UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Roselaine Ponso de Oliveira

Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial em frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol – Características Ultraestruturais

Pirassununga

2008

Roselaine Ponso de Oliveira

Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial em frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol – Características Ultraestruturais

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria

Pirassununga

2008

À Deus

“E disse Deus: Produza a terra alma vivente conforme sua espécie, gado, répteis e feras. E assim foi.

E fez Deus as feras da terra, e todo o gado, réptil da terra.

E viu Deus que era bom.

E disse Deus: Façamos o homem à nossa imagem e semelhança, e domine sobre os peixes do mar, sobre as aves do céu, sobre o gado e sobre toda a terra.

E criou Deus o homem à sua imagem e semelhança e os abençoou.

“E disse Deus: Frutificai e multiplicai-vos e enchei toda a terra, e dominai sobre os peixes do mar, sobre as aves do céu e sobre todo o animal que se move sobre a terra”.

Gênesis – 1:28

Ao meu pai – Cláudio Ponso (in memoriam)

“De tudo ficaram três coisas:

A certeza de que ele estava sempre começando, a certeza de que era preciso continuar, e a certeza de que seria interrompido antes de terminar.

Fazer da interrupção, um caminho novo, fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura, um encontro “.

Fernando Sabino

A você, pai, que sempre esteve ao meu lado, me acolheu e protegeu, afugentou meus receios, e que quando partiu, deixou um vazio impossível de ser preenchido, onde estiver, dedico a você mais esta vitória.

A minha mãe e meus filhos – Myrtes, Tatiane e Thales, meu neto Gabriel, e meus irmãos Rosana, Rogério e Rejane..

A vocês que iluminaram meus caminhos, me proporcionaram a alegria e a paz, que foram fundamentais para vencer esta batalha, foram os alicerces, que firmaram minha estrutura, cujas existências só acrescentaram luz aos meus dias.

A vocês que iluminaram aos caminhos obscuros com afeto e dedicação para que me fosse possível trilha-los sem medo, com esperança, não bastaria um obrigado.

Mas sei que a cada vitória que esta carreira me proporcionar, vocês estarão por trás dela, como estiveram em cada momento de minha vida e acima de tudo a felicidade de ver em vocês, uma extensão de mim mesma, a concretização de meu sonho maior.

Amo vocês.

Ao Prof. Douglas Emygdio de Faria.

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao tamanho original”
Albert Einstein*

A Fapesp – auxílio 04/10811-7 pelo financiamento desse trabalho

*Aos amigos de sempre, Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque
Prof. Dr. César Gonçalves de Lima*

*“Os amigos que tens e cuja amizade já puseste a prova, engancha-os a tua alma com ganchos de aço”
William Shakespeare*

A todos os amigos da pós-graduação: Marcinha, Andréa, Estelinha, Ligia, Aline, Henrique, Thiago, Raquel, Priscilla, Tiaguinho, Bruno, Rodrigo, Karina - MS, Agostinho, Mariana, Paula, Pamela, Celso, Sueli, Juliana, e todos que estão no meu coração.

A vocês que me presentearam com sua amizade, me ensinaram a cultivá-la, não bastaria um obrigado.

Mas é o que acontece quando procuramos sofregamente uma forma verbal para exprimir uma emoção ímpar, que palavras dificilmente traduziriam.

Que sua amizade seja um mérito a vocês, porque para mim, será um eterno agradecimento.

RESUMO

Oliveira, R.P. **Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial em frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol – Características Ultraestruturais.** 2008. 88f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o desempenho e o desenvolvimento da discondroplasia tibial (DT) em frangos de corte de 1 a 21 dias. Foram utilizados 440 pintinhos machos de um dia, provenientes de matrizes com 60 a 62 semanas de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3+2, resultando em 11 tratamentos com quatro repetições de 10 aves cada. Os fatores estudados foram: linhagem da ave (Ross 308, Cobb 500 e Hybro), níveis e fontes de vitamina D (1250UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃; 1250UI D₃/kg com 69mg 25-(OH)D₃/ton e 3000UI D₃/kg com 69mg 25-(OH)D₃/ton) e dois tratamentos controles com níveis de cálcio e fósforo segundo Rostagno et al. (2005) com 3000UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃ e 3000UI D₃/kg com 69mg 25-(OH)D₃/ton de ração. Foram avaliadas características de desempenho e ósseas. No período de 1 a 21 dias, os resultados indicaram que o ganho de peso, conversão alimentar e as concentrações de cálcio e fósforo nas tíbias não foram influenciadas pelos tratamentos e que o consumo de ração foi superior para os tratamentos que compõem o fatorial. A resistência óssea também não foi influenciada pelos tratamentos e a análise histológica não evidenciou lesões características de DT. Conclui-se que, nas condições experimentais da presente pesquisa, o desenvolvimento de DT não foi observado.

Palavras-chave: Discondroplasia tibial, frango de corte, placa de crescimento

ABSTRACT

Oliveira, R.P. **Evaluation of tibial dyschondroplasia development in broiler chickens fed diets containing 25 hydroxicolecalciferol – Ultrastructural Characteristics.** 2008. 88p. Thesis (Doctorate) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

This research was carried out to evaluate the performance and the development of tibial dyschondroplasia (TD) in broilers from 1 to 21 days. Four hundred forty day-old male chickens, from broiler breeders aged 60-62 weeks, were randomly distributed in a 3x3+2 factorial arrangement, resulting in 11 treatments with four replicates of 10 birds each. The factors evaluated were: bird strains (Ross 308, Cobb 500, and Hybro), levels and sources of vitamin D (1250UI D₃/kg without 25-(OH)D₃; 1250UI D₃/kg with 69mg 25-(OH)D₃/ton, and 3000UI D₃/kg with 69mg 25-(OH)D₃/ton), and two control treatments containing calcium and phosphorus levels according to Rostagno et al. (2005) with 3000UI D₃/kg without 25-(OH)D₃ and 3000UI D₃/kg with 69mg 25-(OH)D₃/ton of feed. Performance and bone characteristics were evaluated. From 1 to 21 days, the results showed that weight gain, feed conversion, and bone calcium and phosphorus concentrations were not influenced by the treatments, however, feed intake was higher for factorial than control treatments. Bone breaking resistance was not influenced by the treatments and there were no typical lesions of TD. In conclusion, it was not observed TD development in broilers from 1 to 21 days according to experimental procedures of this research.

Keywords: Tibial dyschondroplasia, broiler chickens, growth plate

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	12
2. INTRODUÇÃO	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 DESENVOLVIMENTO DO TECIDO ÓSSEO	17
3.2 MORFOLOGIA DO OSSO	19
3.3 DEFINIÇÃO DA DISCONDROPLASIA TIBIAL EM FRANGOS DE CORTE	20
3.3.1 ETIOLOGIA DA DISCONDROPLASIA TIBIAL	23
3.3.2 PATOGENIA DA DISCONDROPLASIA TIBIAL	25
3.4 O CÁLCIO NA NUTRIÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	27
3.5 VITAMINA D E SEUS METABÓLITOS NA PREVENÇÃO DA DISCONDROPLASIA TIBIAL	29
3.5.1 VITAMINA D3	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS, INSTALAÇÕES E DELINEAMENTO ESTATÍSTICO	35
4.2 DIETAS EXPERIMENTAIS	38
4.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	42
4.3.1 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	42
4.3.2 ANÁLISES ENVOLVENDO AS TÍBIAS	42
4.3.3 RESISTÊNCIA ÓSSEA A QUEBRA	43
4.3.4 DETERMINAÇÃO DE CINZAS, CÁLCIO E FÓSFORO DAS TÍBIAS	43
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 DESEMPENHO	47
5.2 HISTOLOGIA	64
5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA	66
6. CONCLUSÕES	72
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SEQUÊNCIA DE EVENTOS ENVOLVIDOS NA SÍNTESE DE 1,25-(OH) ₂ D ₃	31
FIGURA 2 -	BATERIAS UTILIZADAS PARA O DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO	36
FIGURA 3 -	TRÊS LINHAS DE BATERIAS METÁLICAS ONDE FORAM ALOJADOS OS PINTINHOS DE UM DIA	36
FIGURA 4 -	AVES ALOJADAS NO INTERIOR DE BATERIAS METÁLICAS	37
FIGURA 5 -	SISTEMA DE BEBEDOUROS INFANTIS	37
FIGURA 6 -	VACINAÇÃO AOS 7 DIAS DE IDADE	37
FIGURA 7 -	T4R1 – 7 DIAS - FOTOMICROGRAFIA MOSTRANDO CORTE TRANSVERSAL DE TÍBIA, DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA EOSINA ONDE SE PODE OBSERVAR OSTEOCITOS E A PRESENÇA DE CÉLULAS CARTILAGINOSAS (CONDROCITOS) E NEOFORMAÇÃO ÓSSEA. AUMENTO 10X	67
FIGURA 8 -	T7R4 – 7 DIAS . FOTOMICROGRAFIA MOSTRANDO CORTE TRANSVERSAL DE TÍBIA DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA E EOSINA. OBSERVA-SE O PERIÓSTEO REVESTINDO O OSSO, A MATRIZ ÓSSEA, OS OSTEOCITOS DISPOSTOS DE FORMA CONCÊNTRICA EM TORNO DO CANAL DE HAVERS E CONSTITUINDO O SISTEMA DE HAVERS. PARTE DE CAVIDADE ÓSSEA, CONTENDO MEDULA ÓSSEA NO SEU INTERIOR. AUMENTO 10X	67
FIGURA 9 -	T4R1 – 14 DIAS . FOTOMICROGRAFIA DE CORTE TRANSVERSAL DA TÍBIA DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DA HEMATOXILINA E EOSINA. OBSERVA-SE OS OSTEOCITOS DISPOSTOS DE FORMA CONCÊNTRICA EM TORNO DO CANAL DE HAVERS, AO LADO DE VASOS SANGUÍNEOS. AUMENTO DE 10X	68
FIGURA 10 -	T2R2 – 14 DIAS . FOTOMICROGRAFIA DE CORTE TRANSVERSAL DA TÍBIA DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DA HEMATOXILINA E EOSINA. OBSERVA-SE A FORMAÇÃO DA CARTILAGEM DA FISE, COM PENETRAÇÃO VASCULAR, NÃO CARACTERIZANDO A PRESENÇA DE DISCONDROPLASIA TIBIAL. AUMENTO DE 10X	68
FIGURA 11 –	T5R4 – 14 DIAS. FOTOMICROGRAFIA DE CORTE TRANSVERSAL DA TÍBIA DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DA HEMATOXILINA E EOSINA. OBSERVA-SE A ZONA DE TRANSIÇÃO E INÍCIO DE FORMAÇÃO DO TECIDO OSTEOÍDE E DE MINERALIZAÇÃO. AUMENTO DE 10X	69
FIGURA 12 –	T4R11 – 14 DIAS – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE TRANSVERSAL DA TÍBIA	69

DESCALCIFICADO E CORADO PELA TÉCNICA DA HEMATOXILINA E EOSINA.
OBSERVA-SE VASO SANGUÍNEO E CANAL DE HAVERS. AUMENTO DE 10X.

FIGURA 13	ELETROMICROGRAFIA DE VARREDURA, DE OSSO DE FRANGO AOS 21 DIAS – TECIDO CARTILAGINOSO	70
FIGURA 14	ELETROMICROGRAFIA DE VARREDURA, DE OSSO DE FRANGO AOS 21 DIAS – VASO SANGUÍNEO	70
FIGURA 15	ELETROMICROGRAFIA DE VARREDURA, DE OSSO DE FRANGO AOS 21 DIAS – OSSO COMPACTO	71
FIGURA 16	ELETROMICROGRAFIA DE VARREDURA, DE OSSO DE FRANGO AOS 21 DIAS – TECIDO CONJUNTIVO	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	TEMPERATURAS MÉDIAS AMBIENTE REGISTRADAS NO PERÍODO DE 1 A 21 DIAS DE IDADE DOS FRANGOS DE CORTE ENTRE OS MESES SETEMBRO E OUTUBRO DE 2006.	38
TABELA 2 -	DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	39
TABELA 3 -	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS FASE PRÉ-INICIAL (1 A 7 DIAS)	40
TABELA 4 -	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS. FASE INICIAL (8 – 21 DIAS)	41
TABELA 5 -	CONTRASTES UTILIZADOS NA COMPARAÇÃO DOS DADOS DAS DIVERSAS CARACTERÍSTICAS	45
TABELA 6 -	VALORES MÉDIOS DAS CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE DE DIFERENTES LINHAGENS SUBMETIDOS A DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE VITAMINA D NA FASE PRÉ-INICIAL E INICIAL DE CRESCIMENTO	47
TABELA 7 -	RESULTADOS DOS CONTRASTES ENTRE AS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS DO FATORIAL (T1 A T9) E OS TRATAMENTOS CONTROLE SEM E COM Hy.D (T10 e T11) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE DE DIFERENTES LINHAGENS SUBMETIDOS A DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE VITAMINA D NA FASE PRÉ INICIAL E INICIAL DE CRESCIMENTO	48
TABELA 8 -	VALORES MÉDIOS, ERROS PADRÕES (E.P) DAS CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE DE DIFERENTES LINHAGENS ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE VITAMINA D NO PERÍODO DE 1 A 7 DIAS.	50
TABELA 9 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE DESEMPENHO NO PERÍODO DE 1 A 7 DIAS E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO	50
TABELA 10 -	VALORES MÉDIOS, ERROS PADRÕES (E.P.) DAS CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE DE DIFERENTES LINHAGENS ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE VITAMINA D NO PERÍODO DE 1 A 14 DIAS, POR TRATAMENTO	52
TABELA 11 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE DESEMPENHO 1 A 14 DIAS E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO	52
TABELA 12 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE DESEMPENHO 1 A 21 DIAS E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO	53

TABELA 13 -	VALORES MÉDIOS E ERROS PADRÕES (E.P) DAS CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO POR MG/KG NA MATÉRIA ORIGINAL (TÍBIA) DE FRANGOS DE 1 A 21 DIAS	54
TABELA 14 -	VALORES MÉDIOS E ERROS PADRÕES (E.P) DAS CONCENTRAÇÕES DE FÓSFORO POR MG/KG NA MATÉRIA ORIGINAL (TÍBIA) DE FRANGOS DE 1 A 21 DIAS	56
TABELA 15 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE CÁLCIO E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO..	56
TABELA 16 -	CONTRASTES E EFEITO DAS LINHAGENS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO NA TÍBIA DE FRANGOS AOS 14 DIAS.	57
TABELA 17 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE FÓSFORO E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO	57
TABELA 18 -	CONTRASTES E EFEITO DA FONTE DE VITAMINA NAS CONCENTRAÇÕES DE FÓSFORO EM CADA LINHAGEM AOS 7 DIAS	58
TABELA 19 -	CONTRASTES E EFEITO DE CADA LINHAGEM SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE FÓSFORO NA TÍBIA DE FRANGOS AOS 14 DIAS	58
TABELA 20 -	VALORES MÉDIOS E ERROS PADRÕES (E.P.) DA RESISTÊNCIA ÓSSEA, POR TRATAMENTO.	59
TABELA 21 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE RESISTÊNCIA E P-VALORES ASSOCIADOS ÀS DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO	62
TABELA 22 -	QUADRO DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS DADOS DE RESISTÊNCIA ÓSSEA COM P-VALORES ASSOCIADOS A DIVERSAS CAUSAS DE VARIAÇÃO.	62

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O presente estudo “Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial (DT) em frangos de corte submetidos a dietas com 25 hidroxicolecalciferol – Características Ultraestruturais”, processo Fapesp 04/10811-7, apresentada como Tese de Doutorado à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia, área de concentração, Qualidade e Produtividade Animal

2. INTRODUÇÃO

Na avicultura industrial existe uma constante preocupação no tocante à genética, nutrição e manejo, bem como suas interações, levando a constantes pesquisas e resultados que são de grande valia na solução de problemas relacionados a essa atividade. De certa forma, pode-se dizer que o melhoramento genético animal é o principal aspecto deste trinômio, direcionando a seleção das aves para melhores índices de produtividade.

A avicultura brasileira é uma das atividades que mais se desenvolveu dentro do setor agropecuário, pois apresenta alta eficiência e volume de produção graças aos constantes avanços tecnológicos obtidos, aliados a utilização da seleção genética, direcionando para a melhoria de demais índices zootécnicos de interesse. Em julho de 2008 a produção brasileira de carne de frango atingiu a marca de 897.014 toneladas de carne de frango, volume cerca de 2,8% superior ao registrado no mesmo mês do ano passado, de 872.616 toneladas, recorde superado apenas em dezembro de 2005, quando a produção brasileira de carne de frango se aproximou das 884 mil toneladas.

Com relação ao primeiro semestre de 2008, a produção brasileira de carne de frango chega perto de 6.218 milhões de toneladas, sendo 6,44% superior aquela registrada e idêntico período de 2007.

A exportação mundial de carne de frango no primeiro semestre de 2008 atingiu a marca das 339.360 toneladas, volume 19,5 % superior as 284 mil tonelada de julho de 2007 (AVISITE, 2008).

