: 10.1016/j.aninu.2017.03.001
- Willems, E., E. Decuypere, J. Buyse, e N. Everaert. 2014. Importance of albumen during embryonic development in avian species, with emphasis on domestic Chicken. *Worlds Poult Sci J.* **70**: 503-518. doi: 10.1017/S0043933914000567
- Willemsen, H., B. Kamers, F. Dahlke, H. Han, Z. Song, Z. A. Pirsaraei, K. Tona, E. Decuypere, e N. Everaert. 2010. High- and low-temperature manipulation during late incubation: Effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. *Poult Sci.* **89**:2678–2690. doi: 10.3382/ps.2010-00853
- Wistedt, A., Y. Ridderstråle, H. Wall, e L. Holm. 2012. Effects of phytoestrogen supplementation in the feed on the shell gland of laying hens at the end of the laying period. *Anim Reprod Sci.* **133**:205-13. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.06.020
- Yang, J., X. M. Ding, S. P. Bai, J. P. Wang, Q. F. Zeng, H. W. Peng, Y. Xuan, Z. W. Su, e K. Y. Zhang. 2021. Effects of dietary vitamin E supplementation on laying performance, hatchability, and antioxidant status in molted broiler breeder hens. *J Appl Poult Res.* **30**:100184. doi: 10.1016/j.japr.2021.100184
- Yang, Y. Z., Y. Yao, Z. F. Cao, T. T. Gu, Q. Xu, e G. H. Chen. 2019. Histological characteristics of follicles and reproductive hormone secretion during ovarian follicle development in laying geese. *Poult Sci.* **98**:6063–6070. doi: 10.3382/ps/pez278
- Yu, Q., H. Liu, K. Yang, X. Tang, S. Chen, K. M. Ajuwon, A. Degen, e R. Fang. 2020. Effect of the level and source of supplementary dietary zinc on egg production, quality, and zinc content and on serum antioxidant parameters and zinc concentration in laying hens. *Poult Sci.* **99**:6233-6238. doi: 10.1016/j.psj.2020.06.029
- Zhang, R. Y., Y. J. Liu, Y. Y. Yin, W. Jin, S. Y. Mao, e J. H. Liu. 2019. Response of rumen microbiota, and metabolic profiles of rumen fluid, liver and serum of goats to high-grain diets. *Animal.* **13**:1855-1864. doi: 10.1017/S1751731118003671
- Zhong, G., Y. Shen, S. Zhang, Q. Wang, Z. Song, e S. Shi. 2019. Effects of newly harvested corn on growth performance, intestine development and metabolism of nutrients in broilers, *Ital J Anim Sci.* **18**:505-512. doi: 10.1080/1828051X.2018.1544470

- Zimmer, C., M. Larriva, N. J. Boogert, e K. A. Spencer. 2017. Transgenerational transmission of a stress-coping phenotype programmed by early-life stress in the Japanese quail. *Sci Rep.* **7**:46125. doi: 10.1038/srep46125
- Zou, X. T., Z. R. Xu, J. L. Zhu, X. J. Fang e J. F. Jiang. 2007. Effects of dietary dihydropyridine supplementation on laying performance and fat metabolism of laying hens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **20**:1606-1611. doi: 10.5713/ajas.2007.1606