Com relação ao primeiro semestre de 2008, as exportações brasileiras de carne de frango alcançaram os índices de 2,182 milhões de toneladas, volume 19,36% superior ao que foi exportado entre janeiro e julho de 2007 (*ABEF, 2008*).

Contudo vários fatores contribuíram para o alcance desse nível de desenvolvimento, sendo que os mais conhecidos e estudados são a nutrição, sanidade, manejo e melhoramento genético. Isso foi possível graças ao investimento e a obtenção de uma ave que atinge um alto peso corporal em um menor espaço de tempo. Esses fatores favoreceram a obtenção de um frango de corte com potencial genético de crescimento excelente quando comparado ao das demais espécies. Aliados a isso, para obtenção da expressão gênica deste potencial, devem ser fornecidas condições nutricionais, ambientais e de manejo adequadas, já que rações com níveis nutricionais inadequados e manejo incorreto, subestimariam a capacidade produtiva destas aves.

No entanto, o desenvolvimento do tecido ósseo não tem acompanhado estes processos fisiológicos, aumentando a incidência de problemas locomotores e fragilidade óssea. Estes problemas são preocupantes para a indústria avícola devido ao significativo índice de descarte no abatedouro ocasionado por carcaças mal desenvolvidas, e por perdas relativas ao desempenho das aves. O processo de seleção produzido nas modernas linhagens de frango de corte tem incrementado as demandas sobre integridade do esqueleto. Os transtornos ósseos são ocasionados pela alteração do processo de crescimento normal e da homeostase, com manifestações na indústria avícola moderna. Não obstante a relevância das deformidades do sistema locomotor, a etiologia ainda é pouco conhecida, sendo redundante afirmar que as perdas econômicas devem-se à desuniformidade do lote, ficando as aves com o crescimento afetado por disputa do alimento, induzindo à mortalidade, e condenação de carcaça por hemorragias musculares causadas por fraturas.

A compreensão dos inúmeros fatores nutricionais envolvidos no desenvolvimento ósseo, como deficiências de proteínas e aminoácidos, vitaminas e minerais, são de suma importância na ocorrência de desordens esqueléticas.

Em um levantamento feito na avicultura de frango de corte nos Estados Unidos em 1993, verificou-se que problemas de pernas foram responsáveis por 1,1% de mortalidade e 2,1% de condenação de carcaça no abate causando perda de bilhões de dólares anualmente.

Dentre os problemas de pernas ocasionados por deficiências nutricionais, infecciosas, bacterianas fúngicas e angulares uma das mais importantes ocorrências foi a discondroplasia tibial. A incidência da DT aumentou acentuadamente, paralelamente ao melhoramento genético associado à nutrição e manejo das linhagens modernas relacionadas ao ritmo de crescimento com maximização da massa muscular em curto tempo. Fatores nutricionais, de manejo e exposição à micotoxinas estão envolvidos, mas a etiologia específica e patogênese não são totalmente esclarecidas.

A despeito da relevância da doença, o pouco conhecimento da prevalência da DT no Brasil dificulta contemplar-se a elaboração de estratégias de controle, tais como a adoção de práticas específicas de manejo e a nutrição de matrizes para um efetivo controle da doença em frangos de corte. O diagnóstico requer um estudo macro e microscópico, dietético, de desenvolvimento e de manejo.

Freqüentemente a patologia mostra lesões numa fase inicial do crescimento da ave sendo, portanto, a deficiência na expressão de crescimento essencial no desenvolvimento da DT.

Histologicamente a discondroplasia mostra um acúmulo da cartilagem avascular, condrócitos não maduros e um maior número de matriz orgânica em relação à cartilagem hipertrófica. É caracterizada pela formação de uma massa de cartilagem avascular, pouco mineralizada, de tamanho irregular, sendo uma persistência da cartilagem pré-hipertrófica na placa epifisária, invadindo a metáfise proximal dos ossos longos, principalmente a tíbia. Estudos recentes têm apontado que o meio nutricional mais eficaz para se combater a DT envolve a suplementação dietética com metabólitos da vitamina D. Portanto é de suma importância a realização de estudos relacionados ao crescimento ósseo, visando um melhor entendimento no desenvolvimento deste.

Diante do exposto, propõe-se avaliar se as mudanças ultraestruturais na placa de crescimento de frango de corte com predisposição para DT podem ser identificadas antes dos 21 dias, possibilitando o controle precoce desta patologia que vem ocasionando perdas significativas na avicultura de frango de corte.

Este trabalho visou avaliar o desempenho e o desenvolvimento da DT em frangos de corte de diferentes linhagens, alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de vitamina D, até os 21 dias de idade.

3. REVISÃO DE LITERATURA

As enfermidades do sistema locomotor das aves de corte, são denominadas de fraqueza das pernas, resultando em taxas de mortalidade entre 2 e 8%, com maior incidência em aves mais velhas (7 a 8 semanas), machos, causando sérios problemas de produção na criação comercial de aves geneticamente selecionadas para níveis elevados de desenvolvimento corporal e eficiente conversão alimentar, sendo responsável por perdas econômicas significativas na avicultura de corte mundial (*Mendonça Jr., 1990, 2000*).

As desordens metabólicas associadas com a rápida taxa de crescimento do tecido muscular são um dos problemas mais prevalentes na criação de frangos de corte, levando a uma alta taxa de morbidade, invariavelmente à fraqueza nos ossos, e conseqüentes fraturas durante a apanha e transporte, e à mortalidade, sendo chamadas doenças de produção. Neste quadro incluem-se a síndrome ascítica, a síndrome de morte súbita, e as enfermidades do sistema locomotor (*Julian, 2004; Mendonça Jr. 1990, 2000; Macari et al., 1994; Leeson e Summers, 1995; Gonzáles, 2000; Julian, 2005*).

Estudos realizados no Reino Unido revelam descarte de 3,3% de aves por problemas locomotores evidentes, e 27,6% com dificuldade de locomoção, relacionados diretamente com a taxa de crescimento (*Knowles et al., 2008*).

De acordo com um levantamento realizado por *Pfeifer et al. (2002)* no Reino Unido, relataram que para cada 1% de aves com problemas locomotores evidentes, existe mais cerca de 2 a 3% de aves com problemas locomotores subclínicos. O grau de dificuldade que as aves apresentem ao caminhar pode ser mensurados pelo Gait Score, (avaliação desenvolvida pela Universidade de Bristol, UK), utilizada para estudar a forma como as aves caminham, analisando não só a qualidade de vida, e o bem estar dessas aves, como a dificuldade de locomoção, a limitação ao acesso de água e alimento, quantificando o impacto econômico que essas perdas podem causar (*Nääs, 2008*).

Elas também são consideradas problemas de produção e podem ser uma das mais caras doenças em termos de processamento pela condenação de carcaças e custos no tratamento preventivo. Os problemas de mortalidade e perdas por condenações no abatedouro, ocasionadas por distúrbios metabólicos relacionados com os altos níveis de produção obtidos, aumentaram com o melhoramento genético, a nutrição, o manejo e a sanidade na criação de frangos de corte (*Macari, 1990*).

É cada vez mais freqüente a preocupação das empresas que exploram a avicultura em adquirir aves que tenham maior potencial de aproveitamento da carcaça, sendo essa uma tendência mundial de um maior consumo de carne de frango em partes, e por essa razão as integrações avícolas e frigoríficos trabalhem com linhagem que apresentem maior rendimento de carcaça.

Flemming (1999) ao analisar ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, peso de carcaça, viabilidade do lote e índice de eficiência entre as linhagens Ross, Cobb, Hubbard, Arbor Acres e Isa Vedete, verificou que a linhagem Ross mostrou-se superior as demais com resultados significativamente melhores ($P < 0,10$), sendo seguida por Cobb, e as demais linhagens praticamente não apresentaram diferenças entre si.

O mesmo autor verificou que comparando-se as linhagens Ross e Cobb, com mais duas linhagens menos exploradas, a linhagem Ross apesar de ter praticamente o mesmo peso de coxa que as demais linhagens, apresenta uma quantidade de carne superior, isso devendo-se possivelmente ao peso dos ossos das demais linhagens ser superior àquele da linhagem Ross, com um osso de coxa mais leve.

A fraqueza das pernas dos frangos de corte foi identificada por alterações na placa de crescimento (raquitismo, discondroplasia, condrodistrofia ou perose, e necrose da cabeça do fêmur) – sendo recomendada denominação degeneração da cartilagem epifisária do fêmur (*Mendonça Jr., 2000; Gonzáles et al., 2006*). Dentre todas as patogenias descritas, a discondroplasia e a degeneração femural são as mais prevalentes, atingindo 50 a 80% dos problemas de pernas dos lotes industriais de frangos de corte comerciais (*Bains et al., 1998; Murakami, 2000*).

3.1 DESENVOLVIMENTO DO TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é constituído de 70% de minerais, 22% de proteínas e 8% de água (Pizauro Jr., 2002).

A matriz orgânica é constituída de 95% de colágeno tipo I e 5% de proteoglicanas além de vários tipos de proteínas não colagenosas (Sandy et al., 1996).

O tecido ósseo possui várias funções. São elas: reserva metabólica (lipídios e minerais) e órgãos hematopoiéticos, proteção de órgãos internos e principalmente, locomoção e sustentação do corpo (Fernandes, 2005).

Um dos íons mais importante do sistema ósseo é o cálcio, que constitui 99% do total deste tecido. O cálcio atua na adesão celular, na coagulação sanguínea, na transmissão de impulsos nervosos, e na regulação da contração muscular, encontrando-se sempre entre o plasma e os ossos.

Contudo, se a ingestão desse elemento for insuficiente ou excessiva ele é rapidamente depositado nos ossos ou mobilizado aumentando sua concentração no sangue (Simões, 2005).

Os elementos fundamentais dos ossos são os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Eles são responsáveis pela síntese da matriz óssea e mineralização, e fundamentais para os fatores químicos, geométricos e resistência óssea (Rath et al, 2000).

Os osteoblastos são as células do tecido esquelético responsáveis pela formação do osso, sintetizando e regulando a matriz orgânica do tecido ósseo. Por serem células secretoras possuem aparelho de Golgi e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido. Os osteoblastos secretam matriz orgânica ao seu redor e dos prolongamentos, que originarão túneis, conhecidos como canalículos. Estes serão os responsáveis pela comunicação entre os osteoblastos e a superfície do osso, permitindo a passagem de fluídos dos vasos capilares para o tecido ósseo, a troca de nutrientes entre as células da matriz, do osso e fluído extracelular (Sandy et al., 1996; Gay et al., 2000).

O osteoblasto sintetiza a matriz óssea, que é uma substância rica em colágeno tipo I, essencial para a mineralização óssea por aderirem cristais de hidroxiapatita de cálcio, magnésio, potássio, sódio, carbonato e fibrilas de colágeno, individualmente (Fernandes, 2005).

O osteócito é um osteoblasto maduro, localizado internamente à matriz óssea. É responsável pela sua manutenção, devido à sua capacidade de síntese e absorção da mesma, ocupando uma lacuna dentro da matriz, de onde partem os canalículos que se comunicam com as células adjacentes (*Sandy et al., 1996*).

Os osteócitos são formados pela fusão de precursores da superfície óssea que circulam no sangue, como células mononucleares, conhecidos como pré-osteoclastos (*Mundy, 1999*). Sua função é realizar a desmineralização óssea e a fazer a digestão da matriz do osso, apresentam também receptores estrogênio, cujo efeito primário é inibição do recrutamento de osteoclastos (*Fernandes, 2005*).

Na fase de crescimento ósseo, os osteoclastos são fundamentais para absorção da cartilagem calcificada e modelação óssea. Na fase adulta eles são responsáveis pela remodelação e a manutenção das exigências de cálcio na homeostase (*Gay et al., 2000*). Os ossos passam por várias alterações morfológicas até atingirem sua maturação final ao utilizarem cálcio e outros minerais, ao mesmo tempo em que sofrem e remodelam conforme o estado, através da degradação e remodelação da matéria antiga pelos osteoclastos e produção de novo osso pelos osteoblastos (*Simões, 2005*).

3.2 MORFOLOGIA DO OSSO

O processo de ossificação endocondral é responsável pelo crescimento longitudinal da maioria dos ossos. Fisiologicamente a calcificação ocorre no disco epifisário por ação dos condrócitos, que se encontram em diferentes estágios de diferenciação, dependendo de sua localização no disco de crescimento (*Gerber e Ferrara, 2000*).

O disco de crescimento se compõe de cartilagem, localizado entre a epífise e metáfise, sendo dividido em zona de reserva, zona de proliferação, zona de maturação, e zona de calcificação. Na zona de reserva se localizam os condrócitos dispersos e inativos, na zona de proliferação ocorrem divisões celulares e nascimento de células filhas, na zona de maturação ocorre o amadurecimento de condrócitos e finalmente na zona de calcificação ocorrem degeneração, consecutivamente (*Pizauro Jr. et al., 2002*).

Os condrócitos localizados em várias zonas diferem em sua morfologia, e na secreção de componentes matriz extracelular, participando da atividade de várias enzimas, e da expressão de receptores de hormônios.

A síntese de colágeno tipo II é uma característica de condrócitos na zona de proliferação (*Knopov et al., 1997*). O receptor do hormônio paratireóide responsável pela regulação da concentração de cálcio extracelular é expresso na zona de maturação (*Ben-Bassat et al., 1999*).

Durante o processo de ossificação endocondral, os condrócitos passam dos estágios de diferenciação e morte celular, tendo sido proposto que os eventos morfológicos no disco epifisário representam um modelo de apoptose, num processo concatenado de características morfológicas e bioquímicas ocorridos na cartilagem em crescimento, contrastando com necrose, na qual os eventos bioquímicos e morfológicos ocorrem após determinado dano celular (*Kerr et al., 1972*).

A etapa final do processo de ossificação endocondral é, portanto, a diferenciação dos condrócitos. Eles atingem vários estágios de proliferação, passando da fase de pré hipertrofia, para hipertrofia, e finalizam no estágio de morte celular. Esta é a fase final de diferenciação dos condrócitos no disco de crescimento e possui papel relevante no processo de ossificação endocondral (*Pines et al., 1998; Gerber e Ferrara, 2000; Farquarson e Jefreys, 2000; Praul et al., 2000*).

3.3 DEFINIÇÃO DA DISCONDROPLASIA TIBIAL EM FRANGOS DE CORTE

As deformidades esqueléticas podem ter causas multifatoriais, mas as deficiências nutricionais podem resultar em doenças ósseas em todas as aves de rápido crescimento, já que exigências de nutrientes específicos e alguns defeitos no esqueleto são raros ou ausentes em aves de crescimento lento (*Julian, 1984; Havesteen et al., 1994*).

Ainda que a DT mereça atualmente a atenção de vários pesquisadores, todos os eventos químicos e biológicos envolvidos nesse processo não foram totalmente elucidados, havendo necessidade de compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de diferenciação dos condrócitos, que podem ser influenciados pelo estímulo mecânico, pelo genótipo e por alterações nos constituintes da dieta (*Edwards, 2000; Praul et al., 2000*).

Esse distúrbio aparece freqüentemente entre a 3^o e 8^o semanas de vida do frango, sendo os mais susceptíveis os machos, de linhagens pesadas apresentam o problema, evidenciando que o melhoramento genético é de suma importância na consideração dessa patologia (*Leach Jr. e Liburn 1992; Leeson et al., 1995*).

A DT é uma anormalidade metabólica de frangos de corte em crescimento que é atribuída à formação de uma massa anormal de cartilagem não vascularizada, pobremente mineralizada na metáfise da extremidade proximal da tíbia. Essa cartilagem anormal é uma persistência da cartilagem pré-hipertrófica que não foi invadida pelos vasos da metáfise, e que não sofreu calcificação. A DT em frangos pode também ser atribuída a uma assincronia no processo envolvido na diferenciação dos condrócitos, ocasionando uma camada de condrócitos pré-hipertróficos e de uma cartilagem na tíbia proximal não calcificada e resistente à invasão vascular, que se estende distalmente na placa de crescimento da metáfise proximal da tíbia e ocasionalmente, na metáfise distal e proximal do tarsometatarso e proximal do fêmur e úmero (*Pizauro Jr. et al., 2002; Almeida et al., 2004; Mendonça Jr.2000, Gonzales, 2006*).

Essa massa de cartilagem avascular pode ser ocasionada por um excesso de condrócitos hipertróficos que não passaram pelos estágios maturação e diferenciação (*Berry et al., 1996*).

Pines et al. (1998) relataram que referente à DT as lesões possuem elevados níveis de condrócitos na fase de pré-hipertrofia e ausência de células hipertrofiadas,

sugerindo que a etapa final do processo de calcificação não aconteceu devido a não expressão ou baixa expressão dos genes responsáveis pela hipertrofia dos condrócitos.

A invasão vascular da cartilagem está associada à apoptose, ou morte celular programada, e conseqüentemente a inibição das fases finais do processo de calcificação biológica. Se os condrócitos continuam a se proliferar normalmente, ocorre um acúmulo de condrócitos pré-hipertróficos com conseqüente aumento da lesão, dificultando o entrada de nutrientes, e de oxigênio aos condrócitos, resultando em morte celular por apoptose.

Esse evento é reconhecido como fenômeno importante ocorrido na maioria dos tecidos de crescimento ordenado, e um atraso nesse fenômeno resultaria em acúmulo de células hipertrofiadas no disco de crescimento.

Portanto, os processos envolvidos na maturação e apoptose dos condrócitos podem estar associados aos mecanismos envolvidos na lesão (*Gerber e Ferrara, 2000; Farquarson e Jeffreis, 2000; Clarke e Clarke, 1996; Rath et al., 1998; Velleman, 2000; Reddi, 2000*).

Injúrias causam alterações na matriz óssea e no osso resultando em mudanças na atividade de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Isso altera também a atividade celular podendo resultar em atrofia, degeneração e morte celular. A necrose é secundária ao processo inflamatório, que causa compressão dos vasos por exsudato, impedindo uma perfeita vascularização (*Almeida et al., 2004*).

O crescimento longitudinal do osso ocorre por meio do equilíbrio preciso entre a proliferação de condrócitos, a produção da matriz óssea, a calcificação biológica, a hipertrofia e a invasão, sendo a diferenciação dos condrócitos a etapa crucial do processo de ossificação endocondral (*Farquharson e Jeffreis, 2000*).

Este processo é o responsável pelo crescimento longitudinal dos ossos longos. Em circunstâncias normais a calcificação ocorre no disco epifisário pelos condrócitos, que se encontram em diferentes estágios de diferenciação, dependendo de sua localização no disco de crescimento (*Gerber e Ferrara, 2000*).

Muitas causas são apontadas como fatores causais de deformidades esqueléticas, dentre elas encontram-se fatores genéticos, assim como a deficiência de determinados nutrientes, como vitamina A, D, biotina, niacina, piridoxina, colina, ácido fólico, cálcio, fósforo, dentre outros. Os patógenos, micotoxinas, e seus respectivos fungicidas, ditiocarbamatos, tiuran e dussulfiran, substâncias essas sabidamente hepatotóxicas, que

afetam a capacidade de metabolização e armazenamento de carboidratos, gorduras e vitaminas. Uma vez que a hidroxilação da vitamina D₃ ocorre no fígado, o comprometimento dessas funções acarretará uma baixa nos níveis plasmáticos de 25-(OH)D₃. Embora haja algumas similaridades entre o tecido ósseo humano e de aves, o modelo do tecido ósseo em aves tem sido importante para auxiliar nas pesquisas de deformidades ósseas em humanos (*Cook, 2000; Rath et al., 2007, Bittar F., 2008*).

Globalmente a claudicação de aves era anteriormente relatada em níveis de menos de 1%, até mais de 30%, mas hoje devido a técnicas de manejo e sanidade, os frangos de corte em criações comerciais apresentam menos de 3% de claudicação clínica. No entanto mesmo essa baixa incidência de claudicação clínica pode ter impacto negativo sobre os parâmetros de desempenho final do lote, como viabilidade e conversão alimentar (*Powell, 2008*).

Quando as práticas de manejo são deficientes é comum o encontro de uma enteropatia de leve a moderada em frangos de corte entre 12 a 24 dias de idade. Os resultados comuns para esses danos entéricos iniciais são: ganho de peso diminuído, baixa uniformidade do lote e fraqueza nas pernas.

A redução de danos esqueléticos resultantes de lesões entéricas, pode ser adquirida através da inclusão do metabólito da vitamina D₃ 25-(OH)D₃ nas dietas do primeiro ao 21 dias, cuja finalidade é melhorar a sustentação e o rápido desenvolvimento esquelético, buscando uma rápida absorção deste metabólito durante a época de doenças entéricas.

Como a estrutura esquelética dos frangos de corte irá aumentar nas primeiras 3 – 4 semanas, a absorção de nutrientes e a assimilação de ácidos graxos e vitaminas lipossolúveis nesse período será crucial, e durante o processo de resposta a um evento inflamatório, ocorre a produção de barreira protetora de muco nas membranas mucosas, particularmente na superfície intestinal que impede a absorção desses nutrientes.

Injúrias no aparelho digestivo, bem como danos entéricos prolongados e má absorção de nutrientes esgotarão as reservas de cálcio estimulando o colapso dos ossos estruturais e o esgotamento de reservas plasmáticas de 25-(OH)D₃.

Estes eventos são a causa essencial de osteoporose por deficiência de cálcio, fósforo e vitamina D₃ e ocorrem dentro de 3 a 5 dias após injúria entérica (*Powell, 2007, 2008*).

3.3.1 ETIOLOGIA DA DISCONDROPLASIA TIBIAL

A utilização de diferentes programas de luz associados com programas de restrição alimentar suplementação com vitamina C avaliaram o desempenho de frangos de corte e a relação existente com a incidência de DT (*Renden, 1996; Petek et al., 2005*).

Existe uma alta correlação entre a velocidade de crescimento e o desenvolvimento da DT (*Riddel, 1975*). *Roberson (1983)* sugere que a relação cálcio-fósforo para pintinhos em fase de crescimento pode ser considerada um fator de exigência nutricional para a integridade óssea, e que esta relação pode ser maior que o recomendado, quando submetidos à restrição alimentar. *Edwards (1983,2000)* relata que o nível de colecalciferol pode ser adequado quando há exposição dos frangos de corte à luz ultravioleta e que a elevada incidência da DT, pode ser atribuída a um inadequado nível dietético de colecalciferol e seus metabólitos. O mesmo autor observa que níveis adequados de cálcio (0.95%) e baixos (0.65%) de fósforo, com exposição de luz ultravioleta, diminuem a incidência de DT e quando as dietas contêm níveis adequados de cálcio, indicam que a síntese de colecalciferol é mais ativa quando é administrado na ração.

Para frangos de corte a proporção de duas partes de cálcio para uma de fósforo disponível é recomendável. Quando não há um balanço adequado devido ao excesso de fósforo na dieta, aumenta a incidência de DT (*Gonzales, 2006*)

Thorp (1994) comenta sobre a dificuldade em categorizar as desordens esqueléticas, baseando-se na etiopatogenia como tendência atual.

A DT foi objeto de investigação de muitos geneticistas, sendo descrita *por Leach e Nesheim (1965)* como patologia característica em frangos de corte, perus, patos, (*Wise e Nott, 1975*), com pequenas lesões encontradas em galinhas de postura *por Thorp et al., (1986)*.

A histologia revela que as lesões referentes à discondroplasia, são identificadas por uma massa de cartilagem avascular consistindo principalmente de condrócitos proliferativos, terminando onde as células começam a se proliferar, na epífise proximal da tíbia, e ocasionalmente na porção proximal do tarso-metatarso, distal da tíbia, proximal do fêmur e úmero, onde o osso trabécula deveria ser formado (*Takita, 1998*).

As lesões avasculares são atribuídas a uma incapacidade dos vasos da metáfise penetrarem na região de acúmulo de cartilagem, impedindo uma perfeita vascularização

e troca de nutrientes (*Poulos, 1978*), ocasionando com isso, áreas de necrose (*Duff, 1988*).

A necrose surge como uma consequência de uma lesão que pode ter sido atribuída a uma depleção de oxigênio pelo aumento da distância do suprimento vascular (*Hargest et al., 1985*), portanto, tem sido sugerido que a formação de estruturas vasculares e a calcificação da cartilagem estão intimamente associados com o desenvolvimento dessa patologia.

Na tentativa de explicar essas patologias, alguns autores admitem que a invasão vascular da cartilagem esteja associada à apoptose dos condrócitos e, conseqüentemente, à inibição do processo final de calcificação biológica (*Farquharson e Jeffereis, 2000*).

Métodos histoquímicos demonstram que a fosfatase alcalina, enzima importante na mineralização da cartilagem, e a anidrase carbônica, que regula o equilíbrio ácido básico de vários tecidos incluindo o cartilaginoso, estão presentes na zona de cartilagem pré-hipertrófica e hipertrófica. A presença de ambas nesse local indica atividade normal, sendo, porém diminuída em alguns pontos por atividade autolítica nas áreas de necrose (*Gay, 1985*).

3.3.2 PATOGENIA DA DISCONDROPLASIA TIBIAL

Uma ampla variedade de fatores pode influenciar a incidência e a severidade da DT, sendo uma delas, a seleção genética (*Leach e Nesheim, 1965; Sheridan et al., 1978; Praul 2000*).

A incidência da DT aumentou consideravelmente na atual produção de frangos de corte, originadas de linhagens manipuladas para obtenção de uma massa muscular maior do que seus ancestrais não selecionados. (*Nelson et al., 1992*).

Em experimento realizado por *Takita et al. (1998a)* com linhagens de frangos de corte comercializadas no Brasil entre 1997 e 1998, constatou-se uma diferença na incidência de DT, sendo maior nos machos altamente selecionados, e menores nos não selecionados para alto desempenho, sugerindo que os problemas locomotores sofrem influência da velocidade de crescimento da ave. Os mesmos autores observaram que as aves de desenvolvimento lento apresentaram crescimento ósseo bem definido, morfologicamente distinto das aves de desenvolvimento rápido, o que pode ser influenciado pelo surgimento de maior ou menor incidência da DT nas diferentes linhagens genéticas de frangos de corte (*Takita et al., 1998 bc*).

A DT pode ser induzida experimentalmente por alterações na dieta, incluindo proporção cálcio e fósforo (*Edwards e Veltmann, 1983; Riddell e Pass, 1987; Zhang, 1998*), com uma dieta suplementada com 1,5% a 3,0% de cisteína (*Yisheng, 1994*) e interferência de alguns fatores de manejo e ambientais (*Veltman, 1983; Thorp 1988 b*).

Nelson et al. (1992) e *Rambousek et al. (1998)* constataram que a idade da matriz desempenha papel relevante na incidência de DT na progênie, verificando que aves mais novas apresentaram uma maior incidência de produzirem pintos que apresentaram lesões compatíveis com DT.

Apesar de a DT merecer a atenção de vários pesquisadores, os eventos biológicos e químicos envolvidos nesse processo ainda não estão plenamente elucidados. Na tentativa de esclarecer esses mecanismos, alguns autores admitem que o estímulo mecânico, associado ao genótipo e a alterações nos constituintes da dieta, podem interromper os eventos envolvidos no processo de diferenciação dos condrócitos e desencadear o processo de formação desta lesão (*Edwards, 2000; Praul et al., 2000; Farquharson e Jefereis, 2000*).

A iluminação interfere na atividade locomotora das aves, refletindo assim, uma maior incidência de deformidades de pernas e desvios angulares, sendo que frangos criados sob iluminação intermitente (1 hora de luz por 3 horas no escuro), mostram maior atividade por hora durante o período com luz, que as aves que receberam iluminação contínua por 24 horas, indicando que a maior atividade da ave durante o período com iluminação seria responsável por uma melhor estrutura do tecido ósseo, e conseqüentemente por menor incidência destas deformidades (*Simons et al., 1985*).

Lesões compatíveis com a DT são comumente encontradas quando existe uma alteração no teor de cálcio e fósforo na dieta (*Edwards e Veltmann, 1983; Riddell e Pass, 1987; Luo et al., 1992*), cloro e magnésio, balanço ácido-básico (*McCaskey et al., 1982*) e micotoxinas (*Walser et al. 1982*).

O desequilíbrio de cátions e ânions pode influenciar na incidência de problemas de pernas em pintos. *Tardin (1995)* relata que alto teor de cloro aumenta a incidência de DT, principalmente se os níveis de sódio e potássio decrescem.

Segundo *Mongin e Sauver, (1977)* o equilíbrio ácido básico poderia estar envolvido com o metabolismo da vitamina D, a qual é envolvida no processo de absorção de cálcio pelos enterócitos. De acordo com os mesmos autores que indicam para frangos de corte de 1 a 28 dias, um equilíbrio eletrolítico na dieta de 250mEq/kg, se os níveis de K e Cl estão elevados, o pH diminui caracterizando acidose metabólica, por outro lado se Na e K aumenta em relação ao Cl, o pH aumenta, caracterizando alcalose metabólica.

Segundo esses autores, a acidose metabólica pode prejudicar a maturação da cartilagem através de uma alteração da síntese renal de 1,25 dihidroxicolecalciferol e do 25 hidroxicolecalciferol no fígado, reduzir a formação do metabólito ativo da vitamina D e conseqüentemente a absorção, a deposição e conteúdo de cálcio nos ossos. .

As lesões secundárias associadas com a DT são: curvatura da porção proximal da tíbia, fratura das fíbulas e defeitos de angulação da articulação intertarsal, numa prevalência de 1 a 2% com incidência alcançando entre 40 e 50% em populações severamente afetadas, que além de descarte de refugagem, causam também perdas devido a fraturas tibianas (*Leach Jr. e Liburn, 1992*).

3.4 O CÁLCIO NA NUTRIÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Os minerais são fundamentais para a nutrição de frangos de corte, já que uma deficiência ou excesso na dieta impossibilita a maximização do desempenho na fase de crescimento. Os níveis dietéticos de 8 vitaminas, 13 minerais e 6 aminoácidos, proteínas e energia podem estar diretamente envolvidos nos problemas locomotores, sendo os de maior influência o cálcio, o fósforo e a vitamina D₃. (Nagashiro, 2007). Dentre os macrominerais, o cálcio destaca-se por ser essencial à estrutura óssea e ao metabolismo corporal, fluídos e tecidos do corpo.

O cálcio tem sido alvo de muitos trabalhos, cujo objetivo tem sido avaliar a exigência nutricional desse elemento, levando em consideração as diversas linhagens, sexo, consumo de ração e sua relação com outros minerais.

De acordo com NRC (1994), as exigências de cálcio para frangos são de 1% de 1 a 21 dias e 0,90% de 22 a 42 dias.

A suplementação inadequada durante a fase de crescimento acarretará em um desequilíbrio na homeostase mineral e insuficiente desenvolvimento dos ossos, origem da calcificação inadequada. Contudo o cálcio em excesso pode ter efeito antagônico interferindo na absorção de minerais como: ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (Smith e Kabaja, 1984; Waldroup, 1996 ;Leske e Coon, 1999).

Normalmente não há preocupação com o excesso de cálcio na ração devido seu baixo custo e por não apresentar toxicidade, no entanto alguns trabalhos de pesquisa como os de Shafey (1993) e Sebastian et al. (1993) enfatizam seu efeito adverso sobre o desempenho, principalmente na fase inicial de criação.

Alguns exemplos das necessidades de cálcio pelas aves referem-se à manutenção dos ossos, formação da casca do ovo, quando fornecido para galinhas de postura, transmissão de impulsos nervosos, coagulação sanguínea, contração muscular, ativação de sistemas enzimáticos, e coadjuvantes na secreção de determinados hormônios. A deposição mais intensa de cálcio ocorre na fase de crescimento, aumentando rapidamente na fase inicial, podendo chegar ao final de um mês a 80% do cálcio total numa ave adulta (Macari, et al., 2002; Underwood, 1999).

O raquitismo em animais jovens é uma doença carencial de cálcio que tem como consequência a fragilidade óssea, o alargamento das juntas, dificuldade de locomoção, defeitos anatômicos, e fraturas, sendo que os sinais leves, são queda no consumo e no desempenho das aves (*McDowell, 1992*).

O cálcio, o fósforo e a vitamina D estão intimamente relacionados ao metabolismo animal, combinados entre si, e limitando o desempenho das aves na carência de um deles. Os alimentos de origem vegetal, como o milho e a soja, constituem a base da alimentação das aves, mas possuem teores de cálcio e fósforo insuficientes, havendo a necessidade de suplementação de cálcio para atender as exigências das aves (*Guinote et al., 1991; Sá et al., 2004*).

Os problemas de pernas decorrem de situações complexas, envolvendo a inter-relação entre vários nutrientes. *Heaney (1998)*, avaliando o nível protéico e metabolismo ósseo em humanos, verificou que dietas hiperproteicas elevam a excreção urinária de cálcio, diminuindo os níveis séricos desse mineral, bem como o sódio que quando em excesso no sangue pode aumentar a excreção de cálcio urinário, sendo, portanto, associado à redução de massa óssea.

3.5 VITAMINA D E METABÓLITOS NA PREVENÇÃO DA DT

A vitamina D consiste de um grupo de moléculas denominadas seco-esteróides, é uma vitamina lipossolúvel obtida a partir do colesterol, como precursor metabólico através da luz do sol e fontes dietéticas. Funcionalmente atua como um hormônio que mantém as concentrações de cálcio e fósforo no sangue através do aumento ou diminuição da absorção destes minerais no intestino delgado, regulando o metabolismo ósseo, funções metabólicas, musculares, cardíacas e neurológicas (Nelson, *et al.*, 2005).

3.5.1 Vitamina D₃

Durante os últimos anos a vitamina D₃ e seus metabólicos 1,25-(OH)₂ D₃ e 25-(OH) D₃ tem sido objeto de pesquisa na área de investigação na interação nutrição e anormalidades esqueléticas (Edwards Jr., 2000).

A vitamina D foi apontada por Scoth (2001) como utilizada na prevenção do raquitismo em humanos e mamíferos, em sua forma metabólica D₂ (Ergocalciferol), sendo que sua forma metabólica D₃ (Colecalciferol) é utilizada para a formação e crescimento ósseo, da casca do ovo, reprodução, pigmentação do empenamento de algumas raças de aves domésticas, portanto, somente o colecalciferol é eficaz para aves domésticas.

O colecalciferol (Vitamina D₃) é encontrado na pele, onde é transformado pela ação dos raios solares a partir da pró-vitamina D₃ (7 diidrocolecalciferol). É um composto que participa da regulação do desenvolvimento do tecido ósseo, metabolismo e homeostase do cálcio (Farquharson e Jefereis, 2000; Rondon *et al.*, 2005).

A vitamina D₃ resultante da exposição à luz ultravioleta ou luz solar, converte o 7-desidrocolesterol (que resulta do colesterol) na provitamina D₃ por abertura do anel B na ligação C₉-C₁₀, que ao sofrer uma isomerização origina a vitamina D₃.

No caso das aves, a vitamina D₃ é 30 a 40 vezes mais potente que a vitamina D₂, pode ser obtida pela alimentação ou produzida pelo organismo, se houver luz suficiente para prevenir o raquitismo (Pizauro *et al.*, 2002).

Na comparação realizada entre os dois metabólitos, Fritts e Waldroup, (2003) demonstraram que o uso da vitamina D₃ pode permitir o suplemento com níveis mais baixos de vitamina D, ou pode fornecer uma margem maior de segurança. Vários

estudos relatam que a síntese endógena deveria fornecer vitamina D₃ o suficiente para prevenir o raquitismo, maximizando o crescimento de frangos de corte, em exposição à luz solar de 11 a 45 minutos diários (*Pizauro et al., 2002*).

Os frangos devem ter no mínimo 10 ng/ml de plasma de 25-(OH) D₃ para diminuir os riscos de apresentarem problemas locomotores, entretanto cerca de 90% do esqueleto do frango é formado até os 30 dias de idade, assim na maior parte desse período os níveis de 25-(OH) D₃ estão abaixo da recomendação (*Golf, 1990*).

Assim, a elevada taxa de ganho de peso semanal das atuais linhagens genéticas parece estar associado à baixa absorção de gorduras de 0 a 10 dias, já que os níveis de 25-(OH) D₃ ficam abaixo dos 10 ng/ml, durante os primeiros 14 - 15 dias , considerados de risco para o aparecimento de problemas locomotores.

A figura 1 sumariza a seqüência de eventos envolvidos na síntese da 1,25 dihidroxivitamina D₃.

A partir da exposição aos raios ultravioleta B (UVB), o 7-deidrocolesterol presente na derme e epiderme é transformado em vitamina D₃. A vitamina D₃ resultante que se forma na pele, é removida, ligando-se a uma proteína transportadora no plasma (DBP-“D-binding protein”), presente na camada capilar da derme. Esta forma não metabolicamente ativa é transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, tornando-se a 25-hidroxivitamina D 25-(OH) D₃ ou calcidiol. A maioria da 25-(OH) D₃ produzida é depositada no tecido gorduroso, seu principal reservatório. A produção da 25-(OH) D₃ no fígado, além de rápida, sofre pouca regulação.

Deste modo, seus níveis plasmáticos refletem a reserva corporal de vitamina D, que para se tornar ativa, necessita ainda de uma última hidroxilação na posição 1, que ocorre nas mitocôndrias dos túbulos contornados proximais do rim, sob ação da enzima 1- α hidroxilase, transformando-se em 1,25 dihidroxivitamina D 1,25-(OH)₂D₃ ou calcitriol.

Esta passagem renal, ao contrário da hepática, é estreitamente regulada por vários fatores. A elevação plasmática do PTH e a diminuição do fosfato estimulam a atividade da 1- α hidroxilase (*Pedrosa, et al., 2005*).

A 1,25(OH)₂D₃ retro-regula sua produção, inibindo a atividade da 1- α hidroxilase, o mesmo ocorrendo com a redução do PTH e a elevação do fosfato. O calcitriol é um hormônio bastante potente que circula em concentrações cerca de 1000 vezes inferiores ao seu precursor, o calcidiol.

O uso da vitamina D₃ na avicultura tem despertado grande interesse dos pesquisadores nos últimos anos devido, principalmente à sua capacidade de induzir a diferenciação de condrócitos, controle do crescimento ósseo, prevenção do raquitismo e diminuição da incidência de DT (*Edwards, 2000; Pizauro et al., 2002; Whitehead et al., 2004*).

Recentes pesquisas têm apontado exigências de vitamina D₃ na ordem de 6,9 μ g/kg para crescimento, 10,1 μ g/kg para aumentar o conteúdo de cinzas dos ossos, 13,8 μ g/kg para aumentar a quantidade de cálcio no sangue, e 22,6 μ g/kg para prevenir o raquitismo (*Baker et al. 1998; Kilburn e Edwards, 2000*).

Dessa forma, a análise de resistência óssea e a aparente metabolização mineral, tem sido apontados pelos autores como fatores preponderantes para avaliar se a resistência óssea é atribuída a uma deficiência nos níveis de cálcio e fósforo.

A determinação da força de ruptura tem sido amplamente utilizada por diversos pesquisadores na determinação da biodisponibilidade dos minerais, assim como para estabelecer os seus requerimentos para suínos e aves. Entretanto apenas a força de ruptura é insuficiente para apurar com precisão a “resistência” dos ossos, já que não leva em consideração a área do material a ser analisado.

Creshaw et al. (1981), desenvolveram metodologia onde são utilizadas além da força, a área dos ossos, determinada pela espessura externa e interna dos mesmos, proporcionando assim, uma maior precisão na análise interpretativa dos resultados.

Nesse sentido muito embora a otimização do conteúdo de cálcio e fósforo dietéticos possa minimizar a discondroplasia tibial, este procedimento não consegue eliminá-la. As dietas com conteúdo relativamente baixo de cálcio e alto conteúdo de fósforo foram particularmente eficazes em aumentar a ocorrência da discondroplasia tibial. Através do fornecimento de dietas contendo 0,75% de cada elemento, houve um aumento 40 a 50% nos casos de discondroplasia tibial, e isso tem sido de grande valia para auxiliar nas pesquisas e estudar as causas e os meios para prevenção da discondroplasia tibial (*Whitehead et al., 2004*).

Ledwaba (2003), no entanto em experimento similar, observou que valores de 0,65% e 0,50% de cálcio e fósforo respectivamente, associados com alguns níveis de suplementação de 25-(OH)₂D₃, ou menos de 69 µg deste elemento é efetivo para prevenir a discondroplasia tibial.

Furtado (1991) e *Bessa (1992)* concluíram em suas pesquisas que o cálcio associado ao fósforo proporciona menor quantidade de cinzas nos ossos quando comparado ao cálcio isolado, e essa baixa nos níveis de cinzas ósseas, provavelmente se deve a uma menor disponibilidade nutricional de cálcio para as aves.

Atencio (2005b) analisando 25-(OH)₂D₃, demonstrou aumento de porcentagem de cinza de ossos nas aves, embora quando acrescentado na dieta não tenha havido diferença de ganho de peso, fertilidade, produção diária, eclodibilidade e taxa de mortalidade embrionária. Segundo *Scoth (2001)*, a vitamina D₃ é responsável pela regulação do cálcio e controle da eficiência da recirculação do mesmo através dos rins.,

onde essa função metabólica é controlada pelo hormônio paratireóide, que é secretado quando ocorrem baixos níveis sanguíneos de cálcio e fósforo, através de excreção renal.

Quando diminuem os níveis de fosfatos, esse hormônio estimula os rins a produzir $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Embora hajam evidências apontadas por esse autor de que o hormônio paratireóide esteja relacionado com essa hipocalcemia e hipofosfatemia, *Farquharson et al.*, (2001) relataram que as alterações na distribuição da expressão gênica de um peptídeo imunolocalizado, relacionado com o paratormônio não são os principais responsáveis pela diferenciação e atraso da hipertrofia dos condrócitos descritos da DT, mas que são resultados de mudanças secundárias ocasionadas nessa patologia.

Thorp (1993) mostrou uma marcante redução da DT em frangos alimentados com diferentes níveis de 1,25-dihidroxivitamina, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ revelando que a placa de crescimento da tíbia mostrou acúmulos de condrócitos transicionais, o que confirma a hipótese de que a causa da discondroplasia seja uma falha na diferenciação de condrócitos, confirmando que $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tenha um papel importante na diferenciação de condrócitos. Os metabólitos 1-hidroxilados são os mais eficazes para promover uma adequada diferenciação de condrócitos e demonstrou-se que a suplementação com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ evita completamente a discondroplasia tibial (*Ledwaba, 2003; Punna, 2001; Kevin, 1996; Thorp, 1993; Sarah, 1993*). Por outro lado, esse produto não se encontra disponível comercialmente no Brasil. Os resultados do estudo de *Driver* (2006) apontam ainda que matrizes alimentadas com adequados níveis de vitamina D_3 apresentavam capacidade de depósito da mesma nos ovos e redução da incidência de DT na progênie.

Os estudos sobre o papel da Vitamina D na prevenção da DT demonstraram que ela pode aumentar a taxa de diferenciação nas placas de crescimento (*Farquharson et al.*, 1983). A forma ativa da vitamina D, a 1,25-diidroxivitamina D_3 , $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é um importante regulador do desenvolvimento do tecido ósseo, do metabolismo e da homeostase do cálcio, possuindo importante papel na regulação do crescimento e diferenciação celular do tecido ósseo (*Kevin, 1996*). O estudo da DT tem sido baseado em exames localizados, mas lesões menores foram estudadas em por *Thorp et al* (1992). Se o acúmulo de condrócitos na lesão implica um retardo na diferenciação, o estímulo desse processo poderia prevenir a lesão (*Whitehead, 2004*). Como já foi mencionado a lesão referente a DT é avascular, podendo ser notadas algumas áreas de necrose (*Gonzales, 2006*). Os estudos de ultraestrutura indicam hipertrofia incompleta

do condrócitos, e utilizando-se a microscopia eletrônica, foi possível verificar que os condrócitos atingem apenas 40% do tamanho esperado, e sofrem mudanças degenerativas que incluem dilatação do retículo endoplasmático e das cisternas de Golgi, inchaço mitocondrial e núcleo picnótico (*Bains, et al., 1998*)

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais Experimentais, Instalações e Delineamento Estatístico

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado no Campus de Pirassununga - SP, com duração de 21 dias. Foram utilizados 440 pintinhos de 1 dia, machos, das linhagens Ross 308, Cobb 500 e Hybro, cujos pesos médios com 1 dia de idade foi de 0,47 g, 0,46 g, e de 0,48 g respectivamente, provenientes de matrizes com 60 a 62 semanas de idade, criados em baterias metálicas. No período de Agosto a Setembro de 2006 foram realizadas todas as atividades necessárias à adequação e preparação das instalações visando a implantação do experimento. Efetivou-se a limpeza e desinfecção no galpão de cria respeitando o vazio sanitário antes da chegada dos pintinhos. O programa de luz foi de iluminação contínua. As temperaturas (máxima e mínima) no interior do aviário foram registradas diariamente, com a utilização de um termômetro analógico e os dados foram obtidos por leituras no início da manhã e no final da tarde, sendo os valores médios indicados na Tabela 1.

Foram realizadas vacinações contra as doenças de Newcastle, Bronquite e Gumboro, conforme o seguinte programa:

* 7dias – NewCastle, Bronquite e Gumboro , conforme indicados na Figura 6.

As aves foram distribuídas aos 11 tratamentos de um esquema fatorial com tratamentos adicionais – 3x3+2 (ver tabela 2), utilizando um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de 10 aves por tratamento.

Os fatores analisados foram: linhagem da ave (Ross 308, Cobb 500 e Hybro), níveis e fontes de vitamina D (1250 UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃; 1250 UI D₃/kg + 69 mg 25-(OH) D₃/ton e 3000 UI D₃ /kg + 69 mg 25-(OH)D₃ /ton). Os 2 tratamentos adicionais (controles) foram constituídos com níveis de cálcio e fósforo segundo recomendações de Rostagno et al. (2005) com 3000UI D₃ /Kg sem 25(OH) D₃ e 3000 UI D₃ /Kg com 69 mg 25(OH) D₃/ton de ração, conforme indicados na Tabela 2.

Para a preparação do galpão foram instalados sistema de aquecimento dos pintinhos, além da montagem das baterias e posterior distribuição aleatória das parcelas experimentais (Figuras 2, 3, 4 e 5 e 6).

As figuras 2, 3, 4, 5 e 6 registram as fases de instalação das aves, e manejo

Figura 2. Baterias utilizadas para o desenvolvimento do experimento, com baldes reservatórios de ração para controle de cada parcela experimental.

Figura 3. Três linhas de baterias metálicas onde foram alojados os pintinhos de um dia, localizados no interior do galpão de frangos de corte.

Figura 4. Aves alojadas no interior de baterias metálicas

Figura 5. Sistema de bebedouros infantis

Figura 6. Sistema de vacinação aos 7 dias de idade.

Tabela 1 — Temperaturas Médias ambiente (°C) registradas no período de 1 a 21 dias de idade dos frangos de corte, nos meses de setembro e outubro de 2006.

Temperatura		
Período	Máxima	Mínima
1- 7 dias	28,64	26,64
7-14 dias	27,86	26,07
14-21 dias	28,71	26,14

4.2 Dietas Experimentais

As aves foram alimentadas diariamente com dietas formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com as exigências para as 2 fases de criação, pré inicial, e inicial, segundo as recomendações de Rostagno et al. (2005), exceto para Ca e P.

Os tratamentos experimentais estão indicados na Tabela 2, e a composição percentual e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais são indicados nas Tabelas 3 e 4.

A linhagem Ross foi escolhida como tratamento controle por ter sido a mesma utilizada por Flemming et al. (1999).

Tabela 2 — Descrição dos tratamentos experimentais

Tratamento	Linhagem	Ca(%)	P disp(%)	Vit D ₃ UI/kg	Hy.D mg/ton
1	Ross 308	0,80	0,50	1250	Ausente
2	Ross 308	0,80	0,50	1250	69
3	Ross 308	0,80	0,50	3000	69
4	Cobb 500	0,80	0,50	1250	Ausente
5	Cobb 500	0,80	0,50	1250	69
6	Cobb 500	0,80	0,50	3000	69
7	Hybro	0,80	0,50	1250	Ausente
8	Hybro	0,80	0,50	1250	69
9	Hybro	0,80	0,50	3000	69
10	Ross 308	0,94/0,90	0,47/0,45	3000	Ausente
11	Ross 308	0,94/0,90	0,47/0,45	3000	69

A escolha dos níveis de cálcio e fósforo indicados na tabela 2 foram utilizados com base no trabalho de *Edwards (1983,2000)* que observou que níveis adequados de cálcio (0,80%) e baixos (0,50%) de fósforo, com exposição de luz ultravioleta, diminui a incidência de DT e quando as dietas contêm níveis adequados de cálcio, indicam que a síntese de colecalciferol é mais ativa quando é administrado na ração assim como o trabalho de *Ledwaba (2003)*, que observou que valores de 0,65% e 0,50% de cálcio e fósforo respectivamente, associados com alguns níveis de suplementação de 25-(OH)₂D₃, ou menos de 69 µg deste elemento é efetivo para prevenir a discondroplasia tibial.

Tabela 3 — Composição e níveis nutricionais calculados das dietas experimentais. Fase Pré Inicial (1 a 7 dias)

Ingredientes	Tratamentos				
	T1, T4 e T7	T2, T5 e T8	T3, T6 e T9	T10	T11
Milho	61,003	60,901	60,799	60,275	60,173
Farelo de soja (45%)	34,566	34,584	34,603	34,697	34,715
Calcário	0,429	0,429	0,429	0,897	0,896
Fosfato bicálcico	2,028	2,028	2,028	1,867	1,868
Sal	0,497	0,497	0,497	0,497	0,497
Óleo vegetal	0,291	0,325	0,359	0,533	0,566
L-Lisina HCL	0,427	0,426	0,426	0,424	0,424
DL-Metionina	0,373	0,373	0,373	0,374	0,374
L-Treonina	0,187	0,187	0,186	0,186	0,186
Supl.Vitamínico/mineral ¹	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
25 Hidroxi (Hy D) ²	—	0,050	0,050	—	0,050
Colecalciferol (D ₃) ³	—	—	0,050	0,050	0,050
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais (%)					
E.M. (kcal/kg)	2.960	2.960	2.960	2.960	2.960
Proteína bruta (%)	22,11	22,11	22,11	22,11	22,11
Cálcio (%)	0,80	0,80	0,80	0,94	0,94
Fósforo disponível	0,50	0,50	0,50	0,47	0,47
Sódio	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Met+cis digestível	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
Metionina digestível	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Lisina digestível	1,36	1,36	1,36	1,36	1,36
Treonina digestível	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Triptofano digestível	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23

¹ Suplemento Vitamínico - mineral + aditivos = (2 kg/ton) proporcionando 1250UI D₃/Kg de ração. Quantidade por kg de ração: Vit. A- 9000 UI; Vit. D₃- 1250 UI; Vit. E- 20 mg; Vit. K₃- 2,5 mg; Vit. B₁- 1,5 mg; Vit. B₂- 6 mg; Vit. B₆- 3 mg; Vit. B₁₂- 12 mcg; Niacina- 25 mg; Ácido Pantotênico- 12 mg; Biotina- 60 mcg; Ácido Fólico- 0,8 mg; Selênio- 0,25 mg; Ferro- 50 mg; Cobre- 10 mg; Zinco- 50 mg; Manganês- 80 mg; Iodo- 1 mg; Cobalto- 1mg; Antioxidante (BHT)- 120 mg; Veículo q.s.p. 1000 g.

² Pré-mistura de Hy.D (0,5 kg/ton) proporcionando 69 mg de 25(OH) (D₃) /ton ração.

³ Pré-mistura de colecalciferol (D₃) (0,5 kg/ton) proporcionando 1750 UI D₃ /kg de ração.

TABELA 4 — Composição nutricional e calculada das dietas experimentais. Fase Inicial (8 – 21 Dias)

Ingredientes	Tratamentos				
	T1, T4 e T7	T2, T5 e T8	T3, T6 e T9	T10	T11
Milho	61,701	61,600	61,498	61,264	61,162
Farelo de soja (45%)	33,016	33,034	33,052	33,094	33,113
Calcário	0,432	0,432	0,431	0,866	0,866
Fosfato bicálcico	2,043	2,043	2,044	1,774	1,774
Sal	0,497	0,497	0,497	0,497	0,497
Óleo vegetal	1,495	1,529	1,563	1,640	1,674
L-Lisina HCL	0,258	0,258	0,257	0,257	0,256
DL-Metionina	0,267	0,267	0,267	0,267	0,267
L-Treonina	0,091	0,091	0,091	0,091	0,091
Supl.Vitamínico/mineral ¹	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
25 Hidroxi (Hy D) ²	—	0,050	0,050	—	0,050
Colecalciferol (D ₃) ³	—	—	0,050	0,050	0,050
Total	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Níveis nutricionais (%)					
E.M. (kcal/kg)	3.050	3.050	3.050	3.050	3.050
Proteína bruta	21,14	21,14	21,14	21,14	21,14
Cálcio	0,80	0,80	0,80	0,90	0,90
Fósforo disponível	0,50	0,50	0,50	0,45	0,45
Sódio	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Met+cis digestível	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Metionina digestível	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Lisina digestível	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19
Treonina digestível	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Triptofano digestível	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22

¹ Suplemento Vitamínico - mineral + aditivos = (2 kg/ton) proporcionando 1250UI D₃/Kg de ração. Quantidade por kg de ração: Vit. A- 9000 UI; Vit. D₃- 1250 UI; Vit. E- 20 mg; Vit. K₃- 2,5 mg; Vit. B₁- 1,5 mg; Vit. B₂- 6 mg; Vit. B₆- 3 mg; Vit. B₁₂- 12 mcg; Niacina- 25 mg; Ácido Pantotênico- 12 mg; Biotina- 60 mcg; Ácido Fólico- 0,8 mg; Selênio- 0,25 mg; Ferro- 50 mg; Cobre- 10 mg; Zinco- 50 mg; Manganês- 80 mg; Iodo- 1 mg; Cobalto- 1mg; Antioxidante (BHT)- 120 mg; Veículo q.s.p. 1000 g.

² Pré-mistura de Hy.D (0,5 kg/ton) proporcionando 69 mg de 25(OH) (D₃) /ton ração.

³ Pré-mistura de colecalciferol (D₃) (0.5 kg/ton) proporcionando 1750 UI D₃ /kg de ração.

4.3 Características Avaliadas

4.3.1 Características de Desempenho

Aos 7, 14 e 21 dias de idade todas as aves foram pesadas, bem como as rações fornecidas no início de cada período experimental para avaliação do ganho de peso (g) consumo de ração (g) e conversão alimentar (g/g). As mortalidades foram registradas diariamente.

4.3.2 Análises Envolvendo as Tíbias

Para as análises histológicas, foram colhidas amostras da tíbia de 1 ave por repetição de tratamento aos 7, 14, e 21 dias de idade. As aves foram sacrificadas por deslocamento cervical, quando procedeu-se a retirada do material para resistência, análises histológicas e microscopia eletrônica.

As tíbias foram removidas e dissecadas, a tíbia direita foi imediatamente fixada para histologia e microscopia eletrônica e a tíbia esquerda congelada para análise de resistência à quebra e de cinzas.

As tíbias direitas foram incisadas com bisturi em cortes longitudinais, divididas em paquímeros ventral e dorsal, sendo o paquímero ventral imerso em fixador primário de glutarealdeído 2,5% e o paquímero dorsal imerso em líquido de Bouin. No paquímero dorsal das tíbias foram realizadas análises histológicas. As amostras foram analisadas, e não apresentaram achados significativos à histologia, portanto, para confecção das imagens de microscopia eletrônica foram colhidas aleatoriamente, e da região caudo medial da placa de crescimento de cada tíbia foi excisado, cortado em fragmentos e imersos em fixador primário de cacodilato por 3 horas. As peças foram enxaguadas e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% diluído em cacodilato, e contrastadas em acetato de uranila, desidratadas em séries crescentes de álcool, embebidas em óxido de propileno incluídas em araldite. Cortes semi-finos foram feitos usando um ultramicrotomo e corados com azul de toluidina, observados ao microscópio de transmissão na Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo.

4.3.3 Resistência óssea à quebra

As determinações da força e tensão de ruptura foram conduzidas de acordo com a metodologia descrita por *Creshaw et al. (1981)*. A força de ruptura foi determinada diretamente no osso.

Nas análises ósseas foram avaliadas características concernentes a peso(g), comprimento(mm) e resistência à quebra(Kgf/mm). Para a análise de resistência à quebra dos ossos foi utilizado o osso da tíbia in natura, das tíbias esquerdas correspondentes a idade de 21 dias, por meio de um aparelho que mede a força de resistência de materiais (Emic, modelo DL 30000 kgf). O ensaio foi realizado obtendo-se a distância entre distância fixa entre duas colunas, a velocidade do ensaio, e a célula carga que foram 30 mm, 0,9 mm/s ou 54 mm/min e 1 KN (1000 N) respectivamente. Os resultados foram expressos em Newtons (N).

Para as idades de 7 e 14 dias, devido ao tamanho do osso não ser compatível como o mínimo espaço no aparelho descrito anteriormente, foi utilizado um texturômetro. (Stable Micro Systems), modelo TaxT2i – Texture Analyzer, sendo utilizada uma lâmina do tipo Warner-Blatzer, com distância entre dois pontos, velocidade do ensaio, e célula carga de 10mm, 0,5 e 0,7 mm/s e 1 KN, respectivamente.

4.3.4 Determinação de cinzas, cálcio e fósforo das tíbias

A determinação das cinzas foi realizada no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP)

Após a análise de resistência à quebra, os ossos foram secos em estufa a 105°C, por 12 horas, e em seguida desengordurados em aparelho extrator “soxhlet” por 5 horas. Posteriormente, foram colocados na estufa ventilada a 60°C por 12 horas para posterior pesagem dos ossos secos e desengordurados. Em seguida foram moídos em moinho de bola, retiradas amostras e colocadas em mufla a 600°C durante 4 horas, para determinação dos teores de cinzas, cálcio e fósforo de acordo com a metodologia proposta por Silva (1998).

4.4 Análise Estatística

Os dados de desempenho (consumo, conversão alimentar, ganho de peso) foram avaliados através da análise de variância de um modelo fatorial aumentado $3 \times 3 + 2$, envolvendo 3 linhagens, 3 fontes de vitamina D e 2 tratamentos adicionais (controles), já descritos na Seção 4.1.

O desdobramento dos graus de liberdade do modelo para estudar os efeitos principais e de interação dos níveis dos fatores foi feito através de contrastes ortogonais (Tabela 5).

Na presença de interação foi realizado um estudo de regressão das variáveis respostas em função dos níveis de vitamina D, para cada uma das linhagens. Nas análises estatísticas utilizou-se o procedimento glm do programa estatístico SAS® (2000).

Tabela 5 — Contrastes ortogonais utilizados na comparação dos dados das diversas características.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross
Vitamina D³	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000
HyD	Sem	com	com	Sem	com	com	sem	com	com	sem	com
Tratamento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11
C1: (Controles vs. Fatorial)	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	9	9
C2: (Controle 1 vs. Controle 2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-1
C3: (Linhagem)	-2	-2	-2	1	1	1	1	1	1	0	0
	0	0	0	1	1	1	-1	-1	-1	0	0
C4: (Vitamina D)	2	-1	-1	2	-1	-1	2	-1	-1	0	0
	0	1	-1	0	1	-1	0	1	-1	0	0
C5: (Interação LxV)	-4	2	2	2	-1	-1	2	-1	-1	0	0
	0	-2	2	0	1	-1	0	1	-1	0	0
	0	0	0	2	-1	-1	-2	1	1	0	0
	0	0	0	0	1	-1	0	-1	1	0	0

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes as características de desempenho, valores médios das mesmas e os níveis de significância dos contrastes entre os tratamentos do Fatorial estão indicados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Constatou-se que não houve interação significativa ($P>0,05$) entre os fatores analisados, linhagem e fontes/níveis de vitamina D e nenhum efeito principal significativo ($P>0,05$) dos mesmos sobre as características avaliadas, em todos os períodos experimentais.

No entanto, ao comparar os efeitos dos 2 tratamentos controles (Contraste ** - Tabela 5), observou-se que no período de 1 a 7 dias, o índice de conversão alimentar foi melhor ($P<0,05$) para aves que foram suplementadas com o metabólito 25-(OH) $_2$ D $_3$.

5.1 Desempenho

Tabela 6 — Valores médios das características de desempenho de frangos de corte de diferentes linhagens submetidos a diferentes fontes e níveis de vitamina D na fase pré-inicial e inicial de crescimento.

Características	Linhagem			Níveis e Fontes de Vit D			Controle		Contraste (C1)	Contraste (C2)	CV ⁶ (%)	EP ⁷
	Ross 308	Cobb 500	Hybro	1	2	3	Sem HyD ⁴	Com HyD ⁵				
Período de 1 a 7 dias												
Consumo de ração (g)	130	130	130	130	130	130	130	130	P>0,05	P>0,05	10,40	0,006
Ganho de peso (g)	130	130	130	130	130	130	120	120	P<0,05	P>0,05	7,40	0,005
Conversão Alimentar (%)	1,02	1,00	0,96	1,00	1,02	0,96	1,12	0,97	P<0,05	P<0,05	10,50	0,053
Período de 1 a 14 dias												
Consumo de ração (g)	460	480	460	470	480	460	444	450	P<0,05	P>0,05	4,81	0,011
Ganho de peso (g)	390	420	390	400	400	400	360	380	P<0,05	P>0,05	4,75	0,010
Conversão Alimentar (%)	1,19	1,14	1,17	1,18	1,18	1,16	1,21	1,18	P>0,05	P>0,05	4,91	0,029
Período de 1 a 21 dias												
Consumo de ração (g)	840	890	840	850	888	850	810	830	P<0,05	P>0,05	5,11	0,022
Ganho de peso (g)	666	669	666	666	680	670	650	666	P>0,05	P>0,05	4,79	0,016
Conversão Alimentar (%)	1,28	1,30	1,27	1,28	1,29	1,28	1,25	1,26	P>0,05	P>0,05	6,03	0,038

1 = 1250 UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃; 2 = 1250 UI D₃/Kg com 25-(OH)D₃; 3 = 3000 UI D₃/kg com 25-(OH)D₃

4 = T10; níveis nutricionais segundo Rostagno et. al. (2005) para a fase pré-inicial (0,94% e 0,47%) e inicial (0,90% e 0,45%) para Ca e P, respectivamente e adição de 3000 UI D₃/kg sem 25-(OH)D₃

5 = T11; níveis nutricionais segundo Rostagno et. al. (2005) para a fase pré-inicial (0,94% e 0,47%) e inicial (0,90% e 0,45%) para Ca e P respectivamente e adição de 3000 UI D₃/kg com 25(OH)₃

6 = coeficiente de variação; 7 = Erro padrão.

Tabela 7 — Resultados dos contrastes entre as médias dos tratamentos do Fatorial (T1 a T9) e os tratamentos controle sem e com Hy.D (T10 e T11) das características de desempenho de frangos de corte de diferentes linhagens submetidos a diferentes fontes e níveis de vitamina D na fase pré-inicial e inicial de crescimento.

Tratamentos					
Características	T1 a T9 Fatorial	T10 e T11 (Controles)	P-valor	CV (%) ¹	EP ²
Período de 1 a 7 dias					
Consumo de ração (g)	130	130	P>0,05	10,40	0,006
Ganho de peso (g)	130	120	P<0,05*	7,40	0,005
Conversão Alimentar	0,99	1,04	P<0,05*	10,50	0,053
Período de 1 a 14 dias					
Consumo de ração (g)	470	450	P<0,05*	4,81	0,011
Ganho de peso (g)	400	370	P<0,05*	4,75	0,010
Conversão Alimentar	1,17	1,19	P>0,05	4,91	0,029
Período de 1 a 21 dias					
Consumo de ração (g)	860	820	P<0,05 *	5,11	0,022
Ganho de peso (g)	670	650	P>0,05	4,79	0,016
Conversão Alimentar	1,28	1,25	P>0,05	6,03	0,038

⁽¹⁾ = coeficiente de variação; ⁽²⁾ = Erro padrão.

Os níveis e fontes de vitamina D utilizadas nesse trabalho estão de acordo com o que foi utilizado por *Baker et al. 1998; Kilburn e Edwards, 2000*, pois segundo esses autores, as exigências de vitamina D₃ são utilizadas na ordem de 6,9 µg/kg para crescimento, 10,1 µg/kg para aumentar o conteúdo de cinzas dos ossos, 13,8 µg/kg para aumentar a quantidade de cálcio no sangue, e 22,6µg/kg para prevenir o raquitismo.

A tabela 2 sumariza os tratamentos, as fontes e níveis de vitamina D, segundo o utilizado por esses mesmos autores. A utilização do metabólito 25-(OH)D₃ - Hy.D está de acordo com o experimento realizado por *Pizauro et al., 2002*, que relata que a vitamina D₃ é 30 a 40 vezes mais potente que a vitamina D₂, pode ser obtida pela alimentação ou produzida pelo organismo. A melhor conversão alimentar ocorrida no período de 1 a 7 dias, provavelmente deu-se ao fato de que a primeira fase de crescimento, os frangos devem ter no mínimo 10 ng/ml de plasma de 25-(OH)D₃ para diminuir os riscos de apresentarem problemas locomotores, entretanto cerca de 90% do esqueleto do frango é formado até os 30 dias de idade, assim na maior parte desse período os níveis de 25-(OH)D₃ estão abaixo da recomendação de *Golf, (1990)*.

Da mesma forma, *Korver et al. (2006)* avaliaram os níveis de 25-(OH) D₃) no plasma de frangos de corte alimentados com esse metabólito, em diferentes fases de criação, e seus resultados demonstraram que os níveis plasmáticos permaneceram acima do recomendado por *Golf,(1990)*.

Quando da comparação entre todos os tratamentos que compõem o Fatorial (T1 ao T9) com os 2 tratamentos controles (T10 e T11), via contrastes* (Tabelas 6 e 7), verificou-se que o consumo de ração foi menor ($P<0,05$) para as aves submetidas ao tratamento controles (T10 e T11) , nos períodos de 1 a 14 dias e 1 a 21 dias. O ganho de peso foi menor ($P<0,05$) para as aves submetidas ao tratamento Fatorial (T1 ao T9) nos períodos de 1 a 7 dias e 1 a 14 dias. O índice de conversão alimentar foi influenciado somente no período de 1 a 7 dias, em que as aves submetidas ao tratamento fatorial (T1 a T9) apresentaram melhor índice ($P<0,05$) em relação as aves alimentadas com os tratamentos controles (T10 e T11). Estes resultados estão de acordo com o afirmado por *Golf, (1990)* e *Korver et al. (2006)* onde a taxa de ganho de peso semanal das atuais linhagens genéticas parece estar associado à baixa absorção de gorduras de 0 a 10 dias, já que os níveis de 25-(OH) D₃) ficam abaixo dos 10 ng/ml, durante os primeiros 14 - 15 dias , considerados de risco para o aparecimento de problemas locomotores.

Os valores médios, erros padrões e análise de variância e p-valor no período de 1 a 7 dias, estão indicados nas tabelas 8 e 9 respectivamente.

Verificou-se que houve um maior consumo ($P < 0,02$) para as aves da linhagem Cobb alimentadas com 3000 UI Vitamina D₃/Kg com a suplementação de (Hy.D) 25-(OH)₂ D₃ em relação as aves sem suplementação.

Tabela 8 — Valores médios e erros padrões (e.p.) das características de desempenho de frangos de corte de diferentes linhagens alimentadas com diferentes fontes e níveis de vitamina D no período de 1 a 7 dias.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
Vitamina (D ₃)	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
HyD	Sem	com	com	Sem	com	com	sem	com	com	sem	com	
Consumo(g)	126	136	127	126	132	137	129	132	130	117 b	135 a	0,005
Ganho de peso (g)	123	129	126	128	130	136	128	135	127	118	121	0,005
Conversão Alimentar	1,029	1,053	1,008	0,989	1,022	1,007	1,003	0,976	0,943	0,995	1,120	0,048

a–b Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Turkey ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 9 — Quadro de análise de variância para os dados de desempenho no período de 1 a 7 dias com os p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	Consumo (kg)	Ganho de peso (kg)	Conversão Alimentar (%)
Linhagem (L)	2	0,86	0,39	0,37
Vitamina D (V)	2	0,31	0,40	0,72
Interação (LxV)	4	0,69	0,62	0,93
(Fatorial)	(8)			
Controles vs. Fatorial	1	0,27	0,01	0,16
Controle 1 vs. 2	1	0,02	0,60	0,07

Nelson et al., (1992) atribui que o aumento na incidência da DT na atual produção de frangos de corte, pode ser justificada pela escolha de linhagens manipuladas para obtenção de uma massa muscular maior do que seus ancestrais não selecionados. Com relação ao ganho de peso, a média dos controles (T1 a T9) (119g) foi menor ($P<0,01$) do que a média fatorial (T10 e T11) (129g), conforme indicado na Tabela 8.

Os valores médios, erros padrões, análise de variância e p-valor no período de 1 a 14 dias, estão indicados nas tabelas 10 e 11, respectivamente.

Neste período, a média do consumo de ração dos tratamentos fatorial (T1 a T9) (421g) foi menor ($P<0,02$) do que a média controle (T10 e 11) (446g). Com relação ao ganho de peso a média dos controles (0,4) foi menor ($P<0,02$) do que a média fatorial (374g).

Os valores médios, erros padrões, análise de variância e p-valor do período experimental total, estão indicados nas tabelas 12 e 13, respectivamente. A média do consumo de ração dos tratamentos controle (825g) foi menor ($P<0,05$) do que a média fatorial (862g), sendo que a linhagem Cobb apresentou maior média de consumo de ração (893g) em relação à Ross (849g) e a Hybro (844g).

Tabela 10— Valores médios e erros padrões (e.p.) das características de desempenho de frangos de corte de diferentes linhagens alimentadas com diferentes fontes e níveis de vitamina D no período de 1 a 14 dias, por tratamento.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
Vitamina D ³	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
HyD	Sem	Com	Com	sem	com	com	sem	Com	com	sem	com	
Consumo (g)	466	468	453	488	481	474	444	480	461	438	454	0,011
Ganho de peso (g)	380	385	394	423	422	417	387	407	386	363	386	0.009
Conversão Alimentar	1,228	1,216	1,156	1,155	1,141	1,136	1,150	1,181	1,193	1,211	1,175	0.029

Tabela 11— Quadro de análise de variância para os dados de desempenho 1 a 14 dias com os p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	Consumo (kg)	Ganho de peso (kg)	Conversão Alimentar
Linhagem (L)	2	0,08	<0,001	0,08
Vitamina D (V)	2	0,31	0,55	0,71
Interação (LxV)	4	0,39	0,50	0,40
(Fatorial)	(8)			
Controles vs. Fatorial	1	0,02	0,002	0,39
Controle 1 vs. Controle 2	1	0,35	0,10	0,40

Tabela 12 — Valores médios, erros padrões (e.p.) das características de desempenho de frangos de corte de diferentes linhagens alimentadas com diferentes fontes e níveis de vitamina D no período de 1 a 21 dias, por tratamento.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
Vitamina D³	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
HyD	sem	Com	Com	sem	com	com	sem	com	com	sem	com	
Consumo (g)	854	847	847	904	899	877	805	879	849	813	838	0,022
Ganho de peso (g)	636	685	656	705	683	678	654	676	660	635	666	0,017
Conversão Alimentar	1,343	1,244	1,264	1,283	1,320	1,295	1,232	1,301	1,287	1,285	1,258	0,041

Tabela 13 — Quadro de análise de variância para os dados de desempenho 1 a 21 dias com os p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	Consumo (kg)	Ganho de peso (kg)	Conversão Alimentar (%)
Linhagem (L)	2	0,01	0,09	0,74
Vitamina D (V)	2	0,36	0,40	0,98
Interação (LxV)	4	0,27	0,34	0,29
(Fatorial)	(8)			
Controles vs. Fatorial	1	0,05	0,14	0,66
Controle 1 vs. 2	1	0,44	0,20	0,65

Estes dados justificam-se com o que foi observado pelo estudo realizado por *Flemming (1999)*, que verificou que comparando-se as linhagens Ross e Cobb, com mais duas linhagens menos exploradas, e analisando-se o frango em partes, a linhagem Ross apesar de ter praticamente o mesmo peso de coxa que as demais linhagens, apresenta uma maior quantidade de carne, possivelmente devido ao peso dos ossos da linhagem Cobb ser maior àquele da linhagem Ross.

Scoth (2001) relata o uso de vitamina D na prevenção do raquitismo em humanos e mamíferos, em sua forma metabólica D2 (Ergocalciferol), sendo que sua forma metabólica D3 (Colecalciferol) é utilizada para a formação e crescimento ósseo, da casca do ovo, reprodução, pigmentação do empenamento de algumas raças de aves domésticas, sendo eficaz para aves domésticas, e portanto o utilizado para esse trabalho.

Estudos realizados por *Edwards, (2000)*; *Pizauro et al., (2002)*; *Whitehead et al., (2004)* referem-se ao uso da vitamina D₃ na avicultura pela sua capacidade de induzir a diferenciação de condrócitos, controle do crescimento ósseo, prevenção do raquitismo e diminuição da incidência de DT.

Os valores médios e erros padrões do período de 1 a 21 dias das concentrações de cálcio e fósforo estão indicados nas tabelas 14 e 15, respectivamente.

A análise de variância e p-valores para os dados de cálcio estão indicados na tabela 16 e os contrastes utilizados na comparação dos dados aos 14 dias estão indicados na tabelas 17.

Com relação aos níveis de cálcio e fósforo, foram utilizados os mesmos níveis apontados por *Edwards (2000)* para cálcio, que observa que níveis adequados de cálcio (0.80%) e baixos (0.50%) de fósforo, com exposição de luz ultravioleta, diminui a incidência de DT e quando as dietas contêm níveis adequados de cálcio, indicam que a síntese de colecalciferol é mais ativa quando é administrado na ração, e de *Ledwaba (2003)*, que observou que valores de 0,65% e 0,50% de cálcio e fósforo respectivamente, associados com alguns níveis de suplementação de $25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ou menos de 69 μg deste elemento é efetivo para prevenir a discondroplasia tibial.

O quadro de análise de variância para os dados de fósforo e p-valores associados às diversas causas de variação estão indicados na tabela 18.

Os contrastes do efeito da fonte de vitamina nas concentrações de fósforo em cada linhagem aos 7 dias e os contrastes e efeito de cada linhagem sobre as concentrações de fósforo na tibia de frangos aos 14 dias, utilizados na comparação dos dados das diversas características estão indicados nas tabelas 19 e 20 respectivamente.

Tabela 14— Valores médios e erros padrões (e.p.) das concentrações de cálcio por mg/kg na matéria original (tíbia) de 1 a 21 dias.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
HyD	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
Vitamina D	sem	com	com	sem	com	com	sem	com	com	sem	com	
Cálcio 7 dias	7,02	7,62	8,49	6,55	7,31	6,19	6,79	7,23	5,83	5,96	6,08	0,54
Cálcio 14 dias	4,46	5,29	4,70	4,76	4,61	5,13	5,33	5,58	5,82	5,23	4,97	0,31
Cálcio 21 dias	10,06	10,84	9,44	9,52	10,93	12,02	11,37	11,87	11,96	12,23	11,65	0,87

Tabela 15— Valores médios e erros padrões (e.p.) das concentrações de fósforo por mg/kg na matéria original (tíbia) de 1 a 21 dias.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
HyD	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
Vitamina D	Sem	Com	com	sem	com	com	sem	com	com	sem	Com	
Fósforo 7 dias	4,40	4,77	5,57	4,37	4,59	4,08	5,33	4,71	4,03	4,12	4,32	0,26
Fósforo 14 dias	2,58	2,78	2,61	2,72	2,61	3,30	3,07	3,44	3,51	3,15	3,53	0,22
Fósforo 21 dias	5,72	5,55	5,30	5,57	5,44	6,29	6,07	5,71	6,89	5,80	6,11	0,43

Tabela 16 — Quadro de análise de variância para os dados de cálcio e p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	7 dias	14 dias	21 dias
Linhagem (L)	2	0,05	0,02	0,12
Vitamina D (V)	2	0,35	0,33	0,41
Interação (LxV)	4	0,20	0,43	0,48
(Fatorial)	(8)			
Controles vs. Fatorial	1	0,04	0,91	0,15
Controle 1 vs. Controle 2	1	0,87	0,56	0,65

Tabela 17 — Contrastes para avaliar o efeito das linhagens sobre as concentrações de cálcio por mg/kg na matéria original (tíbia) aos 14 dias.

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	p-valor
Vitamina D	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
HyD	Sem	com	com	sem	com	com	sem	com	com	sem	com	
C3.1: Linhagem Ross vs. (Cobb e Hybro)	-2	-2	-2	1	1	0	1	1	1	1	0	0,0997
C3.2: Linhagem Cobb vs. Hybro	0	0	0	1	1	1	-1	-1	-1	0	0	0,0129

Tabela 18— Quadro de análise de variância para os dados de fósforo e p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	7 dias	14 dias	21 dias
Linhagem (L)	2	0,07	0,01	0,18
Vitamina D (V)	2	0,77	0,21	0,28
Interação (LxV)	4	0,01	0,40	0,48
(Fatorial)	(8)			
Controles vs. Fatorial	1	0,06	0,05	0,73
Controle 1 vs. Controle 2	1	0,60	0,26	0,62

Tabela 19 — Contrastes para avaliar o efeito da fonte de vitamina nas concentrações de fósforo nas tíbias de frangos de corte em cada linhagem aos 7 dias.

Linhagem		Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	
Vitamina D	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000		P
HyD	Sem	com	com	sem	com	com	sem	Com	com	sem	Com		
Linhagem Ross													
Fonte 1 vs 2 e 3	2	-1	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,04
Fonte 2 vs 3	0	1	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,06
Linhagem Cobb													
Fonte 1 vs 2 e 3	0	0	0	2	-1	-1	0	0	0	0	0	0	0,93
Fonte 2 vs 3	0	0	0	0	1	-1	0	0	0	0	0	0	0,20
Linhagem Hybro													
Fonte 1 vs 2 e 3	0	0	0	0	0	0	2	-1	-1	0	0	0	0,01
Fonte 2 vs 3	0	0	0	0	0	0	0	1	-1	0	0	0	0,19

Tabela 20— Contrastes para avaliar o efeito de cada linhagem sobre as concentrações de fósforo mg/kg na matéria original (tíbia) aos 14 dias. (Desdobramento Interação)

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	P
HyD	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	1250	1250	3000	3000	
Vitamina D	sem	com	com	sem	com	com	sem	com	com	sem	Com	
C3.1: Linhagem Ross vs. (Cobb e Hybro)	-2	-2	-2	1	1	0	1	1	1	1	0	0,02
C3.2: Linhagem Cobb vs. Hybro	0	0	0	1	1	1	-1	-1	-1	0	0	0,03

Aos 7 dias, a linhagem Ross apresentou maior concentração de cálcio, seguida pela linhagem Cobb e Hybro. Já aos 14 dias, a linhagem Hybro apresentou a maior concentração de cálcio, juntamente com a linhagem Cobb, e aos 21 dias, com 1250 UI D₃ /kg, a maior deposição de cálcio foi verificada na linhagem Hybro e com 3000 UI D₃ /kg, as linhagens Cobb e Hybro tiveram maiores deposições com valores próximos, 12,02% e 11,96%, respectivamente, sendo os efeitos não significativos.

Aos 7 dias, a linhagem Ross apresentou maior concentração de fósforo seguida pela linhagem Hybro e Cobb, diferentemente das outras linhagens que tiveram resultados não significativos com relação a concentrações de fósforo quando suplementadas com o maior nível do produto.

Já aos 14 dias, a linhagem Hybro apresentou a maior concentração de fósforo, juntamente com a linhagem Cobb.

Aos 21 dias, com 1250 UI D₃ /kg, a maior concentração de fósforo foi verificada na linhagem Hybro e com 3000 UI D₃ /kg, as linhagens Hybro e Cobb tiveram maiores concentrações com valores próximos, 6,89% e 6,29%, respectivamente, apresentando resultado não significativo embora uma concentração linear de deposição de fósforo.

De acordo com NRC (1994), as exigências de cálcio para frangos são de 1% de 1 a 21 dias e 0,90% de 22 a 42 dias, já no presente trabalho, nos tratamentos adicionais (controle) foram utilizados os níveis de cálcio e fósforo segundo recomendações de Rostagno et al. (2005), ou seja, 0,94 e 0,90% de cálcio para pré-inicial e inicial, e 0,47 e 0,45% de fósforo para pré-inicial e inicial, respectivamente.

Smith e Kabaja, (1984); Waldroup, (1996); Leske e Coon, (1999), são unânimes em afirmar a necessidade de uma adequada suplementação desses minerais durante a fase de crescimento, do contrário acarretará em desequilíbrio na homeostase mineral e insuficiente desenvolvimento dos ossos, sendo essa uma das origens da calcificação inadequada.

Essa também foi a afirmação de *Edwards e Veltmann (1983)*, *Shafey (1993)* e *Sebastian et al. (1993)* que relatam seu efeito adverso sobre o desempenho, principalmente na fase inicial de criação.

(Macari, et al., 2002; Underwood, 1999) relatam que a deposição mais intensa de cálcio ocorre na fase de crescimento, podendo chegar ao final de um mês a 80% do cálcio total numa ave adulta.

A utilização no presente trabalho do cálcio, o fósforo e a vitamina D, justifica-se, por ser objeto de pesquisa de (Guinote et al., (1991); Sá et al., (2004), que relataram estar esses minerais diretamente relacionados ao metabolismo animal.

O fornecimento nutricional de teores de cálcio e fósforo insuficientes, necessita de suplementação dos mesmos para atender as exigências das aves, e segundo Heaney (1998), os problemas de pernas decorrem de situações complexas, envolvendo a inter-relação entre vários nutrientes.

Riddel, (1975) relata uma alta correlação entre a velocidade de crescimento e o desenvolvimento da DT, e Roberson, (1983) sugere que a relação cálcio-fósforo para pintinhos em fase de crescimento pode ser considerada um fator de exigência nutricional para a integridade óssea.

Embora Edwards, (2000) relate que o nível de colecalciferol possa ser adequado quando há exposição dos frangos de corte à luz ultravioleta, o presente experimento foi realizado em baterias metálicas, sem o contato com luz ultravioleta, portanto, não justificamos que a elevada incidência da DT, possa ser atribuída a um inadequado nível dietético de colecalciferol e seus metabólitos. O mesmo autor observa que níveis adequados de cálcio (0.95%) e baixos (0.65%) de fósforo, com exposição de luz ultravioleta, diminui a incidência de DT e quando as dietas contêm níveis adequados de cálcio, indicam que a síntese de colecalciferol é mais ativa quando é administrado na ração, o que pode ser justificado pela ausência de lesões compatíveis com discondroplasia tibial aos 21 dias.

Os valores médios e erros padrões (e.p.) da resistência óssea, por tratamento estão indicados na tabela 21.

O quadro de Análise de variância com p-valores an comparação entre todos os tratamentos que compõem o Fatorial linhagem X vitamina, e controle X fatorial , via contraste estão indicados na tabela 22.,

Tabela 21 — Valores médios e erros padrões (e.p.) da resistência óssea, por tratamento, expressos em N

Linhagem	Ross			Cobb			Hybro			Ross	Ross	e.p.
HyD	1250	1250	3000	1250	1250	3000	1250	1250	3000	3000	3000	
Vitamina D	Sem	com	com	sem	com	com	sem	com	com	sem	Com	
7 dias	31392,50	67827,50	30784,00	20544,00	35271,00	24183,00	33553,67	31926,00	11388,50	39825,00	36718,00	9039,40
14 dias	83392,00	43730,50	71191,00	43964,00	80669,00	88179,50	72543,00	90262,00	60344,00	30801,50	64902,00	10736,64
21 dias	25174,00	26531,00	26815,25	25801,00	30333,25	30352,25	22641,50	31418,75	24079,50	22316,25	25351,00	2790,72

Tabela 22 — Quadro de análise de variância para os dados de resistência óssea com p-valores associados às diversas causas de variação.

Causa de Variação	(g.l.)	7 dias	14 dias	21 dias
Linhagem (L)	2	0,13	0,80	0,40
Vitamina D (V)	2	0,10	0,86	0,11
Interação (LxV)	4	0,43	0,11	0,56
(Fatorial)	(8)			
Controles vs, Fatorial	1	0,55	0,05	0,15
Controle 1 vs, Controle 2	1	0,87	0,07	0,44

Aos 7 dias, a linhagem Cobb apresentou maior resistência à quebra, seguida pela linhagem Ross e Hybro, e respondeu positivamente ao aumento dos níveis de HyD, diferentemente das outras linhagens que tiveram menor resistência a quebra quando suplementadas com o maior nível do produto.

Quando da comparação entre todos os tratamentos que compõem o Fatorial linhagem X vitamina, e controle X fatorial , via contraste (Tabela 22), observou-se uma maior resistência à quebra ($P < 0,05$) nas aves submetidas ao tratamento Fatorial (T1 a T9), nos períodos de 1 a 14 dias. Isso deu pelo fato de que segundo *Furtado (1991)* e *Bessa (1992)* o cálcio associado ao fósforo proporciona menor quantidade de cinzas nos ossos quando comparado ao cálcio isolado, e essa baixa nos níveis de cinzas ósseas, provavelmente se deve a uma menor disponibilidade nutricional de cálcio para as aves.

Também segundo *Atencio (2005b)*, que comparou $25-(OH)_2D_3$, com D_3 , esta mostrou-se duas vezes mais potente, em termos de aumento de porcentagem de cinza de ossos nas aves, apesar de que quando foi acrescentado na dieta não houve diferença de ganho de peso, fertilidade, produção diária, eclodibilidade e taxa de mortalidade embrionária, mostrando-se alta ou baixa, dependendo da suplementação de $25-(OH)_2D_3$.

Para *Gonzales (2006)* a proporção de duas partes de cálcio para uma de fósforo disponível é recomendável para frangos de corte, e quando não há um balanço adequado devido ao excesso de fósforo na dieta, aumenta a incidência de DT, que pode ser influenciada fortemente pela nutrição, e também pode ser induzida experimentalmente por alterações nessa dieta, incluindo proporção cálcio e fósforo segundo *Edwards e Veltmann, (1983)*; *Riddell e Pass, (1987)*; *Zhang, (1998)*, o que está de acordo com o que foi encontrado nessa pesquisa, já que as aves antes dos 21 dias não apresentaram deformidades de pernas com a proporção utilizada. Entretanto para *Whitehead et al., (2004)*, as dietas desbalanceadas à nível de cálcio e fósforo aumentaram a ocorrência da discondroplasia tibial, sendo fornecidas

dietas contendo 0,75% de cada elemento, houve uma ocorrência 40 a 50% nos casos de discondroplasia tibial. Já para *Ledwaba (2003)*, valores de 0,65% e 0,50% de cálcio e fósforo respectivamente, associados com alguns níveis de suplementação de 25-(OH) $2D_3$, ou menos de 69 μg deste elemento é efetivo para prevenir a discondroplasia tibial, o que está de acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa, onde não observou-se casos de DT.

5.2 Histologia

Os cortes histológicos não evidenciaram alterações significantes concernentes a matriz óssea, porém a persistência de condrócitos nos animais estudados sugeriu a presença de osso imaturo.

Isto ocorreu porque segundo *Pizauro Jr. (2002)* em seus resultados experimentais tem evidenciado que a vitamina D é a peça chave no processo de condrogênese e osteogênese, essencialmente na primeira fase de crescimento das aves. Essa informação está de acordo com as afirmações de *Xú, (1998)*, de que a suplementação da vitamina D, promove a adequada diferenciação dos condrócitos, normalização do crescimento no interior do disco epifisário, prevenindo a DT.

Constata-se nas figuras 7, 8, e 9, que as tíbias apresentaram centro de ossificação secundária com a presença de lamelas ósseas não concêntricas. Observa-se a presença de canal de Havers ao corte de osso compacto e perióstio, remodelagem óssea e zona de transição e osteócitos.

Observando-se o segmento distal da tíbia verificou-se a presença de perióstio, caracterizando um tecido conjuntivo denso modelado.

As fibras colágenas estão dispostas paralelamente com poucas células, caracterizando um tecido conjuntivo denso modelado.

Entre as células observadas notamos a presença de osteoblastos junto ao osso. A porção do perióstio proximal apresenta-se mais celular quando comparada a porção distal. Na porção celular, constatamos a presença de vasos sanguíneos com diâmetro diferente e alguns

apresentando hemácias no seu interior. Observa-se a zona de transição e início de formação do tecido osteóide e de mineralização.

Nas fotos 10, 11 e 12 observa-se a formação da cartilagem, com penetração vascular, não caracterizando a presença de discondroplasia tibial, assim como a zona de transição e início de formação do tecido osteóide e de mineralização e zona de transição entre cartilagem e osso.

Essa caracterização de tecido ósseo normal sem a presença de lesões concernentes a DT está de acordo com as afirmações de *Thorp (1993)* que mostrou uma marcante redução da DT em frangos alimentados com diferentes níveis de 1,25-dihidroxitamina $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ revelando que a placa de crescimento da tibia mostrou acúmulos de condrócitos transicionais, o que confirma a hipótese de que a causa da discondroplasia seja uma falha na diferenciação de condrócitos. Isso também confirma que $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tenha um papel importante na diferenciação de condrócitos, pois a ausência de massa de cartilagem avascular consistindo de condrócitos proliferativos, na epífise proximal da tibia ou porção proximal do tarso-metatarso, distal da tibia, proximal do fêmur e úmero, foi demonstrado por *Takita (1998)*

De acordo com estudos de *Farquharson et al., (1983)* sobre o papel da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na prevenção da DT de que ela pode aumentar a taxa de diferenciação nas placas de crescimento, estão os relatos de *Kevin, (1996)*, que acrescenta que a forma ativa da vitamina D, a $1,25-(\text{OH})_2\text{D}$, é um importante regulador do desenvolvimento do tecido ósseo.

Ledwaba (2003), Punna (2001), Kevin (1996), Thorp (1993), Sarah (1993) relataram a eficiência dos metabólitos 1-hidroxilados na promoção de uma adequada diferenciação de condrócitos, afirmando que a suplementação com a 1,25-dihidroxitamina D_3 ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) evita completamente a discondroplasia tibial, entretanto, esse produto não se encontra disponível comercialmente no Brasil.

Essa ausência de alterações inerentes ao quadro de DT possivelmente se deu pelo fato de que segundo relatos de *Leach Jr.e Liburn, (1992)* e *Leeson et al., (1995)*, esse distúrbio aparece frequentemente entre a 3ª e 8ª

semanas, e os resultados apresentados aqui, referem-se a aves de até 21 dias.

5.3 Microscopia Eletrônica

Nas fotos 13, 14, 15 e 16, ao exame de microscopia eletrônica de varredura, observou-se à extremidade proximal de tíbias de frangos de corte aos 21 dias de idade, submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol, nas concentrações de 3000 UI/kg. Nota-se o tecido ósseo normal, e estrutura trabecular no tecido denso. As fibras paralelas, com intensa concentração de tecido cartilaginoso, identificando a integridade da linha de crescimento, e presença constante de vasos sanguíneos, confirmando ausência de DT, que como mencionado por *Gonzales, (2006)* a lesão referente a DT é avascular, podendo ser notadas algumas áreas de necrose.

Com relação a ultraestrutura, os resultados indicam presença de vasos sanguíneos, tecido ósseo e cartilaginoso, hipertrofia completa do condrócitos, que atingiram o tamanho esperado, e não sofreram mudanças degenerativas concorando com os resultados de *Bains, et al., (1998)* entretanto estes relatam dilatação do retículo endoplasmático e das cisternas de Golgi, inchaço mitocondrial e núcleo picnótico, o que não foi observado nessa pesquisa, por ter sido utilizado a técnica de microscopia eletrônica de varredura, sendo possível analisar apenas estruturas de superfície e não organelas, como foi relatado pelos autores, que utilizaram microscópio de transmissão.

Vale destacar que não foi realizado tratamento estatístico desse parâmetro pelo fato de as amostras terem sido determinadas aleatoriamente e pelo número reduzido de amostras utilizadas na análise, uma vez que à histologia não foram obtidas amostras evidenciando lesões compatíveis com DT, e que foi obtido o mesmo corte, na mesma região óssea.

FIGURA 7 – T4R1 – 7 dias - Fotomicrografia mostrando corte transversal de tíbia, descalcificado e corado pela técnica de hematoxilina eosina onde se pode observar osteócitos e a presença de células cartilaginosas (condrócitos) e neoformação óssea. Aumento 10x.

FIGURA 8 – T7R4 – 7 dias . Fotomicrografia mostrando corte transversal de tíbia descalcificado e corado pela técnica de hematoxilina e eosina. Obseva-se o periósteo revestindo o osso, a matriz óssea, os osteócitos dispostos de forma concêntrica em torno do canal de Havers e constituindo o sistema de Havers. Parte de cavidade óssea, contendo medula óssea no seu interior. Aumento 10x.

FIGURA 9 – T4R1 – 14 dias. Fotomicrografia de corte transversal da tíbia descalcificada e corado pela técnica da hematoxilina e eosina. Observa-se os osteócitos dispostos de forma concêntrica em torno do canal de Havers, ao lado de vasos sanguíneos. Aumento de 10x.

FIGURA 10 – T2R2 – 14 dias . Fotomicrografia de corte transversal da tíbia descalcificada e corado pela técnica da hematoxilina e eosina. Observa-se a formação da cartilagem da fise, com penetração vascular, não caracterizando a presença de discondroplasia tibial. Aumento de 10x.

FIGURA 11 – T5R4 – 14 dias. Fotomicrografia de corte transversal da tíbia descalcificada e corado pela técnica da hematoxilina e eosina. Observa-se a zona de transição e início de formação do tecido osteóide e de mineralização. Aumento de 10x.

FIGURA 12 – T4R1 – 14 dias. Fotomicrografia de corte transversal da tíbia descalcificada e corado pela técnica da hematoxilina e eosina. Observa-se vaso sanguíneo, e canal de Havers. Aumento de 10x.

FIGURA 13 – T3R4 - Eletromicrografia de Varredura, de osso de frango aos 21 dias, ilustrando tecido ósseo com a presença de tecido cartilaginoso em sua extremidade.

FIGURA 14 – T6R3 - Eletromicrografia de Varredura, de osso de frango aos 21 dias, ilustrando a presença de vaso sanguíneo, demonstrando vascularização normal, penetrando na zona de crescimento.

FIGURA 15 – T9R1 - Eletromicrografia de Varredura, de osso de frango aos 21 dias, ilustrando a presença de osso compacto, algumas fibras dispostas paralelamente, com estruturas vasculares e zona de crescimento.

FIGURA 16 – T11R8 - Eletromicrografia de Varredura, de osso de frango aos 21 dias demonstrando intensa proliferação de tecido conjuntivo, organização de tecido compacto, com a presença de vasos sanguíneos.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos na presente pesquisa inerentes a desempenho, cálcio e fósforo, resistência à quebra, e morfologia observados no período experimental total, conclui-se que:

O uso do metabólito 25 hidroxicolecalciferol, comparando-se o tratamento controle, e o tratamento fatorial, demonstrou uma melhor conversão alimentar, consumo e ganho de peso, embora a linhagem Cobb tenha apresentado maior média de consumo com relação a Ross e Hybro, entretanto os efeitos apresentaram-se não significativos para todas as características avaliadas.

Com relação a concentração de cálcio e fósforo, e resistência à quebra, as três linhagens, Ross 308, Cobb 500 e Hybro, apresentaram resultados semelhantes,

Referente aos aspectos morfológicos, não foi observada nenhuma lesão compatível a discondroplasia tibial, tanto na histologia quanto na microscopia eletrônica, nos frangos de corte aos 21 dias de idade .

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEF. Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos. Disponível em: <http://www.abef.com.br/default.php>. Acesso em 16 SET. 2008.

ALMEIDA, P.I.C.L.; MENDES, A. A.; TAKITA, T.S.; VULCANO, L.C.; GUERRA, P.C.; WESCHELER, F.S.; GARCIA, R.G. Tibial dyschondroplasia and bone mineral density. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.6, n.4, p.207-212, 2004.

ATENCIO, A.; EDWARDS, H.M.JR.; PESTI, G.M. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler breeder hen diets on the performance and abnormalities of the progeny fed diets containing various levels of calcium or 25-hydroxycholecalciferol. **Poultry Science**, v.10, n. 84, p. 1593-603, 2005.

ATENCIO, A.; EDWARDS, H.M.JR.; PESTI, G.M.; EDWARDS, H.M.JR. Twenty-five hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute in broiler breeder hen diets and its effect on the performance and general health of the progeny. **Poultry Science**, v.10, n. 84, p.1277-1285, 2005.

AVISITE. Estatísticas e Preços. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/economia/default.asp>. Acesso em 16 SET. 2008 .

BAINS, B.S.; BRAKE, J.T; PARDUE, S.L. Reducing leg weakness in commercial broilers. **World Poultry**, v. 14, n. 1, p. 24-27, 1998.

BAKER, D.H.; BIEHL, R.R.; EMMERT, J.L. Vitamin D₃ requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. **British Poultry Science**, v. 39, p. 413-417, 1998.

BAR, A.; SHINDLER, D.;YOSEFI, S.; VAX, E.; PLAVNIK, I. Metabolism and requirement for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. **British Journal of Nutrition**, v. 89, p. 51-60, 2003.

BASSAT, S.B.O.; GENINA, I.; LAVELIN, R.M.; LEACH, AND M. PINES. Parathyroid receptor gene expression by epiphyseal growth plates in rickets and tibial dyschondroplasia. **Molecular Cellular Endocrinology**, v. 149, p.185-195, 1999.

BERRY, J.L.; FARQUHARSON, C.; WHITEHEAD, C.C.; MAWER, E.B. Growth plate chondrocyte vitamin D receptor number and affinity are reduced in avian tibial. **Bone**, v. 19, n. 2, p. 197-203, 1996.

BITTAR, I. Problemas locomotores, bem-estar animal e lucratividade em frangos. **Suplemento Técnico – Problemas Locomotores e Bem Estar Animal** – Santos — SP – n.2, p. 12, 2008.

CLARKE, P.G.; CLARKE, P.G., Nineteenth century research on the naturally occurring cell death and related phenomena. **Anatomy and Embryology**, v. 193, p. 81-89, 1996.

COOK, M.E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, v. 79. p. 982-984, 2000.

CRENSHAW, T.D.; PEO, E.R.; LEWIS JR., A.J.; MOSER, B.D. Bone strength a trait for assessing mineralization in swine: a critical review of techniques involved. **Journal of Animal Science** , v.53, p. 827-835, 1981.

DRIVER, J.P.; A., ATENCIO; PESTI, G.M.; H.M., EDWARDS; BAKALLI, R.I. The effect of maternal dietary and tibial dyschondroplasia of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 85, p. 39-47, 2006.

DUFF, S.R.I. Abnormalities in the axial skeleton of broiler breeding fowl. **Avian Pathology**, v. 17, p. 239-258, 1988.

EDWARDS, H.M.; VELTMAN, J.R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. **Journal of Nutrition**, v. 113, p.1565-1575, 1983.

EDWARDS, H.M. Efficacy of several vitamin D compounds in the prevention of tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **Journal of Nutrition**, v. 120, p.1054-1061, 1990.

EDWARDS, H.M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**; v.79, p. 1018-1023, 2000.

FARQUHARSON, C.; WHITEHEAD, C.C.; RENNIE, J.S.; LOVERIDGE, N. In vivo effects of 1,25 dihydroxycolecalciferol on the proliferation and differentiation of avian chondrocytes. **Journal of Bone and Mineral Research**, n.8, p. 1081-1088, 1983.

FARQUHARSON, C.; JEFFERIES, D. Chondrocytes and longitudinal bone growth: The development of Tibial Dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 79, p. 994-1004, 2000.

FARQUHARSON, C.; JEFFERIES, D. Parathyroid hormone related peptide expression in Tibial Dyschondroplasia. **Avian Pathology**, v. 30, p. 327-335, 2001.

FERNANDES, I.C. Fisiologia e Patogênese óssea. Disponível em: <http://hucnp,uel.br/farmacologia/materiais/gregh03.html>. Acesso em 01dez. 2006.

FLEMMING, J.S.; JANZEN, S.A.; ENDO, M.A. Rendimento de carcaças em linhagens de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**. V.41, p. 67-63, 1999.

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

GAY, V.C., E.R, LEACH, M.R. Activities and distributions of alkaline phosphatase and carbonic anhydrase in the tibial dyschondroplasia lesion and associated growth plate of chicks. **Avian Diseases**, v. 29, n. 3, p. 50-52, 1985.

GAY, V.C., E.R, LEACH, M.R. Perspectives on osteoblast and osteoclast, function. **Poultry Science**, n. 79, p. 1005-1008, 2000.

GERBER, H.P.; FERRARA, N. Angiogenesis and bone growth. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 223-238, 2000.

GONZALES, E.; MACARI, M. Problemas Locomotores em Frangos de Corte. SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, VII, 2006, Chapecó- SC. **Anais...** Chapecó, p.79-92, 2006.

GOOF, J. Physiology and diagnostic significance of vitamin D and metabolites in the avian. **Avian Skeletal Disease Symposium**. San Antonio – Texas, p. 30-34, 1990.

GUINOTE, F.; NYS, Y. The effects of particle size and origin of calcium carbonate on performance and ossification characteristics in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 70, p. 1908-1920, 1991.

HARGEST, T.E.; GAY, C.V.; LEACH, R.M. Avian tibial dyschondroplasia III. Electron probe analysis. **American Journal of Pathology**, v. 119, p. 199-209, 1985.

HAVESTEIN, G.B.; FERKET, P.R.; SHEIDELER, S.E.; LARSON, B.T. Growth, livability, and feed conversion of 1957 vs. 1991 broiler when fed typical and 1991 broiler diets. **Poultry Science**, v. 73, p. 1785-1794, 1994.

HEANEY, R.P. Excess dietary protein may not adversely affect bone. **Issue and Opinion in Nutrition**, v. 128, p. 1054-1057, 1998.

JULIAN, R.J. Valgus-varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. **Canadian Veterinary Journal**, v. 25, p. 254-258, 1984.

JULIAN, R.J.. Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. **Poultry Science**, v. 77, p.1773-1780, 2004.

JULIAN, R.J. Patologias ósseas em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2005, Santos, **Anais...** Santos: Facta, p. 107-122, 2005.

KERR N.F.; WYLLIE, A.H.; CURRIE, A.R. Apoptosis: a base biological phenomenon whith wide-ranging implications in tissue kinscts. **British Journal of Cancer**, v. 26, p.239-257, 1972.

KEVIN, D.R.; EDWARDS, H.M. Effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol level on broiler performance. **Poultry Science**, v.75, p. 90-94, 1996.

KILBURN, J.; EDWARDS, H.M. The response of broilers to the feeding of mash or pelleted diets contaning maize of varyng particle sizes. **British Poultry Science**; v. 42, p. 484-492, 2001.

KNOPOV, V.D. et al. Gene expression during cartilage differentiation in turkey tibial dyschondroplasia, evaluated by in situ hybridization. **Poultry Science**, v. 41, p. 62-72, 1997.

KNOWLES, T.G. Leg disorders in broiler chickens : prevalence, risk factors and prevention. **Journal of Bone**, v. p.1545, 2008.

LEACH, R.M.; NESHEIM, M.C. Nutritional, genetic and morphological studies of abnormal cartilage formation in young chicks. **Journal of Nutrition**, v. 86, p. 236-244, 1965.

LEACH, R.M.; LIBURN, M.S. Current Knowledge on the etiology of tibial dyschondroplasia in the avian species. **Poultry Science Review**, v.4, p.57-65, 1992.

LEDWABA, F.M.; ROBERSON, K.D. Effectiveness of 25-hidroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. **Poultry Science**, v. 82, p. 1769-1777, 2003.

LEESON, S.; DIAZ, G.J.; SUMMER, J.D. Poultry metabolic disorders and mycotoxin. Charter 11. **Skeletal disorders**. Guelph: University Books, p.124-189, 1995.

LEESON, S.; SUMMER, J.D. **Nutrition of the chicken**. Ontario: University Books, 2001, 601p.

LESKE, J.L.; COON, C.N. A bioassay to determine the effect of phytase phosphorus retention on feed ingredients as determined with broilers and laying hens. **Poultry Science**, v. 78, n. 8, p. 1151-1157, 1999.

LUO, L.; TONG, L.; HUANG, J.C. Effects of dietary chloride and magnesium on the incidence of tibial dyschondroplasia in chickens fed on Chinese practical diets. **British Poultry Science**, v. 33, p. 603-611, 1992.

MCCASKEY, P.C.; ROWLAND, G.N.; PAGE, R.K.; MINEAR, L.R. Focal failure of endochondral ossification in the broiler. **Avian Disease**, v. 26, p. 701-717, 1982.

MCDEVITT, R.M.; MCENTER, G.M.; RANCE, K.A. Bone breaking strength and apparent metabolisability of calcium and phosphorus in selected and unselected broiler chicken genotypes. **British Poultry Science**, v. 47, p. 613-621, 2006.

MACDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. **New York: Academic Press**, 523 p. 1992.

MACARI, M.; FURLAS, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal, Funep, 1994, 296p.

MACARI, M., GONZALES, E. *Enfermidades metabólicas em frangos de corte*.

Doenças das aves - In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1990, p. 194-205.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal, FUNEP/UNESP, 375 p. 2002.

MARINI, R.P. Approaches to analysing Experiments with factorial arrangements of treatments plus other treatments. **Hort Science**, v. 38, n. 1, p. 117-120, 2003.

MENDONÇA, JR. CX. Deformidades das pernas em frangos de corte. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS; **Anais...** Campinas: Facta, p. 29-41, 1990.

MENDONÇA, JR. CX. *Enfermidades do sistema locomotor*. In Berchieri Júnior, A.; Macari, M. **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, p. 29-36, 2000.

MEINECKE, C.F.; SKEELES J.K.; E.L. STEPHENSON; NELSON, T.S. An intermittent problem with tibial dyschondroplasia. **Avian Diseases**, v. 24, n. 2, p. 517-519, 1980.

MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base, growth and cartilage abnormalities. **Proceedings Poultry Science**, n. 2, p. 235-247, 1977.

MURAKAMI, A. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO 2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, **Anais...** Campinas: Facta, v. 2 p. 33-56, 2000.

MUNDY, G.R. Cellular and molecular regulation on bone turnover. **Departments of medicine and endocrinology**. University of Texas. Health Science Center, San Antonio, TX, USA, v. 24, n. 55, p. 355-385, 1999.

NÄÄS, I, A. Deficiências locomotoras em frangos de corte e bem-estar animal. **Suplemento Técnico – Problemas Locomotores e Bem Estar Animal** – Santos — SP – n. 2, p. 1, 2008.

NAGASCHIRO, C. Problemas esqueléticos en aves: causas e impacto sobre la salud y el rendimiento productivo. AMEVEA, Bolivia, ago, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9. ed. Washington: National Academy Science, 155 p. 1994.

NELSON, T.S.; KIRBY, I.K.; PURDY, J.W.; JOHNSON, Z.B.; BEASLEY, J.N. Effect of age and maternal flock and strain on the incidence of tibial dyschondroplasia in growing chicks. **Avian Diseases**, v. 36, p.1015-1018, 1992.

NELSON, D. L.; COX, M.; LEHNINGER, M. **Principles of Biochemistry**, 4. ed. W.H.Freeman, 160 p. 2005.

PEDROSA, M.A.C.; CASTRO. M.L. Papel da vitamina D na função neuromuscular. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 49, n.4, 2005.

PETEK, M.; SONMEZ, G.; YILDS, H.; BASPINAR, H. Effects of different management factors on broiler performance and incidence of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science** v. 46, n.1, p.16-21, 2005.

PFEIFFER, D.J., DALL'AQUA. An Analysis of an industry national broiler chicken leg weakness study in united Kingdom. **Epidemiology Division of the Royal Veterinary College University of London**. 2002.

PINES M.; KNOPOV, O.; GENINA, S.; HURWITZ, L.C.; LEACH, R.M. Development of avian tibial dyschondroplasia: Gene expression and protein synthesis. **Calcified Tissue Internacional**, v. 63, p. 521-527, 1998.

PIZAURO, JR.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: mecanismo de lesão e controle; **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.4, n.3, p.1-22, 2002.

POULOS, P.W., Tibial dyschondroplasia (osteochondrosis) in the turkey. **Acta Radiologic Supplement**, v. 358, p.197-227, 1978.

POULOS, P.W.; REILAND, S.; ELWINGER, K. Skeletal lesions in the broiler, with special reference to dyschondroplasia (osteochondrosis). **Acta radiological Scandinavian supplement**, v. 358, p.229 - 275, 1978.

POWEEL, C.K. Defeitos esqueléticos induzidos por má absorção em frangos de corte. **VIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura – Chapecó – SC – 2006**.

POWEEL, C.K. Atualidades em problemas locomotores em frango de corte. **Suplemento Técnico – Problemas Locomotores e Bem Estar Animal – Santos — SP – n. 2, p. 12, 2008**.

PRAUL, C.A.; FORD, B.C.; GAY, C.V.; PINES, M.; LEACH, R.M. Gene expression and tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 79, p.1009-1013, 2000.

PUNNA, S., ROLLAND, D.A. Influence of dietary phytase supplementation on severity in broilers divergently selected for tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**; v. 80, p. 735-740, 2001.

RAMBOUSEK, M.J.; LIMA, A.C.F.; HARNICH, F.A.R.; PIZAURO, J.M.; MACARI, M. Efeitos da idade da matriz, energia e vitaminas A e D na ração sobre a incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte. In: Conferência Apinco 98 de ciência e tecnologia avícolas, Campinas, **Anais...** Campinas: Facta, p.4. 1998.

RATH, N.C.; HUFF, W.E.; BAYARI, G.R.; BALOG, J.M. Cell death in avian tibial dyschondroplasia. **Avian Diseases**, v. 42, p. 72-79, 1998.

RATH, N.C.; HUFF, W.E.; BAYARI, G.R.; BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, n.79, p. 1024-1032, 2000.

RATH, N.C.; KANNAN, L.; PILLAI, P.B.; HUFF, L.R.; HUFF, G.R.; HORST, L.R.; EMMERT, J.L. Evaluation of the vitamin D₃ on metabolites on thiuram - induced tibial dyschondroplasia in chickens. **Research Veterinary Science**, v. 83, p. 244-250, 2007.

REDDI A.H., Initiation and promotion of endochondral bone formation by bone morphogenetic proteins: potential implication for avian tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 9, p. 978-981, 2000.

RENDEN, J.A.; MORAN, E.T.; KINCAIS, S.A. Lighting programs for broilers that reduce leg problems without loss of performance or yield. **Poultry Science**, v. 75, p.1345 - 1350, 1996.

RIDDELL, C. Studies on the pathogenesis of tibial dyschondroplasia in chickens. I. Production of a similar defect by surgical interference. **Avian Diseases**, v.19, p.483 -489, 1975a.

RIDDELL, C. Studies on the pathogenesis of tibial dyschondroplasia in chickens III. Effect on body weight. **Avian Diseases**, v. 19, p.497- 505, 1975b.

ROBERSON, K.D.; HILL, C.H; FERKET, P.R. Additive amelioration of tibial dyschondroplasia in broilers by supplemental calcium or feed deprivation. **Poultry Science**, v. 72, p.798-805, 1993.

ROUNDON, E.O.; FERKET, P. Nutritional factors that affect leg problems in meat poultry: A Review. **32th Annual Carolina North Poultry Nutrition Conference**. Sheraton Imperial Hotel, RTP, NC, p. 58-88, 2005.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 141p, 2005,

Sá, L.M.; GOMES, P.C.; ALBINO, L.F. Exigências nutricionais de cálcio e sua biodisponibilidade em alguns alimentos para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v.33, n. 1, p. 157-168, 2004.

SANDY, L. The structure and development of bone. **Principles of biology**. Chapter 1. Department of Cell Biology, University of Massachusetts, Medical School, Massachusetts. 1996.

SARAH, R.J.; COLLIN, W.C.; THORP, B.H. The effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol in preventing tibial dyschondroplasia in broilers fed on diets imbalanced in calcium and phosphorus. **British Journal of Nutrition**, v.69, p.809 -816, 1993.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHARLES, E.R. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn- soybean diets diets supplemented with microbial-phytase. **Poultry Science Journal**, v. 49, n.1, p. 518, 1993.

SHAFEY, T.M.; MCDONALD, M.W.; DINGLE, J.G. Effect of dietary calcium to available phosphorus. **World's Poultry Science**, v. 49, n.1, p. 5-18, 1993.

SHERIDAN, A.K.; HOWLET, C.R.; BURTON, R.W. The incidence of tibial dyscondroplasia in broilers. **British Poultry Science**, v. 19, p. 491-499, 1978.

SILVA, D.J. **Análises de Alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 2.ed., Viçosa: UFV. 165p. 1998.

SIMÕES, A.F. **Inflamação na atividade física no tratamento da osteoporose**. Disponível em: <http://www.cdof.com.br/fisioshtm> acesso em 07dez. 2006.

SIMONS, P.C.M.; HAYE, U. Intermittant lighting has a positive effect on twisted legs. **Misset World Poultry**, p. 34-35, 1985.

SMITH, O.B.; KABAJA. E. Effect of high dietary calcium and wide calcium, phosphorus ration in broiler diets. **Poultry Science**, v. 64, p. 1713-1720, 1984.

TAKITA, T.S; GONZALES, E.; LODDI, M.M.; RAMOS, A.A. Incidência de problemas de pernas em seis linhagens de frangos de corte machos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu, SBZ, 1998 a, v.3, p. 523-525.

TAKITA, T.S; GONZALES, E.; LODDI, M.M.; RAMOS, A.A. Caracterização histológica da discondroplasia tibial em frangos de corte machos entre 2° e 5° semanas de idade. In: CONFERÊNCIA APINCO 98 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1998.

TAKITA, T.S; GONZALES, E.; LODDI, M.M.; RAMOS, A.A. Métodos de avaliação de discondroplasia tibial em frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1998.

TARDIN, A.C. Visão nutricional dos problemas locomotores em frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Palestras...** Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 71-83, 1995.

THORP, B.H.; LYNCH, M.; DUFF, S.R.I., The plastic embedding of skeletal tissue for vascular and histological study, demonstrating delayed endochondral ossification in leghorn type fowl. **Research in Veterinary Science**, v. 40, p.236-240, 1986.

THORP, B.H.The effect of dyschondroplasia on the rate of bone growth in the fowl. *Research in veterinary science*, v. 44:83-85, 1988a..Thorp, B.H. Pattern of vascular canals in the bone extremities or the pelvic appendicular

skeleton in broiler type fowl. **Research in Veterinary Science**, v. 44, p.112-124, 1988b.

THORP, B.H. Vascular pattern of developing intertarsal joint in the domestic fowl. **Research in veterinary science**, v. 44, p. 100-111, 1988c.

THORP, B.H. Abnormalities in the growth of long bones. In Whitehead C.C. Editor. Bone biology and skeletal disorders. **Poultry Science Symposium**, 23rd Abindin. Inqlaterra. Abington: Carfax, 1992. p. 147-166, 1992.

THORP, B.H.; DUCRO, B.; WHITEHEAD, C.C.; FARQUHARSON, C.; SORENSEN, P. Avian tibial dyschondroplasia: the interaction of genetic selection and dietary 1,25 dihydroxycolecalciferol. **Avian Pathology**, v.22, p. 311-324, 1993.

THORP, B.H. Skeletal disorders in the fowl: a review. **Avian Pathology**, v. 23, p.203 - 236, 1994.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **Mineral nutrition of livestock**. 3th ed. London: CAB international, 614 p., 1999.

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

WALSER. M.M.; ALLEN, N.K.; MIROCHA, C.J.; HANLON, G.F.; NEWMAN, J.A. Fusarium induced osteochondrosis (tibial dyschondroplasia) in chickens. **Veterinary Pathology**, v. 19, p.544 -550, 1982.

WALDROUP, P.W.. Biossay remain necessary to estimative phosphorus, calcium, bioavailability. **Feedstuffs**, v. 68, p.13-20, 1996.

WHITEHEAD C.C.; MC. CORMACK H.A.; MC. L.TEIR; R.H.FLEMING. High vitam D₃ requirements n broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitam A. **British Poultry Science**, v.3, p.425 - 36, 2004.

WISE, D.R.; NOTT, H. Studies on tibial dyschondroplasia in ducks. **Research in Veterinary Science**, v. 18, p. 193-197, 1975.

XU, T.; KERR, J.M.; SOARES, J.H. Molecular aspects of tibial dyschondroplasia in the chicken: Expression of calibindin – D (28k) gene. **Nutritional Research**, v. 18, p. 25-34, 1998.

YISHENG B.; COOK, M. Histological study of tibial dyschondroplasia –like lesion from light-type chicks fed cysteine-supplemented diets. **Avian Diseases**, v. 35, p. 557-562, 1994.

ZHANG, X.; MCDANIEL, G.R.; ROLAND, D.A.; KUHLEERS D.L. Responses to ten generations of divergent selection for tibial dyschondroplasia in broiler chickens: Growth, egg production, and hatchability. **Poultry Science**, v. 77, p.1065-1072, 1998